



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Sistemas Cuarentenarios de plagas agrícolas

Manual
Curso de
posgrado



2016



Manual

Curso de posgrado

Sistemas Cuarentenarios para Plagas Agrícolas 2016



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN





El comité académico agradece la colaboración brindada por las siguientes instituciones y empresas, que con su apoyo permitieron la realización de la IV edición del curso de posgrado

Sistemas Cuarentenarios para plagas agrícolas.



AGENCIA INTERNACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA (IAEA)



ARGENTI LEMON S. A.



ASOCIACIÓN FITOSANITARIA DEL NOROESTE ARGENTINO (AFINOA)



ASOCIACIÓN TUCUMANA DEL CITRUS (ATC)



CITRUSVIL S. A.



CONICET



DIEGO ZAMORA E HIJOS SRL



PROAGRO S. A.



SENASA



LEDESMA

ÍNDICE

Pag	
9	Prólogo
	A
11	1. La protección vegetal en el contexto del comercio internacional
23	2. Cuarentena vegetal
27	3. Análisis de riesgo de plagas
31	4. Área libre
35	5. Estatus de hospedero
49	6. Técnica del insecto estéril
59	7. Mecanismos de defensa en las plantas
67	8. Estrategias de oviposición
	B
73	1. Sistemas de mitigación de riesgo
	C
81	1. Desarrollo de un tratamiento cuarentenario
87	2. Uso de las radiaciones ionizantes con fines cuarentenarios
99	3. Irradiación en productos agropecuarios para tratamiento cuarentenario
111	4. Utilización de las bajas temperaturas
123	5. Aire caliente forzado
127	6. Inmersión en agua caliente
131	7. Desinfección con vapor de agua
	D
139	1. Fumigaciones con bromuro de metilo
151	2. Fosfina
163	3. Atmósfera controlada
169	4. Tratamientos combinados
	E
178	1. Estadística cuarentenaria

Prólogo a la segunda edición

El presente Manual es el resultante de las actividades de formación en materia de sistemas cuarentenarios que la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) viene desarrollando desde 2001.

Se trata de una herramienta útil para los participantes del IV Curso sobre Sistemas Cuarentenarios de Plagas Agrícolas que, organizado por la EEAOC y la Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Nacional de Tucumán, se realizará en la sede central de la primera, sita en Las Talitas, provincia de Tucumán, entre los días 24 y 28 de Octubre de 2016.

Las investigaciones cuarentenarias se iniciaron en la EEAOC en 1996 con el desarrollo de tratamientos con frío para lograr la apertura del mercado japonés a los cítricos argentinos, hecho que se logró en el año 2001. Desde esa fecha hasta el presente se desarrollaron diferentes líneas de trabajo en cultivos de cítricos, paltas, frutillas, arándanos, pimientos, tomates, entre otros, que terminaron facilitando la comercialización de los mismos en el país y en el extranjero.

Entre los contenidos de este Manual encontraremos cuatro núcleos temáticos bien definidos. En la primera parte, el lector podrá conocer la organización del sistema cuarentenario nacional e internacional, el análisis del riesgo de plaga y los principios básicos que en él operan. Posteriormente, se analizan los conceptos de área libre de plagas y de estatus de hospederos, ampliamente ejemplificados. Para finalizar el primer núcleo temático se describen los fundamentos de la técnica del insecto estéril.

En la segunda parte se desarrolla un concepto integrador y dinámico cual es el sistema de mitigación de riesgo o "System Approach" y se comentan algunos ejemplos prácticos de casos vigentes en la Argentina.

El tercer núcleo temático aborda el desarrollo de los tratamientos cuarentenarios por métodos físicos, incluyendo la descripción de diferentes alternativas como la utilización de la irradiación, bajas temperaturas o el calor a través del agua caliente o del vapor. Para cada uno de los métodos

descriptos se señalan las ventajas y desventajas y sus posibilidades de uso.

En un cuarto núcleo se abordan los tratamientos químicos, entre los que se describen la utilización del bromuro de metilo y la fosfina. En todos los casos se comentan las experiencias realizadas por los diferentes grupos de la EEAOC.

Para finalizar, se revisan los fundamentos estadísticos que rigen las investigaciones cuarentenarias en el mundo y que servirán de guía para su aplicación en el futuro.

Este Manual constituye la primera contribución en lengua española realizada en la Argentina sobre el tema y representa el esfuerzo de una diversidad de investigadores de diferentes disciplinas, pertenecientes distintas instituciones que generosamente han dedicado parte de su tiempo a la revisión del estado del arte de los temas abordados, volcando en este volumen sus experiencias profesionales.

A veinte años del inicio de las investigaciones cuarentenarias en la EEAOC y conscientes de que los escenarios actuales son mucho más complejos que lo que fueron al comienzo del siglo pasado, los editores responsables de este volumen creemos estar honrando con nuestra tarea el espíritu que animara, en 1909, la creación de la institución a la que pertenecemos. Hoy como ayer, trabajamos en la solución de los principales problemas de nuestra producción agroindustrial provincial, regional y nacional, aportando interdisciplinariamente nuestros esfuerzos en la investigación que hoy no se concibe sin la necesaria colaboración interinstitucional que la haga aplicable y efectiva.

Con la satisfacción del impacto positivo de las investigaciones desarrolladas hasta el momento, tangible en lo logrado para la comercialización nacional e internacional de nuestros productos frutihortícolas, compartimos desde acá con los cursantes e interesados en estas cuestiones cuarentenarias destinatarios de este trabajo, el principio que nos ha servido de estímulo: ***allí donde haya un mercado cerrado para nuestros productos por motivo de una plaga, tendremos un desafío que asumir: abrirlo.***

Gerardo Gastaminza y Eduardo Willink
Editores

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

A1

La protección vegetal en el contexto del comercio internacional

Ing. Maria Julia Palacin

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



1.- El sistema multilateral de comercio

EL GATT (General Agreement of Tariffs And Trade - Acuerdo General sobre Aranceles Aduaneros y Comercio).

De 1948 a 1994, el GATT estableció las reglas aplicables a una gran parte del comercio mundial. A pesar de su aparentemente sólida constitución, el GATT fue durante esos 47 años un acuerdo y una organización de carácter provisional.

El GATT desarrolló un sistema multilateral de comercio a través de una serie de negociaciones comerciales, o "rondas". Las primeras se ocuparon fundamentalmente de las reducciones de los aranceles sobre las mercancías, pero en las negociaciones posteriores se incluyeron también otros temas, como las medidas antidumping y medidas no arancelarias.

El proyecto de establecer un sistema multilateral de comercio para negociar la reducción de los derechos de aduana y otros obstáculos al comercio y para estimular la expansión del comercio mundial se originó en la década de 1940.

El proyecto original tenía una doble finalidad:

1. crear la Organización Internacional de Comercio (OIC);
2. poner en marcha negociaciones multilaterales sobre aranceles y redactar cláusulas que establecieran obligaciones en materia arancelaria en el Acuerdo General sobre Aranceles Aduaneros y Comercio (GATT).

Este Acuerdo fue adoptado, pero nunca se creó la

OIC. Sin embargo, fue creada la Comisión Interina de la OIC (ICITO) para ejercer las funciones de Secretaría del GATT.

Entre 1947 y 1995 las Partes Contratantes organizaron ocho rondas de negociaciones.

Los participantes en la Ronda Uruguay de negociaciones comerciales multilaterales concluyeron la Ronda adoptando el "Acta Final en que se incorporan los resultados de la Ronda Uruguay de negociaciones comerciales multilaterales". El Acta Final incluye el "Acuerdo de Marrakech por el que se establece la Organización Mundial del Comercio" y sus cuatro Anexos. Estos Anexos son:

1. En el Anexo 1 están comprendidos los acuerdos comerciales multilaterales. Se divide en tres secciones:
 - Anexo 1A (Acuerdos Multilaterales sobre el Comercio de Mercancías);
 - Anexo 1B (Acuerdo General sobre el Comercio de Servicios); y
 - Anexo 1C (Acuerdo sobre los Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio).
2. El Anexo 2 es el Entendimiento relativo a las normas y procedimientos por los que se rige la solución de diferencias (ESD). Contiene las normas del sistema de solución de diferencias en la OMC.
3. El Anexo 3 establece los preceptos del Mecanismo de Examen de las Políticas Comerciales (MEPC) en la OMC.

Rondas de negociaciones comerciales

Años	Lugar/denominación	Temas abarcados	Países
1947	Ginebra	Aranceles	23
1949	Annecy	Aranceles	13
1951	Torquay	Aranceles	38
1956	Ginebra	Aranceles	26
1960-1961	Ginebra, Ronda Dillon	Aranceles	26
1964-1967	Ginebra, Ronda Kennedy	Aranceles y medidas antidumping	62
1973-1979	Ginebra, Ronda de Tokio	Aranceles, medidas no arancelarias y acuerdos relativos al marco jurídico	102
1986-1994	Ginebra, Ronda Uruguay	Aranceles, medidas no arancelarias, normas, servicios, propiedad intelectual, solución de diferencias, textiles, agricultura, creación de la OMC y otros temas.	123

4. El Anexo 4 contiene los Acuerdos Comerciales Plurilaterales.

El Acuerdo sobre la OMC es el acuerdo constitutivo por el que se estableció una nueva entidad orgánica, la Organización Mundial del Comercio (OMC), que tiene la misión de administrar los Acuerdos de la Ronda Uruguay.

La denominación “multilateral” se refiere a que la mayor parte de los países son Miembros del sistema. Sin embargo, algunos no lo son, y es por ello que se utiliza el término “multilateral” en lugar de “global” o “mundial”, para describir el sistema. En el contexto de la OMC, también se utiliza la palabra “multilateral” en contraposición a medidas adoptadas a nivel regional o por grupos más pequeños de países.

El sistema multilateral de comercio es un sistema regulado por la Organización Mundial del Comercio (OMC), donde son miembros la mayoría de países del mundo.

La Organización Mundial del Comercio (OMC)

La OMC es la única organización internacional mundial que se ocupa de las normas que rigen el comercio entre los países. La base de su actuación son los numerosos Acuerdos que han sido negociados y firmados por los gobiernos y ratificados por los respectivos parlamentos.

Si bien la OMC es una organización joven, el sistema multilateral de comercio que originalmente se estableció en virtud del GATT ya tiene más de 50 años de vida.

La mayoría de los Acuerdos de la OMC son el resultado de las negociaciones de la Ronda Uruguay de 1986-1994 y fueron firmados en la Reunión Ministerial de Marrakech de abril de 1994. Se trata de unos 60 acuerdos y decisiones que suman en total 550 páginas. También se hizo una revisión importante del texto original del GATT. (Las negociaciones celebradas posteriormente han dado por resultado textos jurídicos adicionales, como el Acuerdo sobre Tecnología de la Información, los Protocolos sobre Servicios y los Protocolos de Adhesión).

El Acta Final firmada en Marrakech en 1994 es como una nota de presentación. Todo lo demás son documentos adjuntos a ella. El lugar principal lo ocupa el Acuerdo por el que se establece la OMC (el Acuerdo sobre la OMC), que es un acuerdo de alcance general. Los Anexos al Acuerdo por el que

se establece la OMC contienen los Acuerdos sobre mercancías, servicios, propiedad intelectual, solución de diferencias, el Mecanismo de Examen de las Políticas Comerciales y los Acuerdos Plurilaterales. Las Listas de Compromisos también forman parte de los Acuerdos de la Ronda Uruguay. Estas listas contienen los compromisos contraídos por los distintos Miembros de la OMC de permitir el acceso a sus mercados a determinados productos extranjeros o proveedores extranjeros de servicios. En la versión impresa esas listas suman unas 30.000 páginas, para todos los Miembros de la OMC.

A menudo, el conjunto de estos Acuerdos recibe la denominación de “normas comerciales de la OMC” o “derecho de la OMC”.

- Los acuerdos incluyen los compromisos contraídos por los distintos países para reducir los aranceles aduaneros y otros obstáculos al comercio, abrir y mantener abiertos los mercados de servicios y proteger los derechos de propiedad intelectual.

- En los acuerdos se establecen procedimientos para la solución de diferencias.

- Los acuerdos prescriben un trato especial para los países en desarrollo.

- Los acuerdos exigen que los gobiernos aseguren la transparencia de sus políticas comerciales poniendo en conocimiento de la OMC las leyes que están vigentes y las medidas que han adoptado; éste es también el propósito de los informes periódicos de la Secretaría sobre las políticas comerciales de los países.

El Preámbulo del Acuerdo de Marrakech por el que se establece la OMC, enuncia sus objetivos, que son aumentar el bienestar de los pueblos de los países Miembros (los niveles de vida, el empleo, los ingresos, etc.) acrecentando la producción y el comercio de bienes y servicios -o sea, el libre comercio- por medio de negociaciones que conduzcan a la liberalización del comercio o celebrando “acuerdos ... sobre la base de la reciprocidad y de mutuas ventajas”, como se indica en el GATT de 1947.

Este objetivo se debe alcanzar respetando el desarrollo sostenible y teniendo debidamente en cuenta las necesidades de desarrollo de los países en desarrollo.

En el Preámbulo del Acuerdo también se reconoce que es necesario hacer “esfuerzos positivos para que

los países en desarrollo, y especialmente los menos adelantados, obtengan una parte del incremento del comercio internacional que corresponda a ... su desarrollo económico”.

Las principales funciones de la OMC son:

1. facilitar la aplicación, administración y funcionamiento de los Acuerdos de la OMC y favorecer la consecución de sus objetivos;
2. servir de foro para las negociaciones comerciales;
3. resolver diferencias comerciales;
4. examinar las políticas comerciales de los Miembros;
5. ayudar a los países en desarrollo en las cuestiones de política comercial, prestándoles asistencia técnica y organizando programas de formación; y
6. cooperar con otras organizaciones internacionales.

Los derechos y las obligaciones acordados en la OMC constituyen el sistema multilateral de comercio, que regula y afecta a la mayoría de las transacciones comerciales internacionales.

La OMC y las cuestiones sanitarias y fitosanitarias

En la OMC las actividades sobre las cuestiones sanitarias y fitosanitarias son llevadas a cabo por el Comité de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (Comité MSF), que depende directamente del Consejo del Comercio de Mercancías y está abierto a la participación de todos los Miembros de la Organización. El Comité ofrece a los Miembros:

- un foro donde realizar consultas periódicas sobre cualquier asunto relacionado con la aplicación del Acuerdo MSF;
- los medios necesarios para aplicar las disposiciones del Acuerdo y para la consecución de sus objetivos, especialmente en materia de armonización.

El Comité MSF desempeña las funciones necesarias para aplicar las disposiciones del Acuerdo MSF o las demás tareas de las que se deba ocupar. El Comité MSF se reúne normalmente tres veces al año.

El Comité MSF tiene las siguientes funciones:

- servir regularmente de foro para celebrar consultas sobre todas las cuestiones relacionadas con la aplicación del Acuerdo MSF y para la consecución de sus objetivos, especialmente en materia de armonización;
- elaborar un procedimiento para vigilar el proceso de armonización internacional y la utilización de normas, directrices o recomendaciones internacionales y para coordinar los esfuerzos en ese sentido con las organizaciones internacionales competentes;
- promover una mayor coordinación e integración entre los sistemas y métodos nacionales e internacionales para la aprobación del uso de aditivos alimentarios o el establecimiento de tolerancias de contaminantes en los productos alimenticios, las bebidas o los piensos;
- elaborar directrices que fomenten la aplicación práctica del párrafo 5 del artículo 5, en el que se dispone que los Miembros están obligados a evitar distinciones arbitrarias o injustificables en los niveles que consideren adecuados en diferentes situaciones (de riesgo), si tales distinciones tienen por resultado una discriminación o una restricción encubierta del comercio internacional;
- conceder a los países en desarrollo Miembros excepciones especificadas y de duración limitada, totales o parciales, al cumplimiento de las obligaciones dimanantes del Acuerdo, previa solicitud, teniendo en cuenta sus necesidades en materia de finanzas, comercio y desarrollo;
- lograr el mejor asesoramiento científico y técnico que pueda obtenerse a efectos de la administración del Acuerdo a fin de evitar toda duplicación innecesaria de la labor manteniendo un estrecho contacto con las organizaciones internacionales competentes, en particular la Comisión del Codex Alimentarius, la Oficina Internacional de Epizootias (ahora denominada Organización Mundial de Sanidad Animal) y la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. El Comité puede decidir utilizar la información generada por los procedimientos, especialmente en materia de notificación, vigentes en las organizaciones internacionales competentes;
- invitar, a iniciativa de uno de los Miembros de la OMC, a las organizaciones internacionales competentes (o sus órganos auxiliares) a examinar cuestiones concretas que se hayan sometido a su consideración y que se refieran a una determinada

norma, directriz o recomendación sanitaria o fitosanitaria;

- examinar el funcionamiento y aplicación del Acuerdo MSF y someter al Consejo del Comercio de Mercancías propuestas de modificación de su texto.
- El Comité MSF tiene responsabilidades en materia de transparencia, que incluyen recibir las notificaciones de los Miembros antes la adopción de medidas y reglamentaciones sanitarias y fitosanitarias nuevas (o actualizadas) (artículo 7 y Anexo B del Acuerdo MSF). También es responsable del examen del Acuerdo cada cuatro años, como se establece en la Decisión de Doha sobre cuestiones y preocupaciones relativas a la aplicación.

2.- El Acuerdo MSF

Objetivos

Si bien en el Preámbulo del Acuerdo MSF:

- se reconoce que:
- no debe impedirse a ningún Miembro adoptar ni aplicar las medidas necesarias para proteger la vida y la salud de las personas y los animales o para preservar los vegetales, y
- no se requiere que los Miembros modifiquen su nivel adecuado de protección de la vida o la salud de las personas y de los animales o de preservación de los vegetales;
- al mismo tiempo, se expresa que las medidas sanitarias y fitosanitarias no deben aplicarse de manera que constituyan:
- un medio de discriminación arbitrario o injustificable entre los Miembros en que prevalezcan las mismas condiciones; o
- una restricción encubierta del comercio internacional.

El marco multilateral que sirve de guía en el contexto de las medidas sanitarias y fitosanitarias tiene como fin mejorar la salud de las personas y de los animales y la situación fitosanitaria en el territorio de todos los Miembros, a la vez que se reducen al mínimo los efectos negativos en el comercio.

Con ese objetivo, el Acuerdo MSF permite que los Miembros adopten medidas, a condición de que estén basadas en principios científicos. Tales medidas, como hemos dicho antes, sólo deben aplicarse en el grado necesario para proteger la

salud y la vida de las personas y de los animales o para preservar los vegetales, y no deben ser discriminatorias. El Acuerdo también tiene por objeto la armonización de las medidas utilizadas, mediante la adopción de medidas basadas en normas internacionales. Como veremos en el curso, los Miembros de la OMC tienen un margen amplio para adoptar medidas de reglamentación encaminadas a formular, aplicar y hacer cumplir medidas sanitarias y fitosanitarias.

Ámbito de aplicación del Acuerdo MSF

De conformidad con su Anexo A, el Acuerdo MSF abarca todas las medidas aplicadas para proteger, en el territorio de un Miembro:

- la salud y la vida de los animales o para preservar los vegetales de los riesgos resultantes de la entrada, radicación o propagación de plagas, enfermedades y organismos patógenos o portadores de enfermedades;
- la vida y la salud de las personas y de los animales de los riesgos derivados de los alimentos (riesgos resultantes de la presencia de aditivos, contaminantes, toxinas u organismos patógenos en los productos alimenticios, las bebidas y los piensos);
- la vida y la salud de las personas de enfermedades propagadas por animales, vegetales o productos de ellos derivados;
- el territorio de los Miembros del perjuicio resultante de la entrada, radicación o propagación de plagas.

Su ámbito de aplicación también comprende las medidas adoptadas para proteger la salud de los peces y la fauna silvestre, así como para preservar los bosques y la flora silvestre, de los riesgos que acabamos de citar. Es importante señalar que el término “plagas” incluye las malas hierbas, mientras los contaminantes incluyen los residuos de plaguicidas y de medicamentos veterinarios y las sustancias extrañas (nota 4 al Anexo A).

El término “sanitarias” hace referencia a la salud de las personas y de los animales, mientras que el término “fitosanitarias” concierne a la preservación de los vegetales.

Es importante conocer el ámbito de aplicación del Acuerdo MSF para saber si el Acuerdo es aplicable a una medida determinada, puesto que existen otros dos Acuerdos de la OMC, el Acuerdo General

sobre Aranceles Aduaneros y Comercio (GATT) y el Acuerdo sobre Obstáculos Técnicos al Comercio¹, que también regulan las medidas internas (como los reglamentos nacionales).

En suma, medidas sanitarias o fitosanitarias son aquellas que persiguen alguno de los objetivos enunciados en el Anexo A del Acuerdo MSF.

Proteger	de
la vida y la salud de los animales o preservar los vegetales	la entrada, radicación o propagación de plagas y organismos patógenos o portadores de enfermedades
la vida y la salud de las personas y de los animales	los riesgos resultantes de la presencia de aditivos, contaminantes, toxinas u organismos patógenos en los productos alimenticios, las bebidas o los piensos
la vida y la salud de las personas	las enfermedades propagadas por animales, vegetales o productos de ellos derivados (zoonosis)
un país	los perjuicios resultantes de la entrada, radicación o propagación de plagas

- “Animal” incluye peces y fauna silvestre;
- “vegetal” incluye bosques y flora silvestre;
- “plagas” incluye malezas; y
- “contaminantes” incluye los residuos de plaguicidas y de medicamentos veterinarios y las sustancias extrañas.

Relación entre el Acuerdo MSF y el GATT

- El Acuerdo MSF, entre otras cosas, profundiza y desarrolla el apartado b) del artículo XX del GATT. Según se dispone en el párrafo 4 del artículo 2 del Acuerdo MSF, se considerará que las medidas sanitarias o fitosanitarias conformes a las disposiciones pertinentes del Acuerdo MSF están en conformidad con las obligaciones de los Miembros en virtud de las disposiciones del GATT de 1994 (en particular, las del apartado b) del artículo XX).
- En caso de conflicto entre una disposición del GATT de 1994 y una disposición del Acuerdo MSF, prevalecerá, en el grado en que haya conflicto, la disposición de este último.

Derechos y obligaciones básicos del Acuerdo MSF

El Acuerdo MSF especifica las condiciones en las que las autoridades nacionales de reglamentación pueden establecer e imponer normas en materia de salud e inocuidad que afecten directa o indirectamente al comercio internacional. El Acuerdo estipula

prescripciones sustantivas y de procedimiento cuyo objeto es impedir que los reglamentos tanto fitosanitarios y zoonosanitarios como relativos a la inocuidad de los alimentos constituyan un obstáculo innecesario al comercio internacional y sean utilizados indebidamente con fines proteccionistas.

El derecho a adoptar medidas sanitarias y fitosanitarias quiere

decir que los Miembros pueden dar preferencia a la protección de la salud por sobre el comercio. Además, corresponde a cada Miembro elegir el nivel de protección sanitaria y fitosanitaria. Sin embargo, las medidas sanitarias y fitosanitarias deben cumplir las prescripciones sustantivas y de procedimiento previstas en el Acuerdo MSF.

Ello no obstante, si otro Miembro no está de acuerdo con una medida sanitaria o fitosanitaria del país importador, puede impugnarla ante un grupo especial de solución de diferencias de la OMC. Es el Miembro que presenta la impugnación el que debe aportar pruebas suficientes para acreditar la presunción de que esa medida es incompatible con el Acuerdo MSF.

El derecho a adoptar medidas sanitarias y fitosanitarias para lograr un nivel adecuado de protección establecido en el Acuerdo MSF, conlleva obligaciones básicas. En general, los países pueden adoptar medidas sanitarias y fitosanitarias siempre que:

1. sólo se apliquen en cuanto sean necesarias para proteger la vida o la salud;

¹ El Acuerdo MSF y el Acuerdo OTC se excluyen entre sí. El Acuerdo OTC abarca todos los reglamentos técnicos, las normas y los procedimientos de evaluación de la conformidad, independientemente de sus objetivos, excepto cuando se trata de medidas sanitarias o fitosanitarias. Las medidas OTC pueden abarcar cualquier tema, desde la seguridad de los automóviles hasta los dispositivos para el ahorro de energía o la forma de los envases de los alimentos. Como ejemplos de medidas abarcadas por el Acuerdo OTC relativas a la salud de las personas, podrían citarse las prescripciones sobre los productos farmacéuticos o el etiquetado de los cigarrillos. En lo que respecta a los alimentos, la mayoría de las prescripciones de etiquetado, declaraciones de propiedades nutricionales, preocupaciones en materia de nutrición y reglamentos referidos a la calidad y al envasado se consideran en términos generales medidas OTC.

2. estén basadas en principios científicos y no se mantengan sin testimonios científicos suficientes; y El Acuerdo MSF establece el deber de asegurarse de que una medida sanitaria o fitosanitaria sólo se aplique en cuanto sea necesaria para proteger la salud y la vida de las personas y de los animales o para preservar los vegetales, de que esté basada en principios científicos y de que no se mantenga sin testimonios científicos suficientes.

3. no discriminen de manera injustificable entre el origen nacional y extranjero o entre fuentes externas de suministro.

Además, el Acuerdo MSF establece el deber de asegurarse de que las medidas sanitarias y fitosanitarias no discriminen de manera arbitraria o injustificable entre Miembros en que prevalezcan condiciones idénticas o similares ni tampoco entre su propio territorio y el de otros Miembros. Estas medidas no se aplicarán de manera que constituyan una restricción encubierta del comercio internacional.

Los Miembros tienen dos opciones para demostrar que sus medidas se basan en principios científicos. Pueden:

- basar sus medidas en normas internacionales; o
- basar sus medidas en una evaluación científica del riesgo.

La labor de armonización – Las “tres hermanas”

El Acuerdo MSF define el término ‘armonización’ como el “establecimiento, reconocimiento y aplicación de medidas sanitarias y fitosanitarias comunes por diferentes Miembros”.

En el contexto de las medidas sanitarias y fitosanitarias, la labor de armonización tiene lugar cuando los Miembros de la OMC basan esas medidas en las normas internacionales pertinentes.

La principal disposición en materia de armonización que figura en el Acuerdo MSF establece lo siguiente:

Para armonizar en el mayor grado posible las medidas sanitarias y fitosanitarias, los Miembros basarán sus medidas sanitarias o fitosanitarias en normas, directrices o recomendaciones internacionales, cuando existan, salvo disposición en contrario en el presente Acuerdo y en particular en el párrafo 3.

Las normas, directrices y recomendaciones internacionales se definen en el Acuerdo MSF:

a) en materia de inocuidad de los alimentos, las normas, directrices y recomendaciones establecidas por la Comisión del Codex Alimentarius sobre aditivos alimentarios, residuos de medicamentos veterinarios y plaguicidas, contaminantes, métodos de análisis y muestreo, y códigos y directrices sobre prácticas en materia de higiene;

b) en materia de sanidad animal y zoonosis, las normas, directrices y recomendaciones elaboradas bajo los auspicios de la Oficina Internacional de Epizootias;

c) en materia de preservación de los vegetales, las normas, directrices y recomendaciones internacionales elaboradas bajo los auspicios de la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria en colaboración con las organizaciones regionales que operan en el marco de dicha Convención Internacional; y

d) en lo que se refiere a cuestiones no abarcadas por las organizaciones mencionadas supra, las normas, recomendaciones y directrices apropiadas promulgadas por otras organizaciones internacionales competentes, en las que puedan participar todos los Miembros, identificadas por el Comité.

Como se desprende del texto anterior, en el Acuerdo MSF se reconocen de manera explícita tres instituciones de normalización como organizaciones competentes a efectos relacionados con las medidas sanitarias y fitosanitarias:

- La Comisión del Codex Alimentarius (Codex) en materia de inocuidad de los alimentos.
- La Oficina Internacional de Epizootias (OIE) en materia de sanidad animal y zoonosis.
- La secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) en materia de preservación de los vegetales.

En la OMC, estas instituciones se conocen como las “tres hermanas” (o las tres organizaciones hermanas).

Por lo tanto, a efectos de las medidas sanitarias y fitosanitarias, las normas internacionales son las formuladas por las instituciones internacionales de normalización competentes, que son las “tres hermanas”.

Cabe señalar que el Acuerdo MSF no establece ninguna distinción jurídica entre las “normas”, “directrices” y “recomendaciones” de las tres organizaciones hermanas. Los tres tipos de normas tienen la misma jerarquía en el marco del Acuerdo MSF.

Cuando un Miembro decide formular una nueva medida sanitaria o fitosanitaria -o revisar una ya existente- debe comenzar su labor comprobando si existe una norma internacional para el producto y/o medida en cuestión. Si tal norma existe, el Miembro tiene la obligación de basar en ella su medida sanitaria o fitosanitaria, a menos que haya una justificación científica para no utilizarla o que la norma internacional pertinente no permita alcanzar el nivel de protección que desea el Miembro.

Existen instituciones internacionales de normalización y la OMC no es una de ellas. La OMC no fija normas internacionales ni es responsable del procedimiento de armonización de las diversas medidas sanitarias y fitosanitarias de los Miembros. Sin embargo, el Comité MSF tiene el mandato de vigilar el proceso de armonización internacional y coordinar con las organizaciones internacionales competentes las iniciativas a este respecto.

3.- La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF)

Paralelamente al surgimiento de la OMC surgió la preocupación de que el aumento del comercio propiciara la introducción y propagación de plagas de las plantas en los territorios y países previamente considerados libres de esas plagas. Ya en 1881, el concepto de protección internacional de las plantas obtuvo reconocimiento cuando cinco países firmaron un acuerdo para controlar la difusión de la filoxera (*Phylloxera vasatrix*), un áfido de América del Norte que se introdujo en Europa alrededor del año 1865. Posteriormente, esta plaga devastó los viñedos de diversas regiones vitícolas de Europa.

Estos acontecimientos sentaron el precedente de la Convención Internacional para la Protección de las Plantas, firmado en Roma en 1929. Más tarde, en 1951, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) aprobó la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF). La CIPF entró en vigor en abril de 1952, fue

revisada en 1979 y de nuevo en 1997, y sustituye a todos los anteriores acuerdos internacionales de protección fitosanitaria.

Como se describió anteriormente, la OMC reconoce a la CIPF como el órgano normativo internacional en materia de fitosanidad. Las normas de la CIPF ofrecen las bases de las medidas que adoptan los gobiernos de los países para proteger sus recursos vegetales de plagas perjudiciales (medidas fitosanitarias). Las medidas deben justificarse técnicamente para permitir la protección básica de los recursos vegetales sin crear obstáculos innecesarios al comercio internacional.

La CIPF es un acuerdo de cooperación internacional jurídicamente vinculante que tiene por objeto proteger los recursos vegetales del mundo de la introducción y propagación de plagas. La finalidad de la Convención es garantizar una acción común y eficaz para prevenir la propagación e introducción de plagas (comprendidos los insectos, patógenos y plantas que sean plagas) de las plantas y productos vegetales y promover las medidas adecuadas para combatirlas. Si bien los principales objetivos de la CIPF son las plantas y productos vegetales que circulan en el comercio internacional, la CIPF se aplica a todo lo que puede actuar como una vía para la propagación de plagas de plantas. Esto puede incluir, por ejemplo, los contenedores, suelos, vehículos y maquinaria, así como materiales de embalaje.

Los países que han ratificado la CIPF se denominan partes contratantes. Las partes contratantes de la CIPF tienen el objetivo común de proteger las plantas cultivadas y silvestres previniendo la introducción y propagación de plagas. Hay 181 países de todo el mundo que son partes contratantes de la CIPF.

Las partes contratantes de la CIPF convienen en cooperar entre sí a fin de prevenir la propagación internacional de plagas de las plantas. Esto comprende el intercambio de información sobre plagas, proporcionar información técnica y biológica necesaria para el análisis de riesgos de plagas, y la participación en las campañas especiales para combatir las plagas. Los países que no han ratificado la CIPF (partes no contratantes) con frecuencia respetan las disposiciones de la Convención y se promueve que lo hagan.

El Acuerdo MSF identifica la CIPF como la organización que proporciona normas internacionales a fin de contribuir a garantizar que las medidas aplicadas para proteger la sanidad de las plantas

(medidas fitosanitarias) estén armonizadas y no se utilicen como obstáculos no arancelarios injustificados al comercio. En 1997 se hizo una importante actualización del texto de la CIPF. La versión revisada de la Convención fortalece la CIPF a través del establecimiento de un mecanismo para elaborar y adoptar normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF), y alinea la Convención con el Acuerdo MSF de la OMC.

Normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF)

Las medidas fitosanitarias son toda legislación, reglamento o procedimiento oficial que tenga el propósito de prevenir la introducción y/o dispersión de plagas cuarentenarias o limitar las repercusiones económicas de las plagas no cuarentenarias reglamentadas. La Comisión de Medidas Fitosanitarias (CMF) es el órgano rector la CIPF y donde se aprueban las NIMF. Las normas no son instrumentos reglamentarios en sí mismos, sino que entran en vigor cuando los gobiernos establecen requisitos en su legislación nacional.

Las NIMF son el medio por el cual las partes contratantes pueden armonizar sus requisitos fitosanitarios. La elaboración y la aplicación de normas no sólo reduce el número de plagas que se trasladan a través de la circulación internacional de productos, sino también facilitan el comercio mediante el establecimiento de una base armonizada y científica para las medidas fitosanitarias, de manera que las disposiciones protejan las plantas y a la vez impongan el menor número de restricciones que sea necesario. Para casi todos los países en desarrollo, donde las plantas y productos vegetales son importantes productos de exportación, es decisivo conseguir y mantener el acceso al mercado a fin de reducir la pobreza y lograr un desarrollo sostenible.

Las normas internacionales también proporcionan una base técnica para que los países puedan proteger de las plagas tanto las plantas cultivadas como la flora silvestre. Esto es de gran importancia ya que las plagas pueden dañar la agricultura, constituyen un peligro para la seguridad alimentaria y perjudican la flora silvestre y los ecosistemas, y la protección de estos recursos vegetales es una función esencial y responsabilidad de las partes contratantes de la CIPF.

La CIPF ha desempeñado un papel importante en el comercio internacional de plantas y productos vegetales desde su creación. Las partes contratantes de la CIPF se esfuerzan por asegurar que sus exportaciones no sean un vehículo para introducir plagas en los territorios de sus asociados comerciales y que las medidas fitosanitarias que tienen vigentes se justifiquen técnicamente. Con este fin, la Convención define los derechos y obligaciones de las partes, que comprenden el derecho de tomar medidas fitosanitarias, pero también limitan los derechos a los considerados necesarios y justificados; teniendo en cuenta los posibles daños para la salud de las plantas y las consecuencias económicas.

Desde el punto de vista de las importaciones, las partes contratantes podrán aplicar medidas fitosanitarias sólo cuando tales medidas sean necesarias para prevenir la introducción y/o dispersión de plagas cuarentenarias² o para limitar las repercusiones económicas de las plagas no cuarentenarias reglamentadas³. Las partes contratantes aplicarán las medidas fitosanitarias de manera transparente y no discriminatoria y estarán de acuerdo en que las restricciones fitosanitarias se utilizarán sólo cuando se justifiquen técnicamente y no como obstáculos para proteger una industria de la competencia. La Convención permite a las partes contratantes tener la seguridad, mediante certificación fitosanitaria, de que las importaciones no son medios de introducción de nuevas plagas en sus territorios.

Desde el punto de vista de las exportaciones, las partes contratantes adoptarán las disposiciones necesarias para asegurar que sus exportaciones no den origen a nuevas plagas en los territorios de sus socios comerciales y que sus exportaciones cumplan los requisitos de importación del país importador.

4.- Organizaciones nacionales de protección fitosanitaria (ONPF)

El acuerdo de la CIPF establece que cada parte contratante dispondrá, en la medida de sus posibilidades, de una organización nacional oficial de protección fitosanitaria (ONPF) como servicio oficial para el cumplimiento de las funciones de la CIPF.

En sus funciones principales, las ONPF son responsables de:

² Plaga de importancia económica potencial para el área en peligro aun cuando la plaga no esté presente o, si está presente, no está ampliamente distribuida y se encuentra bajo control oficial.

³ Plaga no cuarentenaria cuya presencia en las plantas para plantar afecta el uso destinado para esas plantas con repercusiones económicamente inaceptables y que, por lo tanto, está reglamentada en el territorio de la parte contratante importadora

- expedir certificados fitosanitarios;
- gestionar la vigilancia de brotes de plagas y control de plagas;
- hacer inspección y, si es necesario, desinfectar los envíos de plantas y productos vegetales;
- garantizar la seguridad fitosanitaria de los envíos desde la certificación hasta la exportación;
- establecer y proteger áreas libres de plagas; y
- llevar a cabo análisis de riesgos de plagas para la elaboración de medidas fitosanitarias

Las tres últimas funciones citadas definen claramente las responsabilidades señaladas en la revisión de 1997 de la Convención. El nuevo texto revisado aclara la importancia de las ONPF en la aplicación de los conceptos actualizados de la Convención en los países. El análisis de riesgos de plagas (ARP), por ejemplo, es una práctica fitosanitaria moderna que proporciona la justificación técnica de la aplicación de medidas fitosanitarias.

La CIPF exige que cada parte contratante presente una descripción de su ONPF oficial y que notifique a la Secretaría de la CIPF todos los cambios que se hagan en la organización. Cuando se solicite, las partes contratantes deberán presentar a las otras partes contratantes una descripción de los acuerdos de su organización para la protección de las plantas.

Cada parte contratante designará un contacto oficial para facilitar el intercambio de información entre la CIPF y las partes contratantes. El contacto es el portavoz oficial sobre cuestiones relacionadas con la CIPF de cada gobierno, y la información, la experiencia y las pericias deberán compartirse con los otros portavoces y la Secretaría de la CIPF a fin de fortalecer la capacidad fitosanitaria regional e internacional. Sobre todo, las ONPF ponen en práctica los principios de la Convención y aplican los reglamentos fitosanitarios emitidos por sus gobiernos. Las ONPF expiden certificados fitosanitarios, cuando es necesario, para confirmar que los exportadores cumplen con los requisitos fitosanitarios del país importador. Algunas funciones desempeñadas por la ONPF podrán delegarse al personal que trabaje bajo su autoridad.

En la república Argentina, el Decreto N° 825/2010 estableció que en el ámbito del SENASA, la Dirección Nacional de Protección Vegetal tiene entre sus responsabilidades primarias la de ejercer las funciones que la CIPF establece para las organizaciones nacionales de protección fitosanitaria.

El Acuerdo MSF contiene disposiciones para la protección fitosanitaria en un acuerdo de comercio, mientras que la CIPF contiene disposiciones complementarias para el comercio en un acuerdo de protección fitosanitaria.

5. Organizaciones Regionales de Protección Fitosanitaria (ORPF)

Son organizaciones intergubernamentales que funcionan como organismos de coordinación en las áreas de su jurisdicción.

De acuerdo con el Artículo IX de la CIPF las partes contratantes se comprometen a cooperar entre sí para establecer organizaciones regionales de protección fitosanitaria en las áreas apropiadas. No todos los miembros de la CIPF son miembros de ORPFs y algunos de ellos pertenecen a más de una ORPF.

Las funciones de una ORPF son:

- participar en las distintas actividades encaminadas a alcanzar los objetivos de la Convención
- divulgarán información.
- cooperar en la elaboración de normas internacionales.
- participar en Consultas Técnicas periódicas de representantes de las ORPFs para promover la elaboración y utilización de normas internacionales pertinentes para medidas fitosanitarias
- estimular la cooperación interregional para promover medidas fitosanitarias armonizadas destinadas a controlar plagas e impedir su diseminación y/o introducción.

Entre las Organizaciones Regionales de Protección Fitosanitaria se encuentran: COSAVE (Comité de Sanidad Vegetal del Cono Sur) del que participa Argentina, Bolivia, Chile, Brasil, Perú, Uruguay y Paraguay; CA (Comunidad Andina) de Bolivia, Perú, Colombia, Ecuador y Venezuela; NAPPO (North American Plant Protection Organization) de Méjico, USA y Canadá; CPPC (Caribbean Plant Protection Commission) de 23 países miembros; APPPC (Asia and Pacific Plant Protection Commission) de 24 países entre los cuales se encuentra Australia, China,

India, Nueva Zelanda, etc.; PPPO (Pacific Plant Protection Organization) de Nueva Zelanda, Australia, etc.; EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) con 50 países miembros y OIRSA (Organización Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria) con varios países del Caribe continental.

COSAVE

El Comité de Sanidad Vegetal del Cono Sur (COSAVE) es una Organización Regional creada mediante Acuerdo entre los Gobiernos de Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Paraguay, Perú y Uruguay, en el marco de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria.

Su objetivo es fortalecer la integración fitosanitaria regional y desarrollar acciones integradas tendientes a resolver los problemas fitosanitarios de interés común para los Países Miembros.

El Convenio Constitutivo de la Organización fue suscripto el 9 de marzo de 1989 como culminación de un proceso iniciado en el año 1979, en respuesta a las necesidades regionales en materia fitosanitaria. Durante esta primera década funcionó en forma “ad hoc”, con el auspicio de IICA y FAO.

Durante sus primeros años de acción, logró contar con documentos técnicos consensuados entre los cinco países, lo cual permitió que los procesos de armonización acordados con la creación del MERCOSUR pudieran concretarse sobre la base de sólidos fundamentos técnico-científicos y con capacidades regionales para su implementación.

La creación de la OMC, los acuerdos multilaterales que concomitantemente se aprobaron y las modificaciones introducidas a la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, generaron un nuevo marco jurídico internacional para el comercio de productos agrícolas. La Organización se vio en la necesidad de adecuar sus líneas de acción a este nuevo contexto internacional.

En lo que respecta a la vinculación con otras Organizaciones Regionales de Protección Fitosanitaria, COSAVE es parte activa del Grupo Interamericano en Coordinación en Sanidad Vegetal que nuclea a las Organizaciones Regionales de Protección Fitosanitaria de las Américas y que

constituye un foro de coordinación de acciones de interés común.

En forma similar, es parte integrante de la Consulta Técnica de Organizaciones Regionales de Protección Fitosanitaria existentes a nivel mundial, donde se discuten asuntos de fondo a ser tratados ante los foros internacionales del área fitosanitaria.

Sus líneas de acción son:

- participar en la generación y el seguimiento de las normas que se desarrollan en el ámbito internacional, ya sea de la CIPF, el Codex Alimentarius, el Convenio de la Diversidad Biológica y otros.
- Fortalecimiento de la capacidad regional en los procesos de integración con otros bloques regionales o hemisféricos.
- Identificación y desarrollo de aquellas normas que, basadas en las internacionales, deberán ser especificadas o profundizadas de acuerdo a las necesidades de los Países Miembros.
- Incentivo a la implementación de las normas y procedimientos armonizados regional ó internacionalmente.

Su estructura consiste en un Comité Directivo del cual participan los Directores Nacionales de Protección vegetal de las ONPF y varios Grupos Técnicos donde se trata la temática de protección vegetal. En cuanto a la temática cuarentenaria, es analizada en el ámbito del Grupo de Trabajo en Cuarentena Vegetal.

6.- MERCOSUR

El Grupo de Mercado Común del Sur (MERCOSUR) está integrado por Argentina, Brasil, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Venezuela.

En el ámbito agrícola se encuentra la Comisión de Sanidad Vegetal del Mercosur de la cual participan los Directores Nacionales de las ONPF de los mencionados países.

Además, existe un Grupo Técnico de Cuarentena Vegetal cuyo objetivo principal es establecer y armonizar los requisitos fitosanitarios para el intercambio intra región de los principales productos vegetales.

Páginas Web relacionadas

OMC: www.wto.org
CIPF: www.ippc.int

COSAVE: www.cosave.org
SENASA: www.senasa.gov.ar

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

A2

Cuarentena
vegetal

Ing. Maria Julia Palacin

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Cuarentena vegetal. Sistema cuarentenario

El comercio internacional de productos de origen vegetal, implica un riesgo de introducción y dispersión de plagas para los países.

Es por ello que los países implementan acciones en sus territorios para prevenir la introducción y dispersión de plagas cuarentenarias, y de esta manera proteger el patrimonio fitosanitario nacional y evitar pérdidas económicas y daños al ambiente.

Se consideran Plagas Cuarentenarias a las plagas de importancia económica potencial para el área en peligro cuando aún la plaga no está presente (plaga cuarentenaria ausente, PCA) o, si está presente, no está extendida y se encuentra bajo control oficial (plaga cuarentenaria presente, PCP).

De acuerdo a la definición de FAO, 1995, la cuarentena vegetal es "Todas las actividades destinadas a prevenir la introducción o dispersión de plagas cuarentenarias o asegurar su control oficial".

En este marco, se define como Sistema Cuarentenario al conjunto de actividades tendientes a prevenir la introducción al país de plagas cuarentenarias ausentes y/o la dispersión de plagas cuarentenarias presentes. Para una mejor comprensión y de acuerdo a su objetivo, se lo divide en dos componentes: Cuarentena Externa y Cuarentena Interna

Cuarentena Externa

Se define como Cuarentena Externa al conjunto de medidas técnicas, legales y administrativas, que se establecen para prevenir la introducción a nuestro país de plagas cuarentenarias ausentes y que puedan ser vehiculizadas por la importación de productos vegetales y otros artículos reglamentados (medios de transporte, maquinaria agrícola, etc.).

La Cuarentena Externa comprende acciones que se implementan en las etapas de pre-ingreso, al ingreso y en post-ingreso de los envíos de artículos reglamentados que ingresan al país.

Cuarentena Pre-ingreso

En esta etapa es indispensable la Categorización de Riesgo de los Productos que deseen ingresar al país. Dicha categorización se encuentra establecida en la NIMF N° 32 (categorización de productos según su riesgo de plagas). Esta norma propone una

categorización en base al grado de procesamiento del producto y su uso previsto. Para ello es necesario contar con información detallada del método y grado de elaboración al que fue sometido el producto antes de la exportación y su uso previsto después de la importación.

Esto nos permite evaluar si el producto a importar mantiene o no la capacidad de ser infestado o de vehiculizar plagas cuarentenarias. De esta evaluación se concluye si el producto implica un riesgo fitosanitario y si es necesario aplicar medidas fitosanitarias, las que surgirán como resultado del correspondiente Análisis de Riesgo de Plagas (ARP) (NIMF N° 2 y 11). El ARP es el Proceso de evaluación de las evidencias biológicas u otras evidencias científicas y económicas para determinar si un organismo es una plaga, si debería ser reglamentado, y la intensidad de cualesquiera medidas fitosanitarias que hayan de adoptarse contra él.

Mediante la aplicación de la NIMF N° 11 - Análisis de Riesgo de Plagas para Plagas Cuarentenarias, la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF) del país importador define las plagas cuarentenarias asociadas al producto vegetal a ser importado y las correspondientes medidas fitosanitarias para mitigar el riesgo de introducción de tales plagas.

Estas medidas fitosanitarias definidas por la parte importadora serán los requisitos a ser cumplimentados por la Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF) de la parte exportadora, quien es responsable de emitir el correspondiente Certificado Fitosanitario.

Estas medidas pueden incluir la verificación en origen de la condición fitosanitaria de alguna plaga (área libre, enfoque de sistemas), previo a la autorización de la importación.

Asimismo, los requisitos fitosanitarios que surjan del resultado del Análisis de Riesgo de Plagas constarán en la Autorización Fitosanitaria de Importación (AFIDI), la cual debe ser solicitada previo a toda transacción comercial.

Cuarentena al Ingreso

La Cuarentena al Ingreso incluye las acciones que el inspector certificante realiza en la frontera administrativa del país, para manejar el riesgo derivado de las distintas vías posibles de ingreso de plagas reglamentadas. Una parte importante

de estas acciones están relacionadas con la inspección fitosanitaria que involucra la verificación de la documentación que acompaña al envío, principalmente la Autorización Fitosanitaria de Importación (AFIDI) y el Certificado Fitosanitario de origen cuando corresponda según la categoría de riesgo del producto, como así también la inspección física de la mercadería y la toma de muestra para análisis de laboratorio en caso que la plaga a inspeccionar así lo requiera.

También se incluye entre las actividades de Cuarentena al ingreso, el control de otras vías de ingreso de plagas, por lo que se realiza la verificación de las cargas en tránsito, la inspección y control de los medios de transporte internacionales, la inspección de los embalajes de madera, el control de las áreas de almacenaje, de la basura internacional, del correo postal y courier, y de los pasajeros, entre otros.

Cuarentena Post-ingreso (Cuarentena post-entrada)

La cuarentena post-entrada (CPE) es una medida de mitigación de riesgo que aplica un país al material de propagación que importa, luego de su ingreso. Esto permite la detección de las plagas durante el crecimiento y/o desarrollo del material importado, que en varios casos pueden no haberse detectado durante la inspección y/o análisis de laboratorio que se efectúan al ingreso del material, ya que las mismas se expresan con posterioridad. La detección de plagas reglamentadas durante el período de Cuarentena Post-entrada, permite tomar medidas de erradicación o control de las plagas detectadas, sin que se modifique el estatus reglamentario de esas plagas en el país importador.

En Argentina existe actualmente un sistema de CPE abierta: el producto que se importa es mantenido bajo control oficial y relativo aislamiento en predios habilitados previamente por SENASA como sitio cuarentenario.

La CPE se debe cumplimentar cuando el producto

que se importa es material de propagación vegetativo (plantas, plantines, estacas, yemas, tubérculos, estolones, etc.) perteneciente a especies frutales, hortícolas y forestales.

La CPE en Argentina presenta actualmente tres diferentes modalidades:

- General (mínimo 2 ciclos vegetativos, densidad vivero, aislamiento 200 mts de especies fitosanitariamente afines)
- Reducida (habilitado vivero de origen, mínimo 1 ciclo vegetativo, densidad de plantación, aislamiento 200 mts. de especies fitosanitariamente afines)
- Material in vitro (se diseña un seguimiento cuarentenario para cada caso en particular, de acuerdo al manejo del material que haga cada importador, estableciéndose la duración, cantidad de inspecciones y los momentos para efectuarlas)

Actualmente, la norma de cuarentena post-entrada vigente se encuentra en proceso de actualización para adecuarla a los distintos niveles de riesgo.

Cuarentena Interna

La Cuarentena Interna es el conjunto de medidas técnicas, legales y administrativas, que se establecen para prevenir la dispersión de plagas cuarentenarias presentes dentro de un país y para lo cual resulta necesario ejercer acciones de control oficial para evitar su dispersión a áreas donde no se encuentran presentes.

La Cuarentena Interna, involucra el establecimiento de áreas libres y de escasa prevalencia de plagas, de sistemas integrados de medidas de mitigación (enfoque de Sistemas), la aplicación de Tratamientos Cuarentenarios y otras medidas que deben a ser aplicadas para permitir el movimiento de artículos reglamentados desde áreas donde se encuentra presente la plaga hacia aquellas que aún se encuentran libres de la misma.

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

A3

Análisis de riesgo de plagas

María Elena Gatti

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



La Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) es un acuerdo internacional de sanidad vegetal que tiene como objetivo proteger las plantas cultivadas y silvestres, previniendo la introducción y la dispersión de plagas.

El Acuerdo de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (AMSF) de la Organización Mundial de Comercio (OMC), reconoce a la CIPF como la Organización internacional competente, encargada del establecimiento de normas internacionales en medidas fitosanitarias (NIMF).

El Artículo IV del Nuevo texto Revisado de la CIPF establece que cada parte contratante debe tomar las disposiciones necesarias para establecer una Organización Nacional Protección Fitosanitaria (ONPF).

Las ONPF deben adaptarse a los estándares internacionales que surgen de tratados y acuerdos internacionales adoptados y que rigen el comercio internacional de plantas, productos vegetales y otros artículos reglamentados.

En la Argentina la ONPF está representada por la Dirección Nacional de Protección Vegetal del SENASA y una de sus principales funciones es la de prevenir el ingreso, establecimiento y dispersión de plagas cuarentenarias que pudieran ingresar al país en productos vegetales de importación.

El Análisis de Riesgo de Plagas (ARP) ofrece la justificación técnica para la aplicación de medidas fitosanitarias y la ONPF puede exigir tales medidas para las plagas cuarentenarias, siempre que las mismas sean no más restrictivas que las medidas aplicadas a las mismas plagas, si están presentes en el territorio nacional; sean limitadas a lo que es necesario para proteger la sanidad vegetal y/o salvaguardar el uso propuesto y estén técnicamente justificadas.

El ARP es un proceso de evaluación de las evidencias biológicas u otras evidencias científicas y económicas para determinar si un organismo es una plaga, si debería ser reglamentado, y la intensidad de cualesquiera medidas fitosanitarias que hayan de adoptarse contra él. Las NIMF que establecen este proceso son la NIMF N° 2 (Marco para el Análisis de Riesgo de Plagas) y NIMF N° 11 (Análisis de Riesgo de Plagas para plagas cuarentenarias). También existe a nivel Regional del Comité de Sanidad Vegetal del Cono Sur (COSAVE) la "Guía para el desarrollo de Análisis de Riesgo de Plagas".

La recopilación de la información y el mantenimiento de los registros son aspectos importantes del análisis de riesgo de plagas. Cualquier ARP deberá estar bien documentado, de tal forma que las fuentes de información y las decisiones puedan evaluarse en caso de una revisión o una controversia sobre las medidas fitosanitarias escogidas.

Las etapas del ARP son 3: Inicio, Evaluación del riesgo y Manejo del riesgo.

Etapas 1: Inicio

El inicio de un ARP puede darse porque un nuevo producto se incorpora al comercio, porque se realiza una revisión de las políticas fitosanitarias del país o por la identificación de una plaga.

La recopilación de la información es un elemento muy importante en la etapa inicial para aclarar la identidad de las plagas, su distribución y su asociación con plantas hospedantes, etc. Las fuentes de información en primer lugar corresponde a la proporcionada por las ONPFs del país exportador, también se utilizan otras fuentes como el Crop Protection Compendium, PQR/EPPO, etc. Como conclusión de esta primera etapa, se obtiene la identificación de las plagas potencialmente cuarentenarias que están asociadas a la vía y que por lo tanto serán sometidas a la etapa 2 de evaluación de riesgo de plagas.

Plaga cuarentenaria: Plaga de importancia económica potencial para el área en peligro aun cuando la plaga no esté presente o, si está presente, no está ampliamente distribuida y se encuentra bajo control oficial Entendiéndose como control oficial a la ... Observancia activa de la reglamentación fitosanitaria y aplicación de los procedimientos fitosanitarios obligatorios, con el propósito de erradicar o contener las plagas cuarentenarias...

Etapas 2: Evaluación del riesgo

En esta etapa se evalúa en primer lugar la probabilidad de introducción (entrada + establecimiento) y dispersión de cada una de las plagas identificadas en la Etapa 1.

1.- El potencial de introducción incluye la probabilidad de entrada de la plaga a un país, y la probabilidad de su establecimiento.

1.a.- En lo que respecta a la entrada de la plaga, se tiene en consideración la Probabilidad de sobrevivencia al manejo post- cosecha, la

probabilidad de sobrevivencia de la plaga en las condiciones del transporte, la Probabilidad de no detectar la plaga en la inspección al ingreso, la Probabilidad de transferencia a un hospedante apropiado y la Frecuencia y volumen de importación.

1.b.- En relación al establecimiento, se considera la Disponibilidad, cantidad y distribución de hospedantes en el área del ARP, la Presencia de condiciones climáticas en el área de ARP adecuadas para el desarrollo de la plaga, el Potencial de adaptación de la plaga y la Estrategia reproductiva y método de sobrevivencia

2.- El Potencial de dispersión tiene en cuenta las características de la plaga que afecten la dispersión (estrategia reproductiva, capacidad de dispersión por sí misma, etc.), la presencia de barreras naturales para evitar la dispersión de la plaga, el movimiento con el producto o el medio de transporte en el área de ARP y la presencia de vectores potenciales de la plaga en el área de ARP.

En esta Etapa también se consideran las consecuencias económicas potenciales de la introducción y dispersión de la plaga.

Estas consecuencias pueden ser directas, en tal caso se tienen en cuenta las plantas hospedantes conocidas o potenciales, el tipo, cantidad y frecuencia del daño, la pérdida de cultivo, rendimiento y calidad, el efecto sobre las prácticas de producción existentes y los daños ambientales causados.

También pueden presentarse consecuencias económicas potenciales Indirectos, y para su evaluación se tienen en cuenta los efectos sobre los mercados internos y de exportación, los cambios en los costos de producción, los efectos ambientales de las medidas de control y los efectos sociales.

Concluyendo la Etapa 2 se obtiene la combinación de las probabilidades de introducción y dispersión

de la plaga y las consecuencias económicas de dicha introducción, por lo tanto conocemos el Riesgo Potencial de la plaga.

Etapas 3: Manejo del riesgo

La evaluación del riesgo de plagas permite decidir si es necesario manejar el riesgo y la intensidad de las medidas que han de aplicarse. Riesgo cero no es una opción razonable, el principio para el manejo del riesgo deberá ser manejar el riesgo para conseguir el grado necesario de seguridad que pueda estar justificado y sea viable dentro de los límites de las opciones y recursos disponibles.

Se identifican las medidas fitosanitarias más apropiadas que solas o combinadas reducen el riesgo percibido como por ejemplo: Envío Libre, Análisis de laboratorio, Tratamientos cuarentenarios, Cultivo oficialmente inspeccionado, Sistema de Mitigación de Riesgo y Área Libre, etc.

Comunicación de los requisitos fitosanitarios

Una vez que se establecen los requisitos fitosanitarios y se acuerdan entre las ONPF del país importador y exportador, los mismos son notificados a la Organización Mundial del Comercio a fin de que el resto de las ONPF tomen conocimiento.

En la Argentina se encuentra implementado el sistema informático de autogestión on line de Afidi (Autorización Fitosanitaria de Importación). La Afidi es un documento de carácter obligatorio para la importación de productos y subproductos de origen vegetal y otros productos reglamentados que tramita el importador ante la Dirección de Cuarentena Vegetal del Senasa, de manera de conocer fehacientemente los Requisitos Fitosanitarios establecidos por Argentina para el producto / destino /origen, y poder solicitar en tiempo y forma la Certificación Fitosanitaria, previa a la importación de dicho producto y dar inicio al trámite de importación en la oficina Local del Punto de ingreso.

Manual de Sistemas Cuarentenarios para Plagas Agrícolas 2016

A4

Área libre

Ing. Maria Julia Palacin

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Concepto de Área y de Área Libre

Un área se define como Un país, parte de un país, países completos o partes de diversos países, que se han definido oficialmente [FAO, 1990, revisado NIMF 2, 1995; CEMF, 1999; definición basada en el Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la Organización Mundial del Comercio (OMC, 1994)].

El concepto de Área Libre según el Glosario de la CIPF se define como un área en la cual una plaga específica está ausente, tal y como se ha demostrado con evidencia científica y en la cual, cuando sea apropiado, dicha condición se esté manteniendo oficialmente. [NIMF 2, 1995; revisado CMF, 2015]

Objetivos

La condición de Área Libre es una opción de manejo del riesgo que se aplica en algunos casos y permite la exportación de productos vegetales desde dicha área con la certificación del origen, sin medidas fitosanitarias adicionales. Esta condición debe ser reconocida oficialmente a nivel nacional y por terceros países a los cuales se exporta.

Normativa internacional

La normativa internacional que rige en la materia es la NIMF N° 4 Requisitos para el establecimiento de áreas libres de plagas, donde se describen los requisitos para el establecimiento y uso de áreas libres de plagas (ALP) como una opción del manejo de riesgo para la certificación fitosanitaria de plantas y productos vegetales y otros artículos reglamentados exportados del ALP o para sostener la justificación científica de las medidas fitosanitarias tomadas por un país importador con el fin de proteger un ALP en peligro. Es la norma marco que da los lineamientos para establecer un Área Libre de una plaga.

De manera más específica para el caso de moscas de los frutos, la NIMF N° 26 establece los lineamientos para el establecimiento de áreas libres de plagas para moscas de la fruta (Tephritidae) de importancia económica, y para el mantenimiento de su estatus libre de plagas.

Antecedentes

Un área libre de plagas es: “en donde no está presente una plaga específica, tal como haya sido demostrado con evidencia científica y dentro de la

cual, cuando sea apropiado, dicha condición esté siendo mantenida oficialmente”.

El establecimiento y uso de un ALP por parte de una ONPF prevé la exportación de plantas, productos vegetales y otros artículos reglamentados del país en el cual está ubicada el área (país exportador) hacia un otro país (país importador) sin necesidad de aplicar medidas fitosanitarias adicionales, siempre que se cumplan ciertos requisitos. Así, la condición de libre de plagas referida a un área, se puede utilizar como base para la certificación fitosanitaria de plantas, productos vegetales y otros artículos reglamentados con respecto a las plagas de que se trate. También dispone, como un elemento de la evaluación del riesgo de plagas, la confirmación del fundamento científico sobre la ausencia de una plaga determinada en un área. El concepto de ALP es, por lo tanto, un elemento en la justificación de las medidas fitosanitarias tomadas por un país importador para proteger un área en peligro.

Aunque el término “áreas libres de plagas” abarca toda una gama de tipos (desde un país completo que esté libre de plagas hasta un área pequeña que esté libre de plagas, pero ubicada dentro de un país donde esa plaga sea prevalente), se ha considerado conveniente analizar los requisitos de las ALP mediante la definición de tres tipos:

- un país completo
- una parte no infestada de un país en el cual está presente un área infestada limitada
- una parte no infestada de un país ubicada dentro de un área generalmente infestada.

Requisitos para el establecimiento de áreas libres de plagas (ALP)

Para la determinación, establecimiento y posterior mantenimiento de las ALP, se toman en consideración tres componentes o etapas principales:

- sistemas para establecer un área libre de una plaga
- medidas fitosanitarias para mantener un área libre de una plaga
- revisiones para verificar que se ha mantenido un área libre de una plaga.

La naturaleza de estos componentes variará de acuerdo con la biología de la plaga, los tipos y

características relevantes del ALP y el nivel requerido de seguridad fitosanitaria, el cual estará basado en el análisis del riesgo de plagas. Los métodos utilizados para lograr estos componentes pueden incluir:

- recopilación de datos
- vigilancia (encuestas de delimitación, detección o verificación)
- regulaciones, controles de movimiento de artículos reglamentados y plan de erradicación, de corresponder.
- revisión (supervisión y acciones correctivas)
- documentación (informes, planes de trabajo).

De manera resumida las etapas involucradas en el establecimiento de un Área Libre son las que se detallan a continuación:

1. Caracterización del ALP
2. Establecimiento del ALP
3. Mantenimiento del ALP
4. Suspensión, restablecimiento o pérdida del estatus de ALP

Factibilidad del Área libre

Para determinar la factibilidad de implementar un programa para el establecimiento de un área libre de

una determinada plaga, es fundamental considerar su viabilidad económica, efectuando un análisis costo-beneficio, por lo que se debe tener en cuenta una serie de aspectos:

- a. Determinar los productos exportables que pueden ser afectados por la plaga cuarentenaria, como posibilidades de expansión de dichos cultivos.
- b. La bioecología de la plaga o complejo de plagas, principalmente en lo que hace a su distribución, fluctuación a través del año, comportamiento, disponibilidad de hospedantes primarios y secundarios, conocimiento que posibilita evaluar la complejidad del control necesario para erradicar y mantener ese estatus.
- c. Condiciones de aislamiento de la zona (mar, montañas, desiertos, etc.) y climáticas con condiciones que favorecen o no el establecimiento de la plaga.
- d. La vigilancia, erradicación, barreras fitosanitarias y campaña pública de concientización son los principales costos de las áreas libres, que se deben balancear con las posibilidades de expandir la comercialización de los productos exportables.
- e. Dentro de este esquema es importante considerar el compromiso de los productores, gobiernos provinciales y nacionales en el cumplimiento de los objetivos propuestos.

Bibliografía recomendada

NIMF N° 4, Requisitos para el establecimiento de áreas libres de plagas, 1995.

NIMF N° 26, Establecimiento de áreas libres de plagas para moscas de la fruta (Tephritidae), 2015.
www.ippc.int.

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

A5

Estatus de hospedero

**Lucrecia Augier, M. Elvira Villagrán, Analía
Salvatore, Gerardo Gastaminza y Eduardo
Willink**



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

Una exigencia de los países que comercializan productos es la exclusión de plagas exóticas de potencial importancia económica asociados a ellos, que no están presentes aún o no están ampliamente distribuidas en el país que importa. Estas plagas son llamadas cuarentenarias por lo que se utilizan tratamientos cuarentenarios para desinfectar el producto hospedante de artrópodos plagas, antes de que los mismos sean movilizados a áreas donde no se encuentran. Muchos de estos tratamientos afectan no sólo al medio ambiente sino también deterioran los productos que se comercializan.

En la búsqueda de lograr alternativas para solucionar los inconvenientes mencionados, actualmente se considera importante lograr un mayor conocimiento acerca de la relación existente entre la plaga y sus hospedantes o posibles hospedantes, para decidir la necesidad de aplicar un tratamiento o medida de mitigación.

Un aspecto prioritario es determinar la condición de hospedante de una plaga para todo o parte del ciclo del cultivo. Por lo tanto debemos partir de una definición: Armstrong (1986), definió "hospedante" de mosca de la fruta a "cualquier producto hortícola que puede ser infestado naturalmente en el campo en uno o más de sus estados de desarrollo, donde el adulto ovipone, las larvas eclosionan, pasan al estado de pupa del cual emerge un adulto capaz de reproducirse". Así mismo Cowley *et al.* (1982) establecieron que si no se obtiene descendencia, el fruto no debe ser considerado hospedante.

Inconvenientes al definir listados de hospedantes

Entre los problemas que producen confusiones a la hora de considerar o determinar el estatus de hospedante de un producto, se encuentran los siguientes:

- 1) Incorrecta identificación de la especie de la mosca de la fruta y/o especie o cultivar de la planta.
- 2) Listados mal realizados: observaciones casuales e informes pobremente documentados que no presentan una base científica y carecen de validez objetiva para diferenciar un hospedante de un no hospedante, han sido considerados por investigadores o autoridades fitosanitarias como válidos para determinar el estatus de hospedante de ciertos productos (Couey, 1983). Por ejemplo,

existen muchos artículos publicados con listas de hospedantes de la mosca del Mediterráneo *Ceratitis capitata* que no están acompañados con datos sobre infestación.

3) Estatus biológico de hospedantes: la determinación del estatus biológico de algunos hospedantes registrados como tal es dificultosa por la escasez de estudios sobre la aceptación de los hospedantes, reconocimiento, selección y la información de tablas de vida (Liquido *et al.*, 1991). Omisión de datos importantes tales como cultivar, etapa de madurez, estado físico de la fruta al momento de la recolección, condiciones sanitarias del huerto, etc.

4) Localidades mal establecidas: es importante tener registros confiables de localidades donde se encuentran los hospedantes, ya que esto puede causar problemas similares a los producidos por los registros erróneos de hospedantes. Wester (1920) registró al gorgojo del mango, *Cryptorhynchus mangiferae* como una plaga del mango Mangifera indica en Filipinas, causa por la cual este fruto no podía ser exportado a Estados Unidos porque no existían tratamientos cuarentenarios aprobados para dicha plaga. A pesar de que en las inspecciones no se registraban infestaciones del gorgojo del mango, la exportación estuvo vedada por mucho tiempo.

Categorías para definir un hospedante

Se pueden diferenciar dos clases de hospedantes: natural y artificial. Un hospedante natural es aquel que es infestado por el patógeno o la plaga en forma natural mientras que un hospedante artificial es aquel que es infestado en forma experimental en laboratorio (Kahn, 1989). No todos los hospedantes artificiales pueden actuar como naturales y no todos los hospedantes naturales pueden ser infestados en laboratorio. Desde el punto de vista cuarentenario, los hospedantes artificiales no deberían ser considerados como hospedantes debido a que no encuadran dentro de la definición dada anteriormente que se fundamenta en una infestación producida en la naturaleza.

USDA (1983) presentó una lista de hospedantes para los tefritidos agrupándolos en diferentes categorías:

- 1) Sumamente o generalmente infestados
- 2) Ocasionalmente infestados
- 3) Raramente infestados
- 4) Infestados solo en laboratorio.

Los organismos fitosanitarios regulatorios tienen como función primordial mantener las plagas exóticas fuera del país, por lo que desde el punto de vista cuarentenario consideran que tanto un producto que es generalmente infestado, ocasionalmente infestado o raramente infestado, son igualmente hospedantes.

Divergencias sobre el estatus de hospedante

Las agencias cuarentenarias de distintos países consideran diferentes criterios respecto a como establecer el estatus de hospedante de algunos productos frutihortícolas. Un ejemplo es la frutilla y en cuanto a este cultivo los antecedentes son diversos:

- El USDA en 1930 realizó con éxito infestaciones inducidas con mosca del Mediterráneo en plantaciones de frutilla en Florida.
- Thiem en 1937, Bhom en 1958 y Bass en 1959 reportaron larvas de mosca del Mediterráneo en frutillas en Austria y Alemania.
- Kobayashi y Fujimoto en 1975, registraron 26 adultos de mosca del Mediterráneo en frutillas colectadas en Hawai.
- En 1984, Armstrong *et al.* realizaron infestaciones inducidas con mosca del Mediterráneo a campo en cultivos de frutillas, recuperando 125 adultos en frutillas maduras y 66 en inmaduras.
- El Ministerio de Agricultura, Forestación y Pesca de Japón (MAFF), reguló la entrada de frutilla por considerarla hospedante de moscas de los frutos, basándose en datos bibliográficos que daban información sobre la infestación de la misma a campo. El USDA no consideró la frutilla como hospedante de la mosca del Mediterráneo porque durante 30 años de inspecciones en fruta provenientes de España no se encontró infestación con dicha mosca. Actualmente el USDA no exige tratamiento cuarentenario para la introducción de frutilla en su territorio al igual que México. Chile considera a la frutilla como hospedante de *Anastrepha fraterculus* y no de *C. capitata*.
- Para Brasil, Lima (1934) citó a *A. fraterculus* como hospedante de *Fragaria vesca* mientras que Fihlo (2000) citó por primera vez a *A. fraterculus* en cultivos no comerciales de *F. ananassa*.
- En nuestro país se realizaron ensayos en el departamento de Lules (Tucumán) que consistieron en monitoreo y muestreo de frutilla durante los meses

de producción de la misma (junio a noviembre). Los resultados del monitoreo indicaron que *A. fraterculus* no estuvo presente en los cultivos de frutilla pero sí en los campos aledaños durante las veinte semanas que duraron las actividades de trampeo, mientras que *C. capitata* apareció a fines de agosto. En ambas moscas, los valores de MTD (moscas/trampa/días) sugeridos como críticos, no fueron superados hasta las tres últimas semanas de monitoreo. De 400 Kg. de frutillas muestreadas no se detectaron huevos ni larvas vivos o muertos. En cuanto a la fruta de empaque, tampoco se capturaron moscas de los frutos. En base a la información generada por la EEAOC y a los informes difundidos por las barreras fitosanitarias argentinas respecto de la no intersección de partidas de frutillas con presencia de moscas de los frutos, el SENASA decidió eliminar a la frutilla del listado de hospedante teniendo en cuenta el trabajo desarrollado por investigadores de la EEAOC.

Con los cítricos también se presentan divergencias entre los distintos países. Nguyen & Fraser (1989) determinaron mediante pruebas de infestación en jaula, que los cultivares de lima “Bearss” y “Persian”, en realidad “Tahiti” de acuerdo a Hennessey *et al.* (1992), eran resistentes a la infestación de la mosca del caribe, *Anastrepha suspensa* (Loew) a pesar de que esta especie de mosca ataca otros 11 cultivares de citrus en Florida (Swanson & Baranowski, 1972).

Cultivares no hospedantes

Diferentes cultivares o híbridos de una misma especie pueden diferir en su estatus de hospedante, lo que puede ser aprovechado a los fines cuarentenarios. Un caso muy ilustrativo es el del cultivar de ananá “Smooth Cayenne”, el cual no es hospedante de la mosca del melón, *Bactrocera cucurbitae* y de la mosca oriental, *Bactrocera dorsalis*. Se evaluaron los híbridos desarrollados a partir de este cultivar en cuanto a su resistencia a la infestación y diferentes autores demostraron que los mismos también eran resistentes a las poblaciones de campo de las moscas en consideración. Basados en estudios de infestación de “Smooth Cayenne” y otros cuatro híbridos, el USDA determinó que todos los híbridos con un parentesco igual o mayor al 50% con el cultivar mencionado, eran resistentes a la infestación de ambas moscas y no requerían tratamiento cuarentenario (USDA, 1982), mientras que aquellos híbridos con un parentesco menor al 50%, requerían de pruebas para determinar su resistencia.

Estatus de hospedante: variación de acuerdo al estado de madurez

Algunos productos hospedantes de plagas cuarentenarias, no son infestados en estados tempranos de maduración, lo que indica que en determinados estados fenológicos del producto, el tratamiento cuarentenario puede ser evitado.

La banana es un hospedante de varias moscas de los frutos cuando está madura, pero Armstrong en 1983 y otros autores demostraron que esta fruta no es atacada por las moscas de los frutos en el estado de maduración verde. Esta resistencia estaría dada por los taninos que evitan la oviposición de las hembras o la exudación de latex en los sitios de oviposición. Japón y Australia permiten la importación de bananas verdes maduras sin tratamiento cuarentenario. Por otro lado, Estados Unidos requiere tratamientos cuarentenarios para la mosca del Mediterráneo y la mosca oriental, para permitir el ingreso de bananas verdes maduras de Hawái a pesar de que la banana en ese estado de madurez no es hospedante de estas dos especies de moscas.

La palta es considerada un buen hospedante de las moscas de los frutos, *C. capitata*, *B. dorsalis* y *B. cucurbitae*. Oi & Mau (1989) demostraron que frutos tardíos de palto Sharwil podían ser atacados por *C. capitata* y por *B. dorsalis* mediante infestaciones forzadas en el árbol. Armstrong (1983) concluyó en cambio que en Hawái esa variedad era resistente a ambas moscas y a *B. cucurbitae* también.

Posteriormente Armstrong (1991) corroboró dichas observaciones, las cuales fueron el punto de partida para desarrollar un protocolo de exportación de Hawái en el cual frutos de paltas Sharwil maduros verdes con pedúnculo, que eran transportados dentro de las 12 horas de cosechados a un empaque con malla antiinsectos, se podían exportar a los Estados Unidos sin un tratamiento cuarentenario. En 1992 el USDA registró intercepciones de moscas de los frutos en paltas de Hawái y se rescindió el protocolo, lo que puso en evidencia el peligro potencial en el uso de estos parámetros de resistencia parcial.

En relación con la palta variedad "Hass", Enkerlin *et al.* (1994) determinaron que bajo condiciones de laboratorio y utilizando una alta población de mosca de los frutos, era un buen hospedante de *Anastrepha ludens*, hospedante regular de *Anastrepha serpentina* y pobre hospedante de *Anastrepha striata*, así como también demostraron que la susceptibilidad del palto a infestaciones de mosca de los frutos se

incrementaba en proporción directa al tiempo que transcurre después de la cosecha del fruto. También establecieron que el palto "Hass" era resistente a infestaciones forzadas a campo utilizando una alta presión de las moscas *A. ludens*, *A. serpentina* y *A. striata*. Villagrán *et al.* (2003) realizaron ensayos para determinar la resistencia o la susceptibilidad al ataque de *C. capitata* en frutos de palto variedad "Hass" en épocas diferentes y en distintos estados de madurez en la provincia de Tucumán desde 1998 al 2002. Dicho trabajo cumplió con las cantidades requeridas por el análisis estadístico de seguridad cuarentenario Probit 9. En la actualidad se están realizando ensayos de resistencia del palto en la EEAO con *A. fraterculus*.

Aluja *et al.* (2004) determinaron que la variedad comercial Hass no debía ser considerada hospedante natural de *Anastrepha obliqua*, *A. ludens*, *A. striata* y *A. serpentina* en México. Esta afirmación fue el resultado de ensayos realizados tanto a campo como en laboratorio desde agosto de 2001 a junio de 2002 en seis plantaciones a tres diferentes alturas sobre el nivel del mar.

El USDA actualmente reconoce la variedad "Hass" como no hospedante de la mosca del Mediterráneo permitiendo que ingrese fruta de Guatemala y México.

Período libre de plaga

La exportación de frutos de carozo desde California a Nueva Zelanda, presentaba un inconveniente con respecto a la plaga, *Ragoletis completa* (Diptera: Tephritidae) porque algunos autores reportaron a los frutos de carozo como hospedantes de esta mosca. El estatus de tres frutos de carozo (duraznos, pelones y ciruelos) como hospedantes de la mosca del nogal, necesitaba de investigaciones adicionales para evaluar el riesgo de introducirla accidentalmente a N. Zelanda. Esta investigación se realizó con pruebas a campo y en laboratorio midiendo la capacidad de desarrollo de *R. completa* mediante infestaciones forzadas (Yokoyama *et al.*, 1993). Los resultados de estos ensayos demostraron que los duraznos y pelones eran pobres hospedantes, mientras que los ciruelos no eran hospedantes aceptables. Ante estos resultados, se trató de determinar si existía algún período libre de esta mosca, y llegaron a demostrar que la época libre de las moscas del nogal coincidía con la época de cosecha de estos frutos de carozo que se exportan a Nueva Zelanda y que éstos eran hospedantes normales de la plaga. Esto fue verificado mediante el trapeo de adultos en

las quintas de plantas de frutos de carozo y árboles periféricos del Valle de San Joaquín en California. Por lo tanto la determinación del período libre de la plaga y del estatus de hospedantes de los frutos de carozo, fueron elementos suficientes para dar seguridad cuarentenaria.

Determinación de la condición de hospedante

A nivel internacional, existen diferentes trabajos y lineamientos que describen los requerimientos generales y específicos para determinar el estatus de hospedante de frutos u hortalizas a diferentes especies de tefrítidos. Cowley *et al.* (1992), propusieron como metodología el desarrollo de ensayos de infestación forzada en laboratorio y ensayos complementarios a campo, que incluyen el trampeo de adultos, muestreo de frutos y ensayos de infestación (Fig. 1). Los lineamientos establecidos por la Regional Standards for Phytosanitary Measures (RSPM) N° 4 (2005) de la Asia and Pacific Plant Protection Commission (APPPC), incluyen pruebas de infestación en laboratorio con frutos heridos artificialmente y pruebas de infestación en laboratorio y campo con frutos sin heridas.

Follett y Neven (2006), establecieron que el nivel de confianza sobre el cual Cowley *et al.* (1992) basaron sus evaluaciones para establecer el estatus de no hospedante, fue de 22,1% con ningún sobreviviente en 30.000 individuos. Follett y Hennessey (2007), revisaron y discutieron los límites de confianza y el tamaño de las muestras para determinar la condición

de frutos y hortalizas como no hospedantes de tefrítidos como medida cuarentenaria. Ellos concluyeron que los “investigadores deberían realizar estudios de infestación bajo condiciones definidas y con un número suficiente de frutos e insectos para determinar convincentemente el estatus de hospedante de un producto” y además, que métodos cuantitativos deberían ser usados para establecer la eficacia que dará consistencia a los datos. También establecieron que los niveles de confianza estimados para un 99,99% o un nivel de 99,9968% (probit 9) de eficacia, deben ser calculados usando la ecuación suministrada por Couey and Chef (1996): $C = 1 - (1 - p)^n$ donde p es el nivel aceptado de sobrevivientes y n es el número de individuos tratados.

Determinación de la condición de hospedante para moscas de los frutos

Las moscas de la fruta (Diptera: Tephritidae), son las plagas más importantes en todo el mundo por su impacto directo en el fruto debido a la oviposición de la hembra y la alimentación de las larvas en el mismo. Esto genera que el producto pierda su capacidad de comercialización o requiera la aplicación de medidas fitosanitarias exigidas por los países para permitir el movimiento de la fruta.

Es por eso que un componente crítico cuando se evalúa el riesgo de introducción de una fruta en un país, o en una región, es la evaluación de la condición como “hospedante” a una especie en particular de mosca de la fruta (la NIMF 2, establece el marco para el análisis de riesgo de plagas y la NIMF 11 para el análisis de riesgo de plagas para plagas cuarentenarias).

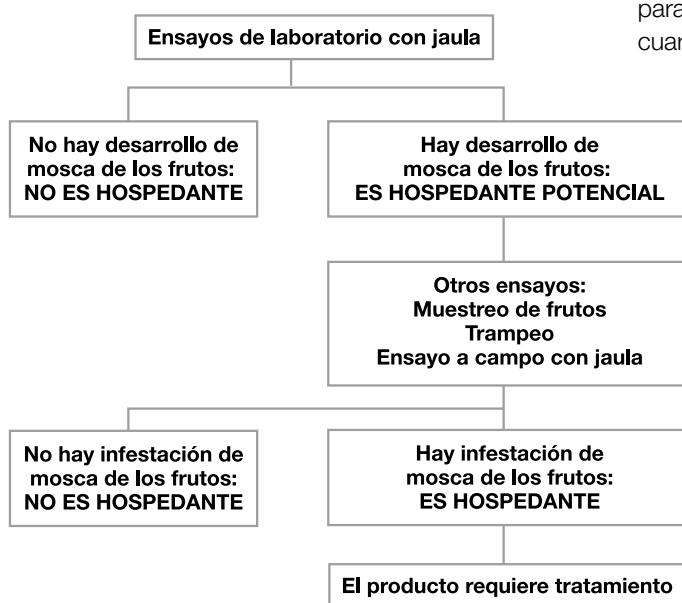


Figura 1. Esquema de la metodología propuesta por Cowley *et al.* (1982) para especies de mosca multivoltinas.

Los intentos para definir el estado de la planta como “hospedante” han sido muy discutidos debido, en parte, a que se ha dedicado poco esfuerzo en entender los mecanismos implicados en la relación planta-elección mosca de los frutos y han prevalecido los intereses económicos y políticos (Aluja and Mangan, 2007). Para Aluja and Mangan (2007), existe una complejidad de factores que deben ser analizados a la hora de determinar la condición de hospedante de una fruta, vegetal o cultivar. Entre ellos los más importantes son: factores evolutivos, biológico, ecológicos, fisiológicos y comportamentales que llevan a una especie de mosca a usar un determinado “hospedante”.

Por eso es necesario contar con un marco (conceptual y metodológico) sólido y claro que ayude a los científicos, agentes y funcionarios fitosanitarios, políticos y demás partes interesadas a resolver las disputas y fundamentalmente a proveer de mecanismos claros para la determinación de la condición de “hospedante”.

Aprobada en abril de 2016, recientemente se publicó la NIMF 37: “Determinación de la condición de una fruta como hospedante de moscas de la fruta (Tephritidae)”. La normativa describe tres (3) categorías para la condición de hospedante. También describe la metodología a emplear. Y se considera fruta a aquella fruta en sentido botánico, incluidas aquellas que en ocasiones se consideran hortalizas como el tomate y el melón.

Según la NIMF 37:

Condición de hospedante: es la clasificación de una especie o variedad de planta como hospedante natural, hospedante condicional o no hospedante de una especie de mosca de la fruta.

Hospedante natural: especie o cultivar de planta que se ha demostrado científicamente que en condiciones naturales se encuentra infestada por la especie objetivo de mosca de la fruta y es capaz de sostener su desarrollo hasta que se convierta en adulto viable.

Hospedante condicional: especie o cultivar de planta que no es un hospedante natural pero que se ha demostrado científicamente que se encuentra infestada por la especie objetivo de mosca de la fruta y es capaz de sostener su desarrollo hasta que se convierta en adulto viable según se concluye de las condiciones seminaturales sobre el terreno establecidas por la NIMF 37.

No hospedante: especie o cultivar de planta que no se ha demostrado científicamente que se encuentre infestada por la especie objetivo de mosca de la fruta o que no es capaz de sostener su desarrollo hasta que se convierte en adulto viable en condiciones naturales o seminaturales sobre el terreno establecidas en la normativa.

Etapas para determinar la condición de hospedante

Para determinar en cuál de las tres categorías de condición de hospedante (natural, condicional y no hospedante) se debe considerar las siguientes medidas (ver Fig. 2):

A. Si la información biológica o histórica disponible ofrece pruebas suficientes de que la fruta no sostiene la infestación ni el desarrollo de adultos viables, no se requiere nuevos estudios o ensayos y la planta se clasifica como no hospedante.

B. Si la información biológica o histórica disponible ofrece pruebas suficientes de que la fruta sostiene la infestación y el desarrollo de adultos viables, no se requiere nuevos estudios o ensayos y la planta se clasifica en hospedante natural.

C. Si la información biológica o histórica disponible es poco concluyente deberá realizarse vigilancia adecuada sobre terreno mediante muestreo de frutas o ensayos a campo y eso dará lugar a:

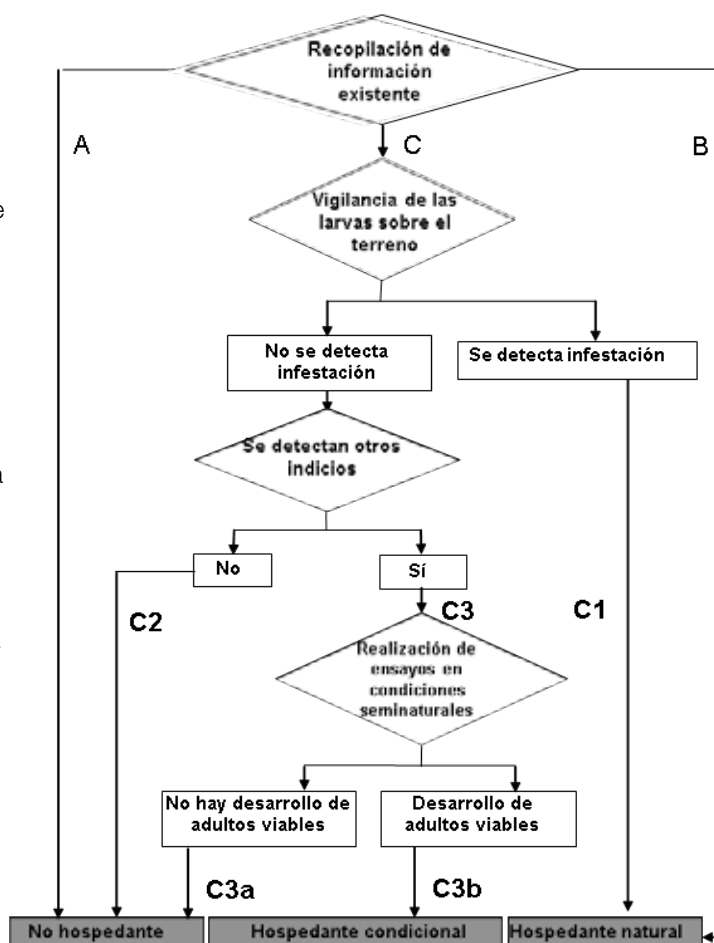


Figura 2. Esquema para determinación estatus hospedante según NIMF 37, 2016.

C1. Si la vigilancia mediante muestreo detecta infestación con desarrollo de adultos viables, la planta es hospedante natural.

C2. Si la vigilancia mediante muestreo no detecta infestación con desarrollo de adultos viables u otro indicio de infestación en la condición de la comercialización de la fruta, la planta es un no hospedante.

C3. Si la vigilancia mediante el muestreo no detecta infestación pero hay información biológica o histórica de que la fruta puede resultar infestada, se requiere de ensayos en terreno en condiciones seminaturales:

C3a. Si la especie objetivo de mosca no desarrolla adultos viables, la planta es no hospedante.

C3b. Si la especie objetivo de la mosca desarrolla adultos viables, la planta es un hospedante condicional.

Requisitos para determinación de la condición de hospedante

- Identificación exacta de la especie de mosca de la fruta, de la fruta sometida a ensayo y de la fruta empleada como control procedente de un hospedante natural
- Especificación de los parámetros para vigilancia de adultos y larvas y el diseño experimental a emplear en los ensayos en terreno (por ejemplo: empleo de jaulas a campo o ramas con frutos envueltas en bolsa o voile)
- Observación de la supervivencia de las moscas de la fruta en cada etapa de desarrollo
- Establecimiento de procedimientos de mantenimiento y de manipulación de la fruta
- Evaluación de los datos experimentales e interpretación de los resultados

Elementos necesarios para la planificación de ensayos

- Identificación de la especie de planta y de mosca de los frutos
- Variabilidad física y fisiológica de la fruta en el área de producción
- Utilización de productos químicos en el área de

producción de la fruta

- Incidencia de la mosca en el área de producción en período de cosecha y exportación
- Inclusión de bibliografía pertinente
- Origen y estado de la cría de mosca
- Especie del hospedante natural a utilizar como control
- Realización de ensayos independientes para cada cultivar si existen indicios de que la diferencia de cultivares es la fuente de variabilidad en la propensión del hospedante a ser infestado
- Realización de ensayos en las áreas de producción
- Buenas prácticas estadísticas

Vigilancia mediante muestreo de frutas

El muestreo de fruta es el método más fiable para conocer la condición de hospedante natural. Las muestras deben ser representativas de toda la gama de áreas de producción, de condiciones ambientales, de etapas fisiológicas y físicas.

Ensayos en terreno bajo condiciones seminaturales

Los ensayos se realizarán cuando se ha determinado que la fruta no es un hospedante natural. Si el resultado es la obtención de adultos viables, la fruta es un hospedante condicional.

Muestreo de frutas

Se debe muestrear fruta sospechosa de estar infestada y respetando principios de aleatoriedad y otros factores requeridos para el posterior análisis estadístico.

Se debe tener en cuenta el período de tiempo, el número de repeticiones por temporada de cultivo y el número de réplicas del ensayo se debe realizar en el área de producción. También se debe dar cuenta de condiciones de cosecha temprana o tardía así como peso de frutas.

Moscas de la fruta

Respecto de la mosca a emplear en los ensayos, se debe tener en cuenta:

- Conocer la especie y conservar especímenes de colección
- Utilizar poblaciones silvestres para el ensayo o bien usar colonia que no supere las cinco generaciones
- Se debe conocer el período de preoviposición, oviposición y apareamiento y conocer edad de las moscas tanto de hembras y machos
- El número de hembras necesarias se debe determinar en función del tamaño de la fruta, fecundidad de la hembra
- El tiempo de exposición de la fruta debe basarse en el comportamiento de oviposición de la mosca
- Se debe registrar número de moscas muertas en los ensayos

Fruta

Respecto de la fruta a emplear en los ensayos, se debe tener en cuenta:

- La fruta debe pertenecer a la misma especie y cultivar que la fruta a despachar
- Estar exenta de plaguicidas nocivos para la mosca, cebos y suciedades
- No presentar daño mecánico o natural
- Cumplir con la calidad comercial (color, tamaño y condición fisiológica)
- Presentar madurez adecuada y específica (ej: según peso seco o contenido de azúcar)

Controles

Se debe emplear fruta que sea un hospedante natural de la mosca de la fruta, pudiendo ser una especie o género diferente de la especie fruto objetivo y estar libre de infestación previa.

Las moscas de la fruta utilizadas en los controles deben proceder de la misma población y generación.

Diseño de ensayo

Los tipos de ensayos deben emplear jaulas de campo, invernadero o ramas con fruta en vueltas en voile. Las jaulas de campo pueden ser grandes para

introducir en ellas plantas enteras o bien pueden ser bolsas que encierran parte de la planta en la que se encuentra la fruta. También se puede emplear plantas que se cultivan en invernaderos o en macetas que se introducen en el invernadero. Los requisitos mínimos necesarios para asegurar que el ensayo presenta las condiciones adecuadas para la mosca, sobre todo respecto a la oviposición, son:

- Jaulas de campo e invernadero de tamaño adecuado, con flujo de aire adecuado
- Proporcionar agua y alimento suficiente a los adultos de la mosca
- Buenas condiciones ambientales y registro de las mismas
- Evitar presencia en las jaulas de depredadores y proteger la fruta de pájaros
- Los controles no deben estar en las mismas ramas de la fruta objeto del ensayo
- Las plantas donde se realizan los ensayos deben estar excluidas de interferencia de productos químicos
- Se debe vigilar y registrar la mortalidad de moscas, pudiendo ser reemplazadas las mismas por nuevas moscas de la misma población y generación
- Al concluir el tiempo de exposición, la fruta debe retirarse de la planta y pesarse
- Previo al ensayo y en base a referencias científicas, deberá determinarse el tamaño de la muestra para alcanzar el nivel de confianza requerido

Manipulación de la fruta

La fruta colectada por vigilancia mediante muestreo (punto VI), la procedente de ensayos (incluido el control), deberá conservarse hasta que se complete el desarrollo de larvas. Dicha fruta debe almacenarse en contenedores a prueba de insectos y en condiciones adecuadas para garantizar la supervivencia de pupas también y posterior recolección de adultos.

De producirse desarrollo, deben registrarse fecha y número de larvas y pupas, peso de pupas, fecha y número de adultos emergidos y adultos anormales. Se recomienda también, diseccionar la fruta antes de desecharla al concluir su almacenamiento.

Análisis de datos

Los datos obtenidos servirán para análisis cualitativo: nivel de infestación (ej: número de larvas por fruta); período de desarrollo de distintos estados de la mosca y porcentaje de emergencia de adultos.

Los registros deben estar a disposición de las autoridades correspondientes así como ser sometidos a revisión externa.

Propuesta de Aluja y Mangan (2008)

Aluja and Mangan (2007) proponen un flujo con los pasos para determinar la condición del hospedante que pudieran ayudar en la toma de decisiones (Figura 3).

Definiciones

Hospedante natural: fruta que es infestada en condiciones de campo.

No hospedante natural: fruta que nunca ha sido

infestada en condiciones de campo pero que hay evidencia que podría ser infestado y obtener adultos bajo condiciones de manipulación artificial (laboratorio).

Rango de hospedante: rango de plantas donde es posible el desarrollo de la mosca. En este caso, existirán influencias de adaptaciones fisiológicas y morfológicas que permitirán que las larvas utilicen los nutrientes (Fit, 1986).

Según van Klinken (2000), los insectos usan una parte muy limitada de aquellas plantas que son capaces de emplear.

Para Nechols *et al.* (1992), el rango de hospedantes está definido genéticamente pero se ve influenciado por factores físicos (ej.: barreras geográficas) y factores biológicos (ej.: predación). Por ejemplo, en el caso de una especie de mosca univoltina en la que no hay coincidencia entre la emergencia del adulto y la disposición de fruta en la planta, es apropiado que la larva se alimente de otro hospedante. Este es un ejemplo de una situación que ofrece seguridad cuarentenaria.

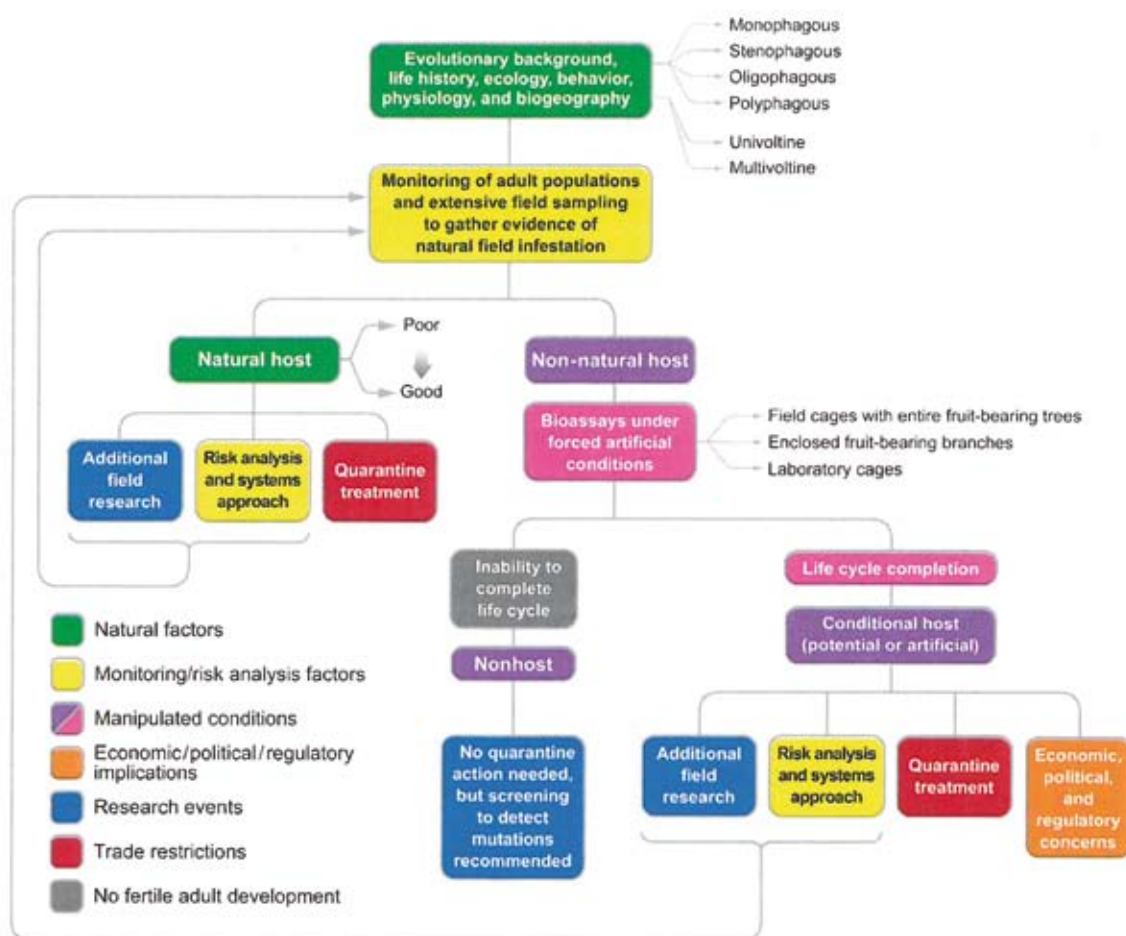


Figura 3. Esquema para determinación estatus hospedante según Aluja y Mangan, 2008.

A.- Una vez que hay seguridad que la fruta o vegetal es infestado naturalmente a campo, se deben seguir una serie de pasos. Tanto el hospedante natural como el hospedante no natural, tienen dicotomías. Así mismo, ambos tipos de hospedante tiene opciones que incluyen investigaciones adicionales, tratamiento cuarentenarios, análisis de riesgo y sistema de mitigación.

Investigaciones adicionales podrían incluir estudios sobre volátiles del cultivar infestado en el campo. Tratamientos cuarentenarios podrían ser tratamientos postcosecha (dependiendo de las circunstancias particulares y de las partes involucradas en la comercialización). El análisis de riesgo es un proceso que incluye: inicio con la determinación de que la plaga es una amenaza potencial; etapas de evaluación de la probabilidad de establecimiento de la plaga y manejo del riesgo ya sea por eliminación o reducción de la plaga. Por último, de acuerdo a los resultados del análisis de riesgo, se determina la posibilidad de implementar un sistema de mitigación de riesgo.

B.- Si hay suficiente certeza que una fruta o vegetal no es infestado naturalmente en el campo, se requiere una serie de pruebas para conocer si la hembra grávida, responderá a los volátiles y depositará los huevos en una determinada planta. También será necesaria una serie de ensayos para determinar si la fruta en cuestión sustenta el desarrollo de la mosca de la fruta y alcanza adultos viables. Cabe remarcar que para Aluja and Mangan

(2007), ensayos en condiciones no naturales pueden distorsionar los resultados dando falsos negativos. Por ejemplo, larvas que se desarrollan en “pobres hospedantes”, serán removidas tempranamente, con lo que no alcanzarán al estado de pupa y por lo tanto de adulto.

Los ensayos adicionales para forzar la oviposición son: a) jaulas grandes a campo que encierran toda la planta o en invernadero; b) ramas con frutos encerrados en una jaula de voile y c) cajas que contiene frutos cosechados (esta última opción corresponde a ensayo en laboratorio aunque cabe la opción de llevar la caja al campo).

Una vez concluido los ensayos de oviposición, si no hay desarrollo de la mosca objetivo de estudio, el producto es un “no hospedante”. En este caso, se recomienda, cada 15 o 20 años, detectar posible mutación en la población de la mosca que lleven a ciertos individuos a desarrollarse en una fruta o vegetal (o cultivar).

Si por el contrario, hay desarrollo de la mosca, el fruto es considerado “hospedante potencial” (condicional o artificial). En este caso hay cuatro posibles rutas a seguir: a) investigaciones adicionales; b) análisis de riesgo; b) desarrollo de tratamientos cuarentenarios y d) consideración del impacto económico y político de la posible introducción del producto si hay oposición de importador pero garantías basada en fundamentos científicos.

Bibliografía recomendada

Aluja, M. J., F. Díaz-Fleischer & J. Arredondo. 2004. Nonhost status of commercial *Persea americana* “Hass” to *Anastrepha ludens*, *Anastrepha obliqua*, *Anastrepha serpentina*, and *Anastrepha striata* (Diptera: Tephritidae) in México. J. Econ. Entomol. 97 (2): 293-309.

Aluja, M. and R. L. Mangan. 2008. Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: critical conceptual, methodological, and regulatory considerations. Annual Review of Entomology 53: 473-502.

Armstrong, J.W., W.C. Mitchell & G.J. Farias. 1983. Resistance

of “Sharwil” avocados at harvest maturity to infestation by three fruit fly species in Hawaii. J. Econ. Entomol. 76:119-121.

Armstrong, J.W., E.L. Schneider, D.L. Garcia & H.M. Couey. 1984. Methyl bromide quarantine fumigation for strawberries infested with Mediterranean fruit fly (Diptera:Tephritidae). J. Econ. Entomol. 77:680-682.

Armstrong, J. W. 1986. Pest organism response to potencial quarantine treatments. Proceedings, 1985 ASEAN PLANTI Regional Conference on Quarantine Support

for Agricultural Development. ASEAN Plant Quarantine Center and Training Institute, Serdang, Selangor, Malaysia. 1: 25-30.

Armstrong, J. W. 1991. “Sharwil” avocado: Quarantine security against fruit fly infestation in Hawaii. J. Econ. Entomol. 84: 1308-1315.

Asia and Pacific Plant Protection Commission (APPPC). 2005. Guidelines for the confirmation of non-host status of fruit and vegetables to tephritid fruit flies. Regional Standards for Phytosanitary Measures, N° 4, APPPC, Food and Agriculture Organization of the United Nations

Regional Office for Asia and the Pacific, Bangkok.

Back, E. A. & C. E. Pemberton. 1915. Suceptibility of citrus fruits to the attack of the Mediterranean fruit fly. J. Agric. Res. 3 (4): 311-330.

Bass, J. 1959. The Mediterranean fruit fly in Central Europe. Part 2. Hoefchen-Birefe Bayer Pflanzenschutz-Nachrichten 3: 113-140.

Bohm, H. 1958. Zum Vorkommen der Mittelmeerfruchtfliege im Weiner Obstbaubeit. Pflanzenschutzberichte 21: 129-158.

CIPF. 2016. NIMF 37: Determinación de la condición de una fruta como hospedante de moscas de la fruta (Tephritidae).

Couey, H.M. 1983. Development of quarantine Systems for host fruits of the Medfly. J. Hortic. Sci. 18:45-47.

Couey, H. M. & V. Chew. 1986. Confidence limits and sample in quarantine research. J. Econ. Entomol. 79: 887-890.

Cowley, J. M.; R. T. Backer & D. S. Harte. 1992. Definition and determination of host status for multivoltine fruit fly (Diptera: Tephritidae) species. J. Econ. Entomol. 85 (2): 312-317.

Enkerlin H. W., J. Reyes F., A. Bernabé, J. L. Sánchez P. & J. Toledo A. 1994. Estatus del aguacate Hass como hospedante de tres especies de Moscas de la Fruta del género *Anastrepha*, (Diptera: Tephritidae), bajo condiciones forzadas en laboratorio y campo y bajo condiciones naturales en campo. Campaña Nacional contra las Moscas de la Fruta. Dirección General de Sanidad Vegetal. SARH. 48 p.

Fihlo, J. A. A., M. F. S. Filo & A. Raga. 2000. *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) infestation in stawberries in the state of Sao Paulo, Brazil. International Congress of Entomology. Abstracts, II: 998.

Follett, P. A. and L. G. Neven. 2006. Current Trends in Quarantine Entomology. Annual Review of

Entomology 51: 359-385.

Follett, P. A. & M. K. Hennessey. 2007. Confidence limits and sample size determining nonhost status of fruits and vegetables to tephritid fruit flies as a quarantine measure. J. Econ. Entomol. 100 (2): 251-257.

Greany, P. D.; S. C. Styer; P. L. Davis; P. E. Shaw & D. L. Chambers. 1983. Biochemical resistance of citrus to fruit flies. Demonstration and elucidation of resistance to the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. Ent. Exp. & Appl. 34: 40-50.

Hennessey, M. K. , R. M. Baranowski & J. L. Sharp. 1992. Absence of natural infestation of Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae) from commercial Florida "Tahiti" lime fruits. J. Econ. Entomol. 85: 1843-1845.

Kahn, R. P. 1989. "Plant Protection and Quarantine", in Biological Concepts, Vol. 1. Boca Raton, Florida: CRC Press.

Kobayashi, R. & M. Fujimoto. 1975. U. S. Department of agriculture, Agric. Res. Serv. Lab., semiannual report, June-Dec., 1975. Honolulu, Hawaii.

Lima, A. da Costa. 1934. Moscas de frutas do genero *Anastrepha Schiner*, 1868 (Diptera: Trypetidae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz 28: 487-575.

Liquido, N. J., L. A. Sonda & R. T. Cunningham. 1991. Host plants of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae): An annotated world review. Monographs Entomological Soc. America, Misc. Pub. 77.

Nguyen, R. & S. Fraser. 1989. Lack of suitability of commercial limes and lemons as host of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). Fla. Entomologist. 72: 718-720.

Oakley, R. G. 1950. "Fruit Flies (Tephritidae)", in Manual of Foreign Plant Pest for Fruit Flies, Vol. 3. Pp. 168-248. U. S. Department of Agriculture, Bureau of Entomology and Plant Quarantine, División Foreign Plant Quarantine.

Oi, D. H. & R. F. L. Mau. 1989. Relationship of fruit ripeness to infection in "Sharwil" avocados by the Mediterranean fruit fly and the oriental fruit fly. J. Econ. Entomol. 70: 611-614.

Salvatore, A. R. 2003. Desarrollo de *Ceratitis capitata* (Weidemann) (Diptera) en limones en la provincia de Tucumán. Tesis de Magíster en Agronomía. FAZ. UNT.

Spitler, G. H. & J. W. Armstrong. 1984. Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status of commercial de lemon. J. Econ. Entomol. 77: 1441-1444.

Sproul, A. N. 1976. Green lemons safe from fruit fly. J. Agr. Western Australia. 17: 32.

Splitter, G. H. , J. W. Armstrong & H. M. Couey. 1984. Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): host status of commercial lemon. J. Econ. Entomol. 77: 1441-1444.

Swanson, R. W. & R. M. Baranowski. 1972. Host range and infestation by the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae), in south Florida. Proceedings, Fla. State Hortic. 85: 271-274.

Thiem, H. 1937. Die Mittelmeerfruchtfliege. Flugblatt N° 151: 1-6.

USDA. 1930. USDA Mediterranean Fruti Fly Project Report of the Biological Research Division. April 1929 to Feb. 1930. Cage Experiments, Orlando, Florida.

USDA. 1982. Hawaiian fruits and vegetables, M318.13. Plant Protection and Quarantine Programs Port of Entry manual. Animal and Plant Health Inspection Service, Hyattsville, Maryland.

USDA. 1983. Host list: Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann). Biological Assessment Support Staff, Plan Protection and Quarantine, Animal and Plant Health Inspection Service, Hyattsville, Maryland

Villagrán, M. E & E. Willink. 2003. Resistencia de la palta cv. Hass al ataque de *Ceratitis capitata*. Avance Agroindustrial 24 (2): 31-33.

Wester, P. J. 1920. The mango. Philippine Bureau Agr. Bul. 18.

Willink, E.; G. Gastaminza; L. Augier; B. Stein; M. E. Gatti

and N. Larrea. 2007. Risk for introducing *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitis capitata* in lemons from Northwestern Argentina. Fruit flies and its quarantine relevance in the citriculture of Northwestern Argentina. Eleven years of research 1996-2007. Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombes, Available in <http://www.eeaoc.org.ar/publicaciones/>

categoria/18/Libros.html , Tucumán, Argentina.

Yokoyama, V. Y. & G.T. Miller. 1992. Pest-Free Period for walnut husk fly (Diptera: Tephritidae) and host status of stone fruits for export to New Zealand. J. Econ. Entomol. 86: (6) 1766-1772.

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

A6

Técnica del insecto estéril

María Teresa Vera

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



I. La Técnica del Insecto Estéril

Cuando un área tiene presente una plaga, la única alternativa para que se la considere área libre es alcanzando dicho status a través de un programa de erradicación. Este tipo de programas deben contar con el apoyo del gobierno local, nacional, de los productores y del público en general. Las tareas de control deben encararse a nivel regional alcanzando todas las zonas que pueda utilizar la plaga como refugio es decir zonas con hospederos alternativos, áreas urbanas, etc. y no se deben llevar a cabo solamente en el área del cultivo. Este tipo de aproximación se conoce como de grandes áreas o en el término en inglés area-wide e involucra un esquema de manejo integrado de la plaga donde se emplean distintas medidas de control, incluyendo el control químico. Sin embargo, el incremento en la demanda de fruta libre de insecticidas (Hendrichs *et al.* 1995), así como el creciente número de especies resistentes a los mismos (Crampton 1993), han llevado a la necesidad de implementar otras medidas más específicas y/o amigables con el ambiente como ser el control biológico o el control genético (Ridgway *et al.* 1993). Dentro de este último, se encuentra el control autocida o técnica del insecto estéril (TIE).

La TIE fue propuesta por primera vez por Knippling (1955) para el manejo del gusano barrenador, *Cochliomya homnivorax* (Coquerel), una importante plaga del ganado en EEUU durante las décadas del 30-50. Esta técnica se basa en la capacidad de criar, esterilizar y liberar insectos, sexualmente competitivos con los individuos silvestres, de manera tal que aquellas hembras silvestres que se apareen solamente con un macho estéril no producirán descendencia. Liberando un número suficiente de insectos estériles en la naturaleza durante un período que cubra varias generaciones, el éxito reproductivo de la población silvestre se ve reducido en forma progresiva y finalmente llega a cero. De esta forma es posible lograr la eliminación de la plaga en dicha región. Para alcanzar la erradicación, toda la población plaga debe ser atacada. Si se comienza en determinadas áreas, es necesario entonces garantizar que las vías de reinfestación estén controladas ya sea a través de puestos de cuarentena en los puntos de entrada de productos con plaga o a través de la liberación de machos estériles en las zonas adyacentes (áreas buffer) para crear una barrera más ancha que el rango de vuelo del insecto.

Características de la TIE

El uso con éxito de esta técnica para la erradicación

de una plaga requiere el cumplimiento de varios aspectos (Gillmore 1986, Dycks *et al.* 2005). En primer lugar el área donde se intenta erradicar debe cumplir con ciertas características ecológicas que permitan que este objetivo sea viable. Luego, en lo que respecta a la técnica en sí, se debe garantizar la provisión adecuada de insectos estériles y que los mismos sean de calidad. La provisión de insectos se logra desarrollando protocolos para establecer insectarios de cría masiva. Esto implica lograr criar individuos a un bajo costo en cantidades lo suficientemente grandes como para cubrir las demandas de las zonas de liberación. El paso siguiente es lograr establecer la metodología de esterilización.

Proceso de esterilización

La esterilidad sexual puede ser inducida en la especie plaga ya sea por medios químicos (agentes quelantes, antimetabolitos) o físicos (radiaciones ionizantes con rayos X o gamma, o con neutrones). Hasta el momento no se encontraron esterilizantes químicos que no presenten al menos un cierto riesgo para los operarios de los insectarios. Existe sin embargo, la propuesta del uso de ciertos reguladores del crecimiento que aplicados en la naturaleza junto a cebos específicos para la especie podrían esterilizar a los individuos silvestres (Casana-Giner 1999, Navarro-Loppis *et al.* 2004, 2006). Sin embargo, esta práctica debe ser previamente evaluada en cada sitio ya que puede conllevar el riesgo de disminuir niveles poblacionales de otras especies no plaga si los cebos no son altamente específicos. Como consecuencia, en la actualidad la esterilidad es alcanzada utilizando la radiación emitida por radioisótopos como el Cesio-137 o el Cobalto-60 y se está promoviendo el uso de los rayos X (Bakri *et al.* 2005, Mastrangelo *et al.* 2010).

La esterilidad inducida a través de la exposición a rayos gamma dañan los cromosomas del esperma ya que produce rupturas en los mismos. Cuando los huevos de las hembras silvestres son fecundados con esperma de machos irradiados, la división celular se imposibilita y el embrión muere. Esto sucede generalmente al inicio del proceso de embriogénesis y como consecuencia, no se completa el desarrollo embrionario. Cuando el embrión logra desarrollar y eclosiona la larva, es muy probable que muera durante los estadios inmaduros o que produzca un adulto estéril. Todo esto depende de la dosis con que se irradió previamente. Es por ello que, si bien debe esterilizar al individuo, debe minimizar también cualquier efecto adverso sobre la longevidad, el

comportamiento de búsqueda, tanto de alimento como de pareja, y sobre la capacidad de aparearse.

Líneas de sexado genético

Existen casos donde la TIE no se puede aplicar porque la liberación de hembras, aún estériles, causa un importante daño. Esto sucede, por ejemplo, en mosquitos donde la hembra conserva la capacidad de picar y transmitir enfermedades y también, aunque ocasionando un menor daño, en moscas de la fruta donde la hembra estéril mantiene el comportamiento de oviposición y por tanto, al insertar el ovipositor permite el ingreso de patógenos en la fruta y disminuye su calidad. Es así como se propuso el uso de líneas de laboratorio que permitan separar los sexos en forma efectiva a grandes escalas, obteniéndose lo que se denomina líneas de sexado genético (LSG). El desarrollo de una LSG fue propuesto por Whitten (1969). Básicamente una LSG consiste en una cepa que tiene una porción de un cromosoma autosómico traslocado con el cromosoma sexual Y (cromosoma del macho). Dicha porción del cromosoma lleva un gen portador de una mutación recesiva para un carácter de fácil reconocimiento a nivel masivo. El cromosoma traslocado lleva el gen no mutado mientras que el cromosoma normal lleva el gen mutado. Esto permite que la hembra siempre sea homocigota recesiva para dicha mutación y el macho heterocigota, y por lo tanto no muestre dicho carácter. Un ejemplo de LSG que se utiliza con mucho éxito es el de las cepas *ts1* en la mosca de la fruta del Mediterráneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann). En este caso, las hembras llevan un gen letal termo-sensible y mueren cuando son expuestas a temperaturas mayores a 28 °C. Los machos al ser heterocigotas no mueren. De esta forma durante el proceso de cría masiva es posible eliminar todas las hembras mientras se incuban los huevos previo al sembrado en la dieta larvaria. Esto tiene la gran ventaja de producir, y en consecuencia liberar, solamente machos y de reducir sustancialmente los costos de cría al no tener que considerar la dieta de las larvas que originarían hembras.

Hacia una TIE más efectiva

El éxito de la TIE radica en la capacidad de los machos liberados de desencadenar en la hembra una respuesta similar a la desencadenada a partir de la cópula con un macho de la naturaleza. Esto implica reducir su receptividad sexual y evitar, en consecuencia que se aparee nuevamente y desencadenar, eventualmente, el comportamiento

de oviposición. Para lograr esto los machos deben ser capaces de sobrevivir en el campo hasta alcanzar la madurez sexual, desplegar todos los comportamientos del cortejo y lograr aparearse con las hembras silvestres, lo que comúnmente se denomina, ser competitivos. Una forma de aumentar la eficiencia es logrando una relación estéril:fértil óptima, ya que al aumentar la cantidad de machos estériles que se liberan, se puede lograr que la gran mayoría de las cópulas involucren machos estériles. Estudios recientes analizan el impacto del tipo de cortejo que realizan los machos en la relación estéril:fértil óptima en campo (Shelly & McInnis 2016). Es necesario para llegar a una relación estéril:fértil operativa, reducir significativamente la población silvestre con otras medidas de control previo a la liberación de machos estériles. Es así que al inicio de los programas de erradicación con TIE se contemplen una o dos campañas con el uso de otra medida de control para bajar los niveles poblacionales como, por ejemplo, el control químico. Asimismo, en los últimos años se trabajó mucho en el uso de sustancias que potencien la competitividad de los machos (Shelly *et al.* 2007) o en proveer a los machos estériles, previo a su liberación, un alimento rico en proteínas que les permita tener una ventaja competitiva (Pereira *et al.* 2013). En las especies con largo tiempo de maduración sexual, se le puede sumar el uso de aceleradores de la maduración sexual incrementando entonces el rendimiento de los insectos liberados.

Uso de la TIE en moscas de la fruta de la familia Tephritidae

En vistas del éxito de la aplicación de la TIE para el control del gusano barrenador, se evaluó su posible aplicación en otros insectos. Dentro de la familia Tephritidae, los candidatos a experimentar fueron *Ceratitis capitata*; la mosca oriental de la fruta, *Bactrocera dorsalis* (Hendel); la mosca del melón, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett); la mosca del olivo, *Bactrocera oleae* (Gmelin) y la mosca de la fruta de Queensland, *Bactrocera tryoni* (Froggatt). Si bien algunas especies quedaron en la etapa de investigación, esta técnica tuvo mucho éxito y cuenta con varios casos donde se logró la erradicación con éxito de la plaga como ser Japón, Chile y Patagonia (Kuba *et al.* 1996, Enkerlin 2005, Rial *et al.* 2006). Para el caso de *C. capitata* ya en 1959 se realizaron estudios a campo cubriendo un área de 31 km². Actualmente el uso en esta especie es generalizado y varios países, incluyendo Argentina, cuentan con biofábricas para la producción de machos estériles de *C. capitata*, llegando en el caso de Guatemala a niveles de 2.000 millones de machos semanales

(Bioplanta El Pino). Además del uso de la TIE en *C. capitata*, existen antecedentes de su uso en los géneros *Bactrocera* y *Anastrepha*. Con respecto al género *Anastrepha*, en la actualidad se la emplea en el control de la mosca Mejicana de la fruta, *Anastrepha ludens* (Loew) en Méjico y en las regiones de California y del valle del río Grande, Texas, EEUU. Las liberaciones se realizan para mantener dichas zonas libres de la plaga. Asimismo el programa Moscamed-Moscafrut de Méjico, posee un insectario para la cría masiva y liberación de individuos estériles de la mosca de las Indias Occidentales o mosca de las ciruelas, *Anastrepha obliqua* (Macquart).

II. Las moscas de la fruta en la Argentina

En Argentina se encuentran presentes dos especies de moscas que se consideran importantes plaga de frutales, *Anastrepha fraterculus* y *Ceratitis capitata*. La primera, llamada mosca sudamericana de la fruta es originaria de este continente, mientras que la mosca de la fruta del Mediterráneo, es originaria de África y fue introducida a principios del siglo XX (Vergani 1952). El impacto económico que producen estas especies por daño directo se estima entre el 15 y 20% de la producción frutícola (Alvarado & Ritacco 1990). El Programa Nacional de Control y Erradicación de Moscas de los Frutos (PROCEN) dependiente del Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, (SENASA) presenta actualmente distintos subprogramas en distintas regiones del país tendientes al control de estas especies plaga (Guillen & Sánchez 2007). En una etapa inicial se comenzó con la implementación de medidas de control y erradicación en zonas donde *C. capitata* es la única especie presente y con características ecológicas favorables para la erradicación de la plaga. Las acciones de control se basan en el uso de la TIE y en el establecimiento de barreras de inspección que impidan el reingreso de la misma a través del comercio de fruta con zonas infestadas (Aruani *et al.* 1996, De Longo *et al.* 2000, Sanchez *et al.* 2001). Para *A. fraterculus*, se cuenta con el control químico como única alternativa. Esta medida es incompatible con el uso de la TIE para *C. capitata* ya que los cebos no son específicos para una determinada especie y se corre el riesgo de matar a los insectos estériles que se liberan. Es por ello que se promueve el desarrollo y uso de la TIE para el control de *A. fraterculus* (Ortiz 1999).

III. Desarrollo de la TIE en *Anastrepha fraterculus*

El desarrollo de la TIE en una nueva especie requiere

de sólidos conocimientos de la biología de la misma, así como de la posibilidad de criarla en grandes escalas, esterilizar a los individuos y lograr que sean competitivos. Actualmente los conocimientos sobre la biología de *A. fraterculus* son escasos en comparación a los conocimientos sobre la biología de *C. capitata*, especie de amplia distribución y de importancia sanitaria en muchos países del mundo. Es por ello que en los últimos años tanto a nivel mundial como en Argentina se priorizó el estudio de *A. fraterculus*, en especial en lo que refiere al desarrollo de la TIE (Cladera *et al.* 2014, Hendrichs *et al.* 2015).

Biología de *Anastrepha fraterculus*

La mosca Sudamericana de la fruta está presente en casi todo el continente americano incluyendo Argentina (Salles 1995, Steck 1998). Las hembras depositan sus huevos en más de 100 especies frutales (Norrbon & Kim 1988, Norrbom 2004), por lo que es considerada una plaga de alta importancia económica (Steck 1998). Esta especie presenta una importante variación morfológica entre poblaciones, discontinuidades genéticas, diferencias cariotípicas, en la composición química de los hidrocarburos de cutícula y de los volátiles emitidos por los machos y en el comportamiento reproductivo por lo que se postuló que la misma correspondería a un complejo de especies crípticas. (ver Steck 1998 para una revisión y posteriormente Hernández-Ortiz *et al.* 2004, 2012, Smith-Caldas *et al.* 2001, Selivon *et al.* 2005). Asimismo presenta barreras reproductivas entre determinadas poblaciones (Selivon *et al.*, 1997, 1999, 2005, Vera *et al.*, 2006, Rull *et al.* 2012, 2013, Devescovi *et al.* 2014). A fines de brindar un estudio multidisciplinario entre 2010 y 2015 se llevó a cabo un proyecto de investigación que involucró distintos países y distintos enfoques (Hendrichs *et al.* 2015). Los resultados obtenidos permitieron proponer la presencia de al menos ocho especies (Hernández-Ortiz *et al.* 2015).

Dentro de Argentina, los estudios de compatibilidad sexual que se realizaron entre distintas poblaciones no encontraron evidencias de aislamiento etológico (Petit-Marty 1999, Petit-Marty *et al.* 2004a). Tampoco se encontraron evidencias de barreras reproductivas postcigóticas como mortalidad diferencial de machos o esterilidad en híbridos (Petit-Marty *et al.* 2004b). Estos resultados permiten postular que, en nuestro país, *A. fraterculus* es una sola especie, hecho que se ve sustentado por los resultados obtenidos en estudios realizados a nivel genético (Basso & Manso 2001, Alberti *et al.* 2002, Alberti 2004, Alberti *et al.*

2008). La confirmación que *A. fraterculus* es una sola especie dentro de Argentina, así como el hecho que esta especie presenta una distribución que incluye el sur de Brasil (Rull *et al.* 2012) resulta prometedor para el desarrollo de la TIE dentro de nuestro país.

Cría artificial

En lo que respecta a los avances hacia una cría masiva, en la EEAO, se estableció en 1997 una cría experimental. Posteriormente, se determinaron parámetros para el control de la calidad (Vera *et al.* 2007) y se evaluaron distintas dietas para larvas (Vera *et al.* 2014). Asimismo, se evaluó el efecto de la forma de suministrar los nutrientes en la dieta de adultos en distintos parámetros biológicos como ser longevidad, fecundidad y fertilidad (Oviedo *et al.* 2011).

Proceso de esterilización

Por su parte, en la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), se determinó el momento y la dosis de irradiación necesaria para lograr la esterilización de los individuos (Allinghi 2002, Allinghi *et al.* 2007a). Se analizó en condiciones de laboratorio el efecto de distintas dosis de radiación gamma y el momento de aplicación de las mismas sobre la fertilidad de esta especie. Se aplicaron dosis de 50, 70 y 90 Gy sobre pupas 24, 48, 72 y 96 hs antes de la emergencia de los adultos. Asimismo, se evaluó el efecto de dosis de 20, 40 y 60 Gy, aplicadas a pupas 48 h antes de la emergencia, sobre la fertilidad de machos, hembras y la transferencia de espermias. Los resultados mostraron que la fertilidad de los machos no varió significativamente en función del momento de irradiación estudiado. En cuanto al efecto de la dosis de irradiación sobre la fertilidad de machos y hembras se verificó que la fertilidad de los machos irradiados con 60 Gy, cruzados con hembras no irradiadas, es cercana al 1% mientras que hembras irradiadas con dosis de 40 Gy, cruzadas con machos no irradiados, no produjeron huevos. Esto permite

concluir que dosis de 70 Gy, aplicadas 48 hs antes de la emergencia de los adultos son suficientes para inducir 100% de esterilidad en machos y hembras.

Evaluación de la calidad de los machos estériles

Actualmente los programas de control y erradicación de moscas de los frutos, que basan sus actividades principalmente en el uso de la TIE, realizan ensayos para determinar la calidad de los machos liberados (FAO/IAEA/USDA 2014). En los mismos se evalúa la supervivencia a campo de moscas estériles y se determina en condiciones de semi-campo la competitividad sexual de los machos estériles a través del registro del número de cópulas que obtienen los machos estériles con relación al número que obtienen los machos silvestres. Una medida más eficiente de la calidad de los machos, pero que por resultar más trabajosa no siempre es determinada, consiste en medir la capacidad de inducir esterilidad en las hembras silvestres. Esto significa evaluar cuán capaces son los machos de bajar los niveles naturales de eclosión de huevos en presencia de machos silvestres. Estudios realizados en condiciones de semi-campo demostraron que las condiciones de cría semimasiva establecidas en la EEAO garantizan machos competitivos (Allinghi *et al.* 2007b). A esto se suma el hecho que la exposición a los volátiles de ciertas plantas pueden incrementar la competitividad sexual de los machos (Vera *et al.* 2013, Bachmann *et al.* 2015). Por último, analizar los factores que determinan cambios en la receptividad de la hembra luego de la cópula (Abraham *et al.* 2011a, b, 2012, 2013, 2015).

Es así como los resultados obtenidos hasta el momento permiten proponer a la TIE como una herramienta factible de ser utilizada para el control de *A. fraterculus*. Esto permitiría el uso combinado de la TIE para el control de ambas especies de moscas de los frutos de importancia cuarentenario dentro de Argentina.

Bibliografía recomendada

Abraham, S., L. Goane, J. Rull, J.L. Cladera, E. Willink & M.T. Vera. 2011a. Multiple mating in *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) females and its relationship with fecundity and fertility. Ent. Exp. et Appl. 141: 15-24.

Abraham, S., L. Goane, J.L.

Cladera & M.T. Vera. 2011b. Effects of male nutrition on sperm storage and remating behavior in wild and laboratory *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) females. J. Insect Physiol. 57: 1501-1509.

Abraham, S., J.L. Cladera, L. Goane & M.T. Vera. 2012. Factors

affecting *Anastrepha fraterculus* female receptivity modulation by accessory gland products. J. Insect Physiol. 58: 1-6.

Abraham, S., M.C. Liendo, F. Devescovi, P.A. Peralta, V. Yusef, J. Ruiz, J.L. Cladera, M.T. Vera & D.F. Segura. 2013. Remating behaviour

in *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) females is affected by male juvenile hormone analogue treatment but not by male sterilization. Bull. Entomol. Res. 103: 310-317. doi:10.1017/S0007485312000727.

Abraham, S., M.T. Vera & D. Pérez-Staples. 2015. Current sperm competition determines Sperm Allocation in a Tephritid Fruit Fly. Ethology 120: 1-11.

Alberti, A. C., M. S. Rodriguez, P. Gomez-Cendra, B. O. Saidman & J.C. Vilardi. 2002. Evidence indicating that Argentinean populations of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) belong to a single biological species. Ann. Entomol. Soc. Am. 95: 505-512.

Alberti, A. C. 2004. Las poblaciones Argentinas de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) conforman una única especie biológica? Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Alberti, A., V. A. Confalonieri, R.O. Zandomeni & J. C. Vilardi. 2008. Phylogeographic studies on natural populations of the South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). Genetica 132: 1-8.

Allinghi, A. 2002. Inducción de esterilidad en la Mosca Sudamericana de la fruta, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) mediante radiación gamma, para su aplicación en el control genético. Tesis de Maestría. Universidad Nacional General San Martín, Argentina.

Allinghi, A. M. C. Gramajo, E. Willink & J. C. Vilardi. 2007a. Induction of sterility in *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) by means of gamma radiation. Fla Entomol. 90: 96-102.

Allinghi, A., G. Calcagno, N. Petit-Marty, P. Gómez Cendra, D. Segura, M. T. Vera, J. Cladera, C. Gramajo, E. Willink & J. C. Vilardi. 2007b. Compatibility and competitiveness of a laboratory strain of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) after irradiation treatment. Fla Entomol. 90: 27-32.

Alvarado, L. & M. Ritacco. 1990. Manejo Integrado de Moscas de los Frutos. Seminario-Taller: INTA-CNEA.

Aruani, R., A. Ceresa, J. C. Granados, G. Taret, P. Peruzzotti & G. Ortiz. 1996. Advances in the National Fruit Fly Control and Eradication Program in Argentina. En: Mc Pheron y Steck [Eds.] Fruit Fly Pests. A World Assessment of their Biology and Management. St. Lucie Press. 521-530.

Bachmann, G.E. D.F. Segura, F. Devescovi, M.L. Juárez, M.J. Ruiz, M.T. Vera, J. Cladera, P.E. Teal, P.C. Fernandez. 2015. Male sexual behaviour and pheromone emission is enhanced by exposure to guava fruit volatiles in *Anastrepha fraterculus*. PlosOne 10 (4): e0124250. DOI:10.1371/journal.pone.0124250.

Bakri, A., K. Mehta & D. R. Lance. 2005. Sterilizing insects with ionizing radiation. En: Dyck, V. A., J. Hendrichs & A. S. Robinson [Eds.] Sterile Insect Technique. Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management. Springer. 233-268.

Basso, A. & F. C. Manso. 1998. Are *Anastrepha fraterculus* chromosomal polymorphisms an isolation barrier? Cytobios. 93: 103-111.

Casana-Giner, V., A. Gandia-Balaguer, C. Mengod-Puerta, J. Primo-Millo & E. Primo-Yufera. 1999. Insect growth regulators as chemosterilants for *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Ent. 92: 303-308.

Cladera, J. L., J. C. Vilardi, M. Juri, L. E. Paulin, M. C. Giardini, P. V. G. Gómez-Cendra, D. F. Segura & S. B. Lanzavecchia. 2014. Genetics and biology of *Anastrepha fraterculus*: research supporting the use of the sterile insect technique (SIT) to control this pest in Argentina. BMC genetics, 15(Suppl 2): S12.

Crampton, J. M. 1993. Genetic engineering of insects and applications in basic and applied entomology. En: Management of Insect Pests: Nuclear and Related Molecular and Genetic Techniques. Vic Library Cataloging in Publication Data. 33-47.

De Longo, O., A. Colombo, P. Gomez-Riera & A. Bartolucci. 2000. The use of massive SIT for the control of the Medfly, *Ceratitis capitata* (Wied.), Strain SEIB 6-96, in Mendoza, Argentina. En: Tan, K-H. [Ed.] Area-wide control of fruit flies and other insect pests. Penerbit Universiti Sains Malaysia Press, Malasia. 351-360.

Devescovi, F., S. Abraham, A.K. Passos Roriz, N. Nolasco, R. Castañeda, E. Tadeo, C. Caceres, D.F. Segura, M.T. Vera, I. Joachim-Bravo, N. Canal & J. Rull. 2014. Ongoing speciation within the *Anastrepha fraterculus* cryptic species complex: the case of the Andean morphotype. Ent. Exp. Appl. 152: 238-247.

Dycks, V. A., J. Hendrichs & A. S. Robinson. 2005. Sterile Insect Technique. Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management. Springer.

Enkerlin, W. R. 2005. Impact of Fruit Fly Control Programmes using the Sterile Insect Technique. Pp. 651-676. En: Dycks, V. A., J. Hendrichs & A. S. Robinson, [Eds.] Sterile Insect Technique. Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management. Springer.

FAO/IAEA/USDA. 2014. Manual for Product Quality Control and Shipping Procedures for Sterile Mass-Reared Tephritid Fruit Flies, Version 6.0. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria.

Guilmore, J. E. 1989. Sterile Insect Technique. En: Robinson, A. S. & G. Hooper. Fruit Flies: Their Biology and Natural Enemies. Elsevier, Amsterdam, pp. 353-364.

Guillén, D., & R. Sánchez 2007. Expansion of the national fruit fly control programme in Argentina. In Area-wide control of insect pests (pp. 653-660). Springer Netherlands.

Hendrichs, J., G. Franz & P. Rendón. 1995. Increased effectiveness and applicability of the sterile insect technique through male-only releases for control of the Mediterranean fruit fly during fruiting

seasons. J. Appl. Entomol. 119, 371-377.

Hendrichs, J., M. T. Vera, M.

De Meyer & A. R. Clarke. 2015.

Resolving cryptic species complexes of major tephritid pests. ZooKeys 540: 5-39.

Hernández-Ortiz, V. 1992. El género

Anastrepha Schiner en México (Diptera: Tephritidae): taxonomía, distribución y plantas hospederas.

Xalapa, México. Inst. de Ecología - Soc. Méx. Entomol. Publ. n°33. 162 pp.

Hernández-Ortiz, V., J. A.

Gómez-Amaya, A. Sánchez, B.

A. McPheron, & M. Aluja. 2004.

Morphometric analysis of Mexican and South American populations of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae) and recognition of a distinct Mexican morphotype. Bull. Entomol. Res. 94: 487-499.

Hernández-Ortiz, V., Bartolucci, A.

F., Morales-Valles, P., Frías, D., &

Selivon, D. 2012. Cryptic species of

the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae): a multivariate approach for the recognition of South American morphotypes. Ann. Entomol. Soc. Am. 105(2), 305-318.

Hernández-Ortiz, V., Canal, N. A.,

Salas, J. O. T., Ruiz-Hurtado, F. M.,

& Dzul-Cauich, J. F. 2015. Taxonomy

and phenotypic relationships of the *Anastrepha fraterculus* complex in the Mesoamerican and Pacific Neotropical dominions (Diptera, Tephritidae). ZooKeys (540): 95.

Jaldo, H. E., M. C. Gramajo &

E. Willink. 2001. Mass rearing of

Anastrepha fraterculus (Diptera: Tephritidae): a preliminary strategy. Fla. Entomol. 84(4):716-718.

Knipling, G. F. 1955. Possibilities of

insect control of eradication through the use of sexually sterile males. J. Econ. Entomol. 48:459-462.

Kuba, H., T. Kohama, H.

Kakinohana, M. Yamagishi, K.

Finjo, Y. Sokei, T. Nakasone y Y.

Nakamoto. 1996. The successful eradication programs of the melon fly in Okinawa. Pp. 543-550. En: B. A.

McPheron & G. J. Steck [Eds.] Fruit Fly Pests. A world assessment of their biology and management. St. Lucie Press, Delray Beach, FL. USA.

Mastrangelo, T., A. G. Parker, A.

Jessup, R. Pereira, D. Orozco-

Dávila, A. Islam, T. Damalage

& J. M. M. Walder. 2010. A new

generation of X ray irradiators for insect sterilization. J. Econ. Entomol. 103: 85-94.

Navarro-Llopis, V. J. Sanchis-

Cabanes, I. Ayala, V. Casana-Giner

y E. Primo-Yufera. 2004. Efficacy of

lufenuron as chemosterilant against *Ceratitis capitata* in field trials. Pest Man. Sci. 60: 914-920.

Navarro-Llopis, V., J. Sanchis-

Cabanes, Primo-Millo, J and Primo-

Yufera, E. 2007. Chemosterilants as

control agents of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) in field trials. Bulletin of Entomological Research. 97 359-368.

Norrbom, A. L. & K. C. Kim. 1988.

A list of the reported host plant of the species of *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae), 114 pp. U.S. Dep. Agric., Animal and Plant Health Inspection Service, Plant Protection and Quarantine, Washington, DC.

Norrbom, A. L. 2004. Fruit fly

(Tephritidae) host plant database.

Nov., 2004. (<http://www.sel.barc.usda.gov:591/diptera/Tephritidae/TephHosts/search.html>).

Ortiz, G. 1999. Potential use of the sterile insect technique against the South American fruit fly, pp.

121-130. En: The South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Wied.): advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies. International Atomic Energy Agency, IAEA Tech-Doc 1064. Austria.

Oviedo, A., D. Nestel, N. T.

Papadopoulos, M. J. Ruiz, S. C.

Prieto, E. Willink & M. T. Vera. 2011.

Management of protein intake in the fruit fly *Anastrepha fraterculus*. J. Insect Physiol. 57: 1622-1630.

Pereira, R., B. Yuval, P. Liedo, P. E.

A. Teal, T. E. Shelly, D. O. McInnis

& J. Hendrichs. 2013. Improving

sterile male performance in support of programmes integrating the sterile insect technique against fruit flies. J. Appl. Entomol. 137(s1): 178-190.

Petit-Marty, N. 1999. Estudios sobre

comportamiento reproductivo de dos poblaciones silvestres de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) de Argentina. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Argentina.

Petit-Marty, N., M. T. Vera, G.

Calcagno, J. L. Cladera, D. F.

Segura, A. Allinghi, M. Rodriguez,

P. Gómez Cendra, M. M. Viscarret

& J. C. Vilardi. 2004a. Sexual

Behaviour and Mating Compatibility Among Four Populations of

Anastrepha fraterculus (Diptera: Tephritidae) from Argentina. Ann. Entomol. Soc. Am. 97: 1320-1327.

Petit-Marty, N., M. T. Vera, G.

Calcagno, J. L. Cladera & J. C.

Vilardi. 2004b. Lack of post-mating

isolation between two populations of *Anastrepha fraterculus* from different ecological regions in Argentina, pp. 79-82. En: Proceedings of the 6th International Fruit Fly Symposium, 6-10 May 2002, Stellenbosch, South Africa.

Rial, E. A. P. Mongabure & C. A.

Borges. 2006. Fruit Fly Eradication

Programme in Patagonia, Argentina. En: Actas del 7th Symposium of Fruit Flies of Economic Importance. 10 al 15 de septiembre, Salvador Bahia, Brasil.

Rull, J., S. Abraham, A. Kovaleski,

D.F. Segura, A. Islam, V.

Wornoayporn, T. Dammalage, U.

Santo Tomas & M.T. Vera. 2012.

Random Mating and Reproductive Compatibility among Argentinean and Southern Brazilian Populations of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). Bull. Entomol. Res. 102: 435-443.

Rull, J., S. Abraham, A. Kovaleski,

D. F. Segura, M. Mendoza,

M. C. Liendo and M. T. Vera.

2013. Evolution of prezygotic and postzygotic barriers to gene flow among three cryptic species within the *Anastrepha fraterculus* complex. Ent. Exp et Appl. 148: 213-222.

Salles, L. A. B. 1995. Bioecologia e Control da Moscas das Frutas Sul-Americanas. EMBRAPA-CPACT, Pelotas, Brasil.

Sánchez, R. A., E. J. Rial & A. P. Mongabure. 2001. Advances in the programme for the eradication of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*, Wied.) in the Patagonian region, Argentina. 2001. En: Actas del 4to Encuentro de Trabajadores en Moscas de la Fruta del Hemisferio Occidental. Mendoza, Argentina.

Selivon D., J. S. Morgante & A. L. P. Perondini. 1997. Egg size, yolk mass extrusion and hatching behaviour in two cryptic species of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Brazilian Journal of Genetics 20: 587–594.

Selivon D., A. L. P. Perondini & J. S. Morgante. 1999. Haldane's rule and other aspects of reproductive isolation observed in the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). Genetics and Molecular Biology 22: 507–510.

Selivon, D., A. L. P. Perondini & J. S. Morgante. 2005. A genetic-morphological characterization of two cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 98: 367-381.

Shelly, T., J. Edu, E. Pahio & J. Nishimoto. 2007. Scented Males and Choosy Females: Does Male Odor Influence Female Mate Choice in the Mediterranean Fruit Fly? J Chem Ecol. 33:2308–2324

Shelly, T & D.O. McInnis. Sterile Insect Technique and Control of Tephritid Fruit Flies: Do Species With Complex Courtship Require Higher Overflooding Ratios? Ann. Ent. Soc. Am. 109: 1-11.

Smith-Caldas, M. R. B., B. A. McPherson, J. G. Silva & R. A. Zucchi. 2001. Phylogenetic relationships among species of the *fraterculus* group (*Anastrepha*: Diptera: Tephritidae) inferred from DNA sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I. Neotrop. Entomol. 30:565-573.

Steck, G. J. 1998. Taxonomic status of *Anastrepha fraterculus*, pp 13-20. En: The South American Fruit Fly, *Anastrepha fraterculus* (Wied.); advances in artificial rearing, taxonomic status and biological studies. IAEA- TECDOC 1064. IAEA, Vienna, Austria.

Vera, M. T., C. Cáceres, V. Wornoayporn, A. Islam, A. S. Robinson, M. H. de la Vega, J. Hendrichs, & J-P Cayol. 2006. Mating Incompatibility among populations of the South American

Fruit Fly *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 99: 387-397.

Vera, M. T., S. Abraham, A. Oviedo y E. Willink. 2007. Demographic and quality control parameters of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) artificial rearing. Fla. Entomol. 90: 53-57.

Vera, M. T., M. J. Ruiz, A. Oviedo, S. Abraham, M. Mendoza, D. F. Segura, N. A. Kouloussis and E. Willink. 2013. Fruit compounds affect male sexual success in the South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). J. App. Entomol. 137 (suppl.) 2-10.

Vera, M.T., A. Oviedo, S. Abraham, M.J. Ruiz, M. Mendoza, C.L. Chang y E. Willink. 2014. Larval diet development for the South American fruit fly, *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Int. J. Trop. Insect Sci. 34 S73-S81.

Vergani, A. R. 1952. La mosca del Mediterráneo *Ceratitidis capitata*. Publ. Inst. San. Veg. M.A.G.N. Serie B, Nº22.

Whitten, M. J. 1969. Automated sexing of pupae and its usefulness in control by sterile insects. J. Econ. Entomol. 62:272-273.

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

A7

Mecanismos de defensa en las plantas

María Josefina Ruiz y María Teresa Vera

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

Las plantas terrestres son fuente de alimento de al menos un millón especies de insectos de diversos grupos taxonómicos, los cuales utilizan varias estrategias alimenticias para obtener nutrientes de éstas. Es por ello que en plantas e insectos herbívoros coevolucionan el sistema de defensa (plantas) y el contraataque (insecto) en forma altamente sofisticada en lo que se llama una “carrera armamentista”. En este proceso, las plantas desarrollan mecanismos que reducen el consumo y los herbívoros desarrollan mecanismos para aumentarlo (Price 1997, Agrawal & Heil 2012). Las defensas que desarrollan las plantas pueden ser directas o indirectas, físicas, morfológicas o químicas y expresarse en forma constante o ante la presencia del herbívoro (Howe y Jander 2008). El conocimiento de estas defensas, así como la respuesta por parte del insecto, es utilizado con éxito para el manejo de plagas.

De acuerdo a Nuñez-Farfán *et al.* 2007, resistencia es la respuesta de la planta, inducida o constitutiva, contra el herbívoro para evitar o reducir el daño ocasionado. Estas respuestas tienen bases genéticas y presentan diferentes efectos en el desempeño, tanto de la planta como del enemigo (Rauscher 1996, 2001; Rosenthal y Kotanen 1994; Stowe 1998; Strauss y Agrawal 1999, Vivanco *et al.* 2005). Los compuestos involucrados en los mecanismos de defensa químicos son sintetizados mediante diferentes vías metabólicas, no existentes en los animales. Como resultado, se producen grandes cantidades de compuestos químicos que en principio no presentan un rol específico o esencial en la planta. Al conjunto de estas vías metabólicas se las conoce como metabolismo secundario, y a sus productos como metabolitos secundarios. Estos metabolitos secundarios son los que intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente. A diferencia de los metabolitos primarios, los secundarios, tienen una distribución restringida a solo una especie vegetal o a un grupo de ellas. Las concentraciones de estos productos varían incluso dentro de la planta, siendo mayores en las frutas y semillas (Hoy *et al.* 1998). Los compuestos que ejercen efectos repelentes, antinutritivos, o tóxicos sobre los herbívoros son comúnmente llamados defensas directas (Howe y Jander 2008). Los rasgos de las plantas que confieren resistencia a los insectos también pueden clasificarse de acuerdo a la manera en que se regulan, así entonces las defensas constitutivas son aquellas toxinas y otras barreras defensivas que son producidas por la

planta independientemente de que los herbívoros estén presentes mientras que las que se sintetizan frente a la presencia del insecto o del daño que este ocasione, se llaman defensas inducidas (Howe y Jander 2008).

Metabolitos secundarios

Muchas de las funciones de los metabolitos secundarios son aún desconocidas. El estudio de estas sustancias fue iniciado por químicos orgánicos del siglo XIX y de principios del siglo XX, que estaban interesados en estas sustancias por su importancia como drogas medicinales, venenos, saborizantes, pegamentos, aceites, ceras, y otros materiales utilizados en la industria. El proceso para obtener metabolitos secundarios de los extractos vegetales es variable; se pueden obtener extractos acuosos (Bautista *et al.* 2002) o polvos (Bautista *et al.* 2003), o utilizar disolventes para obtener diferentes compuestos según su polaridad (Abou-Jawdah *et al.* 2002). En la actualidad, estos compuestos son buscados como alternativa a los productos de síntesis para el control de plagas (Isman 2006). Dentro de los derivados de las plantas aromáticas, se encuentran los aceites esenciales, de gran interés en la actualidad por la amplia información que existe sobre su participación en las interacciones ecológicas, especialmente la interacción planta-insecto (revisado en Regnault-Roger *et al.* 2012).

Aceites esenciales

Un aceite esencial es una mezcla compleja de componentes volátiles y se produce en 17.500 especies de plantas aromáticas superiores que pertenecen en su mayoría a unas pocas familias, incluyendo Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae y Asteraceae. La síntesis y acumulación de aceites esenciales se asocian con la presencia de estructuras secretoras complejas tales como tricomas glandulares (Lamiaceae), cavidades secretoras (Myrtaceae, Rutaceae) y los conductos de resina (Asteraceae, Apiaceae). Dependiendo de las especies consideradas, los aceites esenciales se almacenan en varios órganos de la planta como ser las flores (bergamota naranja, *Citrus bergamia* Risso y Poit), hojas (hierba de limón, *Citronela* spp.; eucalipto, *Eucalyptus* spp.), madera (madera de sándalo, *Santalum* spp.), raíces (vetiver, *Chrysopogon zizanioides* [L.] Roberty), rizomas (jengibre, *Zingiber officinale* Rosc., cúrcuma, *Curcuma longa* L.), frutos (anís, *Pimpinella anisum* L.; cítricos en general) y semillas (nuez moscada, *Myristica fragrans* Houtt).

Los componentes de los aceites esenciales pertenecen principalmente a dos grupos fitoquímicos: terpenoides (monoterpenos y sesquiterpenos de bajo peso molecular) y, en menor medida, fenilpropanoides. Los terpenoides son componentes importantes de los aceites esenciales. Los monoterpenos son biosintetizados a través de la vía del fosfato metil eritritol en los plastos, que produce el pirofosfato de 5-carbono y precursores isopentenil dimetilalil pirofosfato, que se condensan a través de pirofosfato sintetasa geranilo para dar monoterpenos (10-carbono). Aunque pirofosfato isopentenil puede transferir entre compartimientos, los monoterpenos y diterpenos tienden a formarse en el plástido, donde se producen ciclasas como el fenchane, bornano, camphane, tuyona, y estructuras pinano anillo. Los sesquiterpenos (15-carbono) se forman a través de la vía del mevalonato en el citosol. Los monoterpenos presentes en los aceites esenciales pueden contener terpenos que son hidrocarburos (α-pineno), alcoholes (mentol, geraniol, linalool, terpinen-4-ol, p-mentano-3,8-diol), aldehídos (cinamaldehído, cuminaldehído), cetonas (tuyona), éteres [1,8-cineol (= eucaliptol)], y lactonas (nepetalactona). Los sesquiterpenos tienen una amplia variedad de estructuras. Los compuestos aromáticos son menos comunes y se pueden mencionar al carvacrol y cuminaldehído (Bernards 2010). Por último, dentro de los aceites esenciales en cítricos, se encuentran las cumarinas.

La expresión fisiológica del metabolismo secundario de la planta puede ser diferente en las diferentes etapas de su desarrollo (Boege y Marquis 2005). Las proporciones de monoterpenos dependen del ritmo circadiano y la temperatura (Hansted *et al.* 1994; Raguso y Pichersky 1999) y varían según la fase de la planta (Clark y Menari 1981). Gershenzon *et al.* (2000) mostraron que el limoneno y la mentona son los principales monoterpenos presentes en las hojas más jóvenes de menta, el contenido de limoneno disminuye rápidamente con el desarrollo, mientras que la mentona incrementa y luego disminuye en etapas posteriores como el mentol se convierte en el componente dominante. La acidez del suelo y el clima (calor, fotoperiodo, humedad) afectan directamente el metabolismo secundario de la planta y la composición de los aceites esenciales (Regnault-Roger *et al.* 2012).

Actividad insecticida de los aceites esenciales sobre los artrópodos

La mayoría de los trabajos publicados en los últimos 40 años sobre toxicidad de aceites esenciales en insectos documentan un efecto inmediato ya sea

por toxicidad aguda o por repelencia (revisado en Regnault-Roger *et al.* 2012). La rápida acción de los monoterpenos contra algunas plagas indica un modo de acción neurotóxico y existe evidencia de la interferencia con el neuromodulador octopamina (Enan 2001; Kostyukovsky *et al.* 2002) en algunos aceites y con canales del ácido gamma-aminobutírico en otros (Priestley *et al.* 2003). Asimismo, los aceites esenciales así como sus compuestos pueden ser tóxicos para los insectos mediante diferentes vías de penetración: la sustancia ingresa a través de la cutícula del insecto (contacto), a través del sistema respiratorio (efecto fumigante, Shaaya *et al.* 1997; Pascual-Villalobos 2002; Negahban *et al.* 2006; Kordali *et al.* 2006; López *et al.* 2008) o a través del aparato digestivo (Prates *et al.* 1998; Pungitore *et al.* 2005ab). Otros afectan la fisiología nutricional de los insectos al actuar como antialimentarios. Además, muchos aceites han demostrado ser altamente efectivos por su acción repelente o como disuasivos de la oviposición (Ogendo *et al.* 2008; Nerio *et al.* 2009; Ukeh *et al.* 2009; Ioannou *et al.* 2012).

La eficacia de un aceite esencial varía en función de su perfil fitoquímico y del insecto sobre el cual se evalúa la actividad. Así entonces, el eugenol, abundante en el clavo de olor (*Eugenia caryophyllata* L.), o cinamaldehído, abundante en la canela (*Cinnamomum verum* J. Presl.), ejercen toxicidad ovicida, larvicida y adulticida sobre el gorgojo del frijol, *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera) e inhibe su reproducción (Regnault-Roger y Hamraoui 1995). López *et al.* (2011), demostraron la actividad insecticida de los aceites de varias especies del género *Tagetes* L. (Asteracea, Helenieade) sobre adultos de *C. capitata* y la actividad repelente de los aceites de *T. minuta* L. y *T. filifolia* Lag. en adultos de *Triatoma infestans* Klug. Es así como en una búsqueda por productos específicos para ciertas especies numerosos trabajos documentan la bioactividad de estos compuestos frente a diferentes insectos plaga (Rice y Coats 1994; Seyoum *et al.* 2002; Rivera Armita *et al.* 2003; Dharmagadda *et al.* 2004; Bardón *et al.* 2007; Picollo *et al.* 2008).

Aceites esenciales y toxicidad en moscas de los frutos

Algunas frutas cultivadas también contienen compuestos secundarios que reducen el crecimiento o la supervivencia de las larvas de moscas de los frutos (Diptera: Tephritidae) (Seo *et al.* 1982; Greany *et al.* 1983). De hecho, este mecanismo es el que se atribuye como principal causante de la mala condición de hospedero de ciertos cítricos a varias especies de

tefrítidos. Cuando la mortalidad es alta y los adultos que emergen presentan malformaciones, se dice que es un mal hospedero o un hospedero pobre.

El principal mecanismo de resistencia que se le atribuye a los cítricos que no son hospederos o son malos hospederos es el de resistencia química. Back y Pemberton (1915) sugirieron que los cítricos, en particular el limón, ofrecen al menos tres mecanismos de resistencia: (1) las glándulas de aceite esencial en la cáscara que al romperse liberan un aceite tóxico para huevos y larvas de los primeros estadios; (2) la goma que invade los orificios hechos por el ovíscapo de la hembra y encapsula los huevos; y (3) el endurecimiento de los tejidos circundantes al orificio de oviposición. Greany *et al.* (1983) indicaron que la resistencia del limón al ataque de *Anastrepha suspensa* (Schiner) estaría asociada al grosor de flavedo, a la alta concentración de terpenoides oxigenados, como el linalol y a la cantidad absoluta de aceite presente en la cáscara. Spitler *et al.* (1984) observaron una secreción en la superficie del limón que sella el orificio de penetración, condicionando la supervivencia del huevo o la larva. Salvatore (2003) demostró que *Ceratitis capitata* (Wiedemann) no se desarrolla en limones de árbol. Salvatore *et al.* (2004) determinaron que algunos componentes del aceite esencial como citral, linalol y citropteno (5-7 dimetoxicumarina) son tóxicos para la larva. Estudios realizados mediante bioensayos *in vitro* con larvas de *C. capitata*, demostraron que el aceite de limón es menos tóxico que los aceites de tres variedades de naranja dulce y que el de naranja agria, atribuyendo esto a la alta proporción de α -pineno y β -pineno (8,4% del total de aceite) (Papachristos *et al.* 2008). Papachristos y Papadopoulos (2009) propusieron que la combinación de la elasticidad y estructura de la cáscara y la resistencia mecánica evitan que las larvas alcancen la pulpa de la fruta, exponiendo a los huevos y las larvas del primer estadio a la acción de los compuestos tóxicos de la cáscara. Existen también trabajos que evalúan la toxicidad de aceites esenciales de otras especies vegetales en larvas y adultos de *C. capitata* mediante ensayos de fumigación, ingesta y aplicación tópica (Sanna-Pasino *et al.* 1999; López *et al.* 2011; Miguel *et al.* 2010; Benelli *et al.* 2012; Jofre Barud 2012). En *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann), también se analizó la toxicidad de los compuestos presentes en la cáscara de distintos cítricos y se observó la presencia de sustancias tóxicas (Ruiz *et al.* 2014). En dicho estudio, los extractos de limón “Eureka” y de pomelo “Foster Seedless” presentaron los mismos niveles de toxicidad en huevos y en larvas tanto cuando se evaluó la actividad fumigante como la toxicidad por

contacto. El extracto etéreo de la naranja “Valencia” presentó la misma actividad fumigante que la del limón en huevos, mientras que el aceite comercial de limón presentó menor toxicidad. Los extractos etéreos de limón correspondientes a diferentes años de cosecha presentaron distintos niveles de toxicidad, así como también diferencias en las cantidades relativas de algunos de sus compuestos. Estos resultados pueden ser explicados en parte debido a la presencia de ciertos compuestos mayoritarios en los extractos de la cáscara. Sin embargo, el hecho que el limón haya resultado igualmente tóxico que las otras especies, aún cuando los contenidos de limoneno hayan sido menores a los de las otras especies muestra la necesidad de contemplar también los compuestos minoritarios, que muchas veces presentan niveles de toxicidad elevados (como citral y citropteno) así como la posible acción sinérgica entre algunos compuestos.

Por su parte, en muchos frutos los compuestos defensivos desaparecen cuando la fruta madura con lo que aumenta su atractivo como sitio para la oviposición (McKey 1975, 1979; Ioanniou *et al.* 2012). Es por ello que las hembras de muchos tefritidos prefieren ovipositar en frutas que comienzan a madurar (Bateman y Sonleitner 1967; Seo *et al.* 1982). A lo largo de la maduración, las concentraciones de aldehídos alifáticos y que contienen oxígeno, los terpenos y sesquiterpenos aumentan (Harlander 1999). Asimismo, en las frutas cítricas maduras, la concentración de linalol del aceite de la cáscara disminuye y la de limoneno incrementa. Por ejemplo, el aceite de naranjas inmaduras contiene mayores concentraciones de linalol que el aceite de pomelos inmaduros. Así, Greany *et al.* (1983), demostraron que a medida que disminuye la concentración de linalol incrementa la susceptibilidad de naranjas y pomelos a *C. capitata* mientras que Ioannou *et al.* (2012), mostraron que esto afecta el comportamiento de oviposición.

Es así como el resultado de la interacción planta-insecto puede tener implicancias prácticas ya que puede llegar a determinar o condicionar el nivel de infestación máximo que puede llegar a tener un dado insecto en una determinada especie vegetal. La capacidad de los insectos fitófagos para ampliar su rango de hospederos depende de la especificidad del comportamiento de las larvas, de su fisiología digestiva, así como de la especificidad de oviposición del adulto (Fitt 1986). Además también dependerá de las estrategias de defensa de las plantas frente a dichos herbívoros (Nuñez-Farfán *et al.* 2007). En su conjunto, esto determinará la condición o no de hospedero así como la calidad del mismo.

▼
Bibliografía recomendada

Abou-Jawdah, Y., Sobh, H. and Salameh, A. 2002. Antimicrobial activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3208-3213.

Agrawal, A. A., & Heil, M. 2012. Synthesizing specificity: multiple approaches to understanding the attack and defense of plants. *Trends in plant science*, 17(5), 239.

Back, E.A. and Pemberton, C.E. 1915. Susceptibility of citrus fruits to the attack of the Mediterranean fruit fly. *J. Agric. Res.* 3: 311-330.

Bardón, A., Borkosky, S., Ybarra, M. I., Montanaro, S. and Cartagena, E. 2007. Bioactive plants from Argentina and Bolivia. *Fitoterapia*. 78 (3): 227-231.

Bateman, M.A. and Sonleitner, F.J. 1967. The ecology of a natural population of the Queensland fruit fly, *Dacus tryoni* I. The parameters of the pupal and adult populations during a single season. *Aust. J. Zool.* 15: 305-335.

Bautista, S., L Barrera, N., Bravo, L. and Bermúdez, T. 2002. Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incipient of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruits after storage. *Rev. Mex. Fitopatol.* 20: 8-12.

Bautista, S., García, E., Barrera, L., Reyes C. and Wilson, C.L.. 2003. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Postharv. Biol. Technol.* 29: 81-92.

Benelli, G., Flamini, G., Canale, A., Cioni, P.L. and Conti, B. 2012. Toxicity of some essential oil formulations against the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera Tephritidae). *Crop Prot.* 42:223-229.

Bernards, M.A. 2010. Plant natural products: a primer. *Can. J. Zool.* 88:601-14.

Boege, K. and Marquis, R.J. 2005. Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends Ecol. Evol.* 20: 441-448.

Clark, R.J. and Menary, R.C. 1981. Variations in composition of peppermint oil in relation to production areas. *Econ. Bot.* 35: 59-69.

Dharmagadda, V.S., Naik, S. N., Mittal, P.K. and Vasudevan P. 2004. Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. *Biores. Technol.* 96:1235-1240.

Enan, E.E. 2001. Insecticidal activity of essential oils: Octopaminergic sites of action. The ESA 2001 Annual Meeting: An Entomological Odyssey of ESA San Diego. CA. USA. D0579.

Fitt, G.P. 1986. The influence of a shortage of hosts on the specificity of oviposition behaviour in species of *Daeus* (Diptera: Tephritidae). *Physiol Entomol.* 11: 133-143.

Gershenzon, J., McConkey, M.E., Croteau, R.B. 2000. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. *Plant Physiol.* 122: 205-213.

Greany, P.D., Styer, S.C., Davis, P.L. Shaw, P.E. and Chambers D.L. 1983. Biochemical resistance of citrus to fruit flies. Demonstration and elucidation of resistance to the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. *Entomol. Exp. Appl.* 34: 40-50.

Hansted, L., Jakobsen, H.B. and Olsen, C.E. 1994. Influence of temperature on the rhythmic emission of volatiles from *Ribes nigrum* flowers *in situ*. *Plant Cell Environ.* 17: 1069-1072.

Harlander, S. 1999. En: Reineccius G (ed) *Source Book of Flavors*, 2nd edn. Aspen.

Howe, G.A. and Jander, G. 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 59: 41-66.

Hoy, C.W., Head, G.P. and Hall, F.R. 1998. Spatial heterogeneity and insect adaptation to toxins. *Annu. Rev. Entomol.* 43:571-94.

Ioannou, C.S., Papadopoulos, N.T., Kouloussis, N.A., Tananaki, C.I. and Katsoyannos, B. I. 2012. Essential oils of citrus fruit stimulate oviposition in the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Physiol. Entomol.* 37: 330-339.

Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 45-66.

Jofre Barud, F.B. 2012. Influencia de los aceites esenciales de dos plantas nativas de San Juan sobre diferentes comportamientos de la mosca de los frutos *Ceratitis capitata* Wiedemann. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional de San Juan.

Kordali, S., Aslan, I., Calmasur, O. and Cakir, A. 2006. Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Ind. Crop. Prod.* 23: 162-170.

Kostyukovsky, M., Rafael, i A., Gileadi, C., Demchenko, N., and Shaaya, E. 2002. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants. *Pest Manag. Sci.* 58:1101-6.

López, M.D., Jordán, M.J. and Pascual-Villalobos, M.J. 2008. Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. *J. Stored Prod. Res.* 44: 273-278.

López, S.B., López, M.L., Aragon, L.M., Tereschuk, M.L., Slanis, A.C., Feresin, G.E., Zygodlo, J.A. and Tapia, A.A. 2011. Composition and anti-insect activity of essential oils

from *Tagetes L.* species (*Asteraceae*, *Helenieae*) on *Ceratitis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. J. Agric. Food Chem. 59: 5286-5292.

McKey, D. 1975. The ecology of coevolved seed dispersal systems. Coevolution of animals and plants (Ed. por L. E. Gilbert y P. H. Raven). University of Texas Press. Austin. Texas, pp. 159-191.

McKey, D.B. 1979. The distribution of secondary compounds with in plants. In: Rosenthal GA, Janzen DH (eds) *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York, pp. 55-133.

Miguel, M.G., Almeida, M.L., Goncalves, M.A., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G. and Pedro, L.M. 2010. Toxic effects of three essential oils on *Ceratitis capitata*. J. Ess. Oil Bear. Plants 13: 191-199.

Negahban, M., Moharramipour, S. and Sefidkon, F. 2006. Chemical composition and insecticidal activity of *Artemisia scoparia* essential oil against three coleopteran stored-product insects. J. Asia-Pacific Entomol. 9(4): 381-388.

Nerio, L.S., Olivero-Verbel, J. and Stashenko, E. 2009. Repellent activity of essential oils from seven aromatics plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). J. Stored Prod. Res. 45: 212-214.

Núñez-Farfán, J., Fornoni, J. and Valverde, P.L. 2007. The Evolution of Resistance and Tolerance to Herbivores. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 38: 541-66.

Ogendo, J.O., Kostyukovsky, M., Ravid, U., Matasyoh, J.C., Deng, A.L., Omolo, E.O., Kariuki, S.T. and Shaaya, E. 2008. Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. J. Stored Prod. Res. 44(3): 328-334.

Pascual-Villalobos, M.J. 2002. Antiinsect activity of bufadienolides from *Urginea maritima* (L.) Baker

(Liliaceae). En: Janick, J. y A. Whipkey (eds.). Trends in new crops and new uses. Strength in diversity. ASHS Press, Alexandria, VA, USA. 564-566.

Papachristos, D.P. and Papadopoulos, N.T. 2009. Are citrus species favorable hosts for the Mediterranean fruit fly? A demographic perspective. Entomol. Exp. Appl. 132: 1-12.

Papachristos, D.P., Kimbaris, A.C., Papadopoulos, N.T. and Polissiou, M.G. 2009. Toxicity of citrus essential oils against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) larvae. Ann. Appl. Biol. 155: 381-389.

Picollo, M.I., Vassena, C., Casadio, A., Massimo, J. and Zerba, E. 2008. Laboratory studies of susceptibility and resistance to insecticides in *Pediculus capitis* (Anoplura: Pediculidae). J. Med. Entomol. 35: 814-817.

Prates, H.T., Santos, J.P., Waquil, J.M., Fabris, J.D., Oliveira, A.B. and Foster, J.E. 1998. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *T. castaneum* (Herbst). J. Stored Prod. Res. 34: 243-249.

Price, P.W. 1997. Insect Ecology. Third edition. John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.

Priestley, C.M., Williamson, E.M., Wafford, K.A. and Sattelle, D.B. 2003. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA receptors and a homo-oligomeric GABA receptors from *Drosophila melanogaster*. Br. J. Pharmacol., 140: 1363-1372.

Pungitore, C.R., García, M., Gianello, J.C., Sosa, M.E. and Tonn, C.E. 2005. Insecticidal and Antifeedant Effects of *Junellia aspera* (Verbenaceae) Triterpenes and Derivatives on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 41: 433-443.

Pungitore, C.R., García, M., Gianello, Tonn, C.E. and Sosa, M.E. 2005. Lethal and sublethal effects of triterpenes from *Junellia*

aspera (Verbenaceae) on the grain storage insect *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Rev. Soc. Entomol. Argent. 64: 45-51.

Raguso, R.A. and Pichersky, E. 1999. New perspectives in pollination biology: floral fragrances. A day in the life of a linalool molecule: chemical communication in a plant-pollinator system. Part 1: linalool biosynthesis in flowering plants. Plant Species Biol. 14: 95-120.

Rauscher, M.D. 1996. Genetic analyses of coevolution between plants and their natural enemies. Trends Genet. 12: 212-217.

Regnault-Roger, C. y Hamraoui, A. 1995. Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J. Stored Prod. Res. 31: 291-99.

Regnault-Roger, C., Vincent, C. and Arnason, J. 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a highstakes world. Annu. Rev. Entomol. 57: 405-424.

Rice, J.P. and Coats, R.C. 1994. Insecticidal properties of several monoterpenoids to the housefly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Econ. Entomol. 87: 1172-1179.

Rivera Amita, M.M., Carballo Guerra, C. Milanés Figueredo, M. Ramos Gálvez, S.R. y Orama Velazco, R.A. 2003. Efecto de plaguicidas de origen botánico sobre el áfido *Carolinaia cyperi* Ainslie. Rev. Cubana Plant Med. 8 (3). Disponible en línea en <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962003000300009&lng=es&nrm=iso>. Consultado 23 de mayo de 2013.

Rosenthal, J. P. and Kotanen, P.M. 1994. Terrestrial plant tolerance to herbivory. Trends Ecol. Evol. 9: 145-148.

Ruiz, M.J., M.L. Juárez, R.A. Alzogaray, F. Arrighi, L. Arroyo, G.

Gastaminza, E. Willink, A. Bardón y M.T. Vera. 2014. Toxic Effect of Citrus Peel Constituents on *Anastrepha fraterculus* Wiedemann and *Ceratitis capitata* Wiedemann Immature Stages. J. Agric. Food Chem. 62: 10084-10091.

Salvatore, A. 2003. Desarrollo de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera) en limones en la provincia de Tucumán. Tesis de Maestría. Facultad de Agronomía y Zootecnia. Universidad Nacional de Tucumán.

Salvatore, A., Borkosky, S., Willink, E. and Bardón, A. 2004. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*. J. Chem. Ecol., 30, 323-333.

Sanna-Passino, G., Bazzoni, E., Moretti, M.D.L. and Prota, R., 1999. Effects of essential oil formulations on *Ceratitis capitata* Wied. (Dipt., Tephritidae) adult flies. J. Appl. Ent. 123, 145-149.

Seo, S.T., Farias, G., and Harris E.

J. 1982. Oriental fruit fly: Ripening of fruit and its effect on index of infestation of Hawaiian papayas. J. Econ. Entomol. 75: 173-178.

Seyoum, A., Pålsson, K., Kunga, S., Kabiru, E.W., Lwande, W., Killeen, G.F., Hassanali, A. and Knols, B.G.J. 2002. Traditional use of mosquito-repellent plants in western Kenya and their evaluation in semi-field experimental huts against *Anopheles gambiae*: ethnobotanical studies and application by thermal expulsion and direct burning. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 96: 225-231.

Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. and Sukprakarn, C. 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the Control of stored-product insects. J. Stored Prod. Res. 33: 7-15.

Spitler, G.H., Armstrong, J.W. and Couey, H.M. 1984. Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status of commercial lemon. J. Econ.

Entomol. 77: 1441-1444.

Stowe, K. 1998. Experimental evolution of resistance in Brassica rapa: Correlated response of tolerance in lines selected for glucosinolate content. Evolution 52: 703-712.

Strauss, S.Y. and Agrawal, A. 1999. The ecology and evolution of tolerance to herbivory. Trends Ecol. Evol. 14: 179-185.

Ukeh, D.A., Birkett, M.A., Pickett, J.A., Bowman, A.S. and Mordue (Luntz), A.J. 2009. Repellent activity of alligator pepper, *Aframomum melegueta*, and ginger, *Zingiber officinale* against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. Phytochemistry, 6, 751-758.

Vivanco, J. M., Cosio, E., Loyola-Vargas, V. M., y Flores, H. E. 2005. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. Investigación y Ciencia 341: 68-75.

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

A8

Estrategias de ovoposición

María Josefina Ruiz y María Teresa Vera

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



En muchos insectos fitófagos, donde los estadios inmaduros carecen de la capacidad de trasladarse hacia nuevos hospederos, las hembras cumplen un rol fundamental en la supervivencia de los estados inmaduros al ser las encargadas de proveer a su progenie de un ambiente adecuado en el cual desarrollarse. Debido a esto, se esperaría que la preferencia de las hembras por el hospedero coincida con la calidad del mismo (Gripenberg *et al.* 2010). Este comportamiento estaría bajo presión de selección natural y será más o menos eficiente en función de las capacidades de la hembra para poder discernir entre un hospedero de buena y baja calidad. Existen estudios que confirman esta correlación (Chew 1975, 1977; Feeny 1975; Rausher 1979, 1980; Wiklund 1974, 1975). Sin embargo, otros estudios demostraron que el rango de plantas aceptadas por las hembras para oviponer es más estrecho que el adecuado para las larvas (Chew 1975, 1977; Wiklund 1975; Courtney 1981) y que en algunos casos el comportamiento de oviposición parece ser incorrecto ya que se utilizan especies vegetales donde el desarrollo no se completa (Fitt 1986) o no se ve favorecido (Valladares & Lawton 1991).

En moscas de los frutos (Diptera: Tephritidae) existen trabajos donde se muestran que las hembras deciden en qué fruta oviponer en función de la calidad del hospedero para el desempeño de sus larvas (Fitt 1981, Joachim-Bravo *et al.* 2001, Fontellas-Brandalha y Zucoloto 2004). Se comprobó también, que la cantidad y calidad de los nutrientes disponibles para las larvas tienen un gran efecto en el tamaño y tiempo de desarrollo de las mismas, en el peso de la pupa como en la probabilidad de emergencia y en la capacidad reproductiva de los adultos (Carey 1984; Krainacker *et al.* 1987; Economopoulos *et al.* 1990; Chang *et al.* 2000; Kaspi *et al.* 2002). Para el caso de *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann), se observó en otros hospederos no cítricos, que el comportamiento de oviposición variaba en función de la especie frutal (Oroño 2010, Ruiz *et al.* 2015).

Entre las señales que utilizan las hembras de las moscas de los frutos para localizar y acceder a los sitios de oviposición, las señales químicas de las plantas juegan un rol esencial (Fletcher y Prokopy 1991). Una vez que la hembra recibe dichas señales, la información es procesada en el cerebro y transformada en una secuencia progresiva de pasos comportamentales asociados con la localización y utilización del hospedero (Bell 1990; Schoonhoven *et al.* 2005). De acuerdo a Janz (2002), son dos las decisiones a tomar por parte de las hembras,

la primera es la decisión que guía a la hembra a aproximarse y aterrizar en un hospedero (encuentro) y la otra es la decisión de oviponer en él (aceptación). Es aquí donde el contacto con el hospedero juega un rol preponderante y se evalúan características físicas y químicas de la planta que son detectadas por las sensilas del ovipositor permitiendo brindar información relacionada con el grado de maduración, el estado nutricional y las propiedades defensivas de los posibles hospederos (Jones 1991; Bernays y Chapman 1994; Schoonhoven *et al.* 2005).

Los aceites esenciales de la cáscara de los cítricos presentan compuestos que actúan como estimulantes de la oviposición (Levison *et al.* 2003). Ioannou *et al.* (2012) mostraron que las hembras de *Ceratitis capitata* (Wiedemann) son capaces de distinguir entre los volátiles emitidos por las distintas especies cítricas y que asimismo son capaces de diferenciar el grado de madurez de la fruta debido a la relación entre el linalol (presente en grandes cantidades en fruta inmadura) y el limoneno (presente en grandes cantidades en fruta madura), sugiriendo que estos compuestos actúan como señal de que la barrera química se encuentra debilitada, como sucede cuando la fruta está madura. Asimismo, existe evidencia de que algunas especies utilizan estrategias de oviposición que les permiten escapar de los compuestos tóxicos de la cáscara y así lograr con éxito el desarrollo. Por ejemplo *Anastrepha ludens* (Loew) completa el desarrollo en pomelo "Ruby Red" ya que debido a la longitud del ovipositor, esta mosca logra colocar los huevos en el albedo (región no tóxica de la cáscara) evitando así colocar los huevos en el flavedo (Birke *et al.* 2006).

Marchini (1982), en sus estudios de laboratorio sobre oviposición, y estructura del ovipositor de *C. capitata*, determinó que en la superficie del mismo hay órganos sensoriales de tres tipos; cerca del ápice, en posición dorsal, estarían los de tipo A; también cerca del ápice pero ventralmente estarían los de tipo B y en el resto del ovipositor (excepto cerca de la base) estarían dispersos los de tipo C. Los de A y B serían sensores químicos y/o táctiles mientras que los C cumplirían solamente una función táctil. En el mismo estudio, evaluó además la preferencia de oviposición utilizando fruta artificial con diferentes valores de pH (de 3 a 9), y demostró que un pH de 3 favoreció la oviposición, mientras que un pH de 6 actuaría como repelente. Por su parte estudios electrofisiológicos mostraron que las sensilas olfatorias de las antenas de *C. capitata* son sensibles al aceite de naranja (Hernández *et al.* 1996) y que altas dosis podrían tener efectos

alelopáticos tóxicos sobre los estados inmaduros de esta mosca de los frutos. Estos estudios permiten postular entonces que en moscas de los frutos existen receptores que les permiten a las hembras acceder a señales químicas tanto a distancia como en contacto.

Por su parte, Ruiz *et al.* (2015) muestran que bajo condiciones de elección, la hembra realiza más posturas en pomelo que en limón, hecho que se traslada a una mayor cantidad de huevos por fruta. Bajo condiciones de no elección, las posturas de limón igualaron a las de pomelo. Las posturas se ubicaron para ambas especies cítricas en las tres regiones de la cáscara, siendo mayor la cantidad de posturas en la región entre glándulas. El número de huevos por postura, sin embargo fue mayor en el

albedo. El porcentaje de eclosión estuvo influenciado por la ubicación de las posturas en limón pero no en pomelo. Los huevos puestos en las glándulas de limón presentaron un porcentaje de eclosión menor al 10% comparado con no menos del 80% de eclosión de los huevos puestos entre las glándulas de esta fruta mientras que en pomelo no hubo diferencias entre las regiones y los porcentajes fueron no menores al 70% y no se encontraron huevos turgentes en el albedo. Estos resultados permiten proponer que *A. fraterculus* identifica la especie cítrica y que modula las posturas en función de la misma y que dentro de una determinada especie cítrica ubica sus posturas en las regiones de la cáscara donde el desarrollo embrionario se ve favorecido, sugiriendo que esta especie de moscas de los frutos intenta maximizar su éxito reproductivo.

Bibliografía recomendada

Bell, W.J. 1990. Searching behavior patterns in insects. *Ann. Rev. Entomol.* 35: 447–467.

Bernays, E.A. and Chapman, R.F. 1994. Host Plant Selection by Phytophagous Insects. Chapman & Hall, New York, New York.

Birke, A., Aluja, M., Greany, P., Bigurra, E., Pérez-Staples, D. and McDonald, R. 2006. Long aculeus and behavior of *Anastrepha ludens* render gibberellic acid ineffective as an agent to reduce 'Ruby Red' grapefruit susceptibility to the attack of pestiferous fruit fly in commercial groves. *J. Econ. Entomol.* 99: 1184–1193.

Carey, J.R. 1984. Host specific demographic studies of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Ecol. Entomol.* 9: 261–270.

Chang, S.T., Wang, S.Y. and Cheng, S.S. 2000. Environmental effects on the color of sugi (*Cryptomeria japonica* D. Don) heartwood. *J. Wood Sci.* 46: 390–394.

Chew, F.S. 1975. Coevolution of pierid butterflies and their cruciferous foodplants. I The relative quality of available resources. *Oecologia*

(Berlin) 20: 117–127

Chew, F.S. 1977. Coevolution of pierid butterflies and their cruciferous foodplants II. The distribution of eggs on potential food plants. *Evolution* 31: 568–579

Courtney, S.P. 1981. Coevolution of Pierid butterflies and their cruciferous food plants III. *Anthocaris cardamines* (L) Survival, development and oviposition on different hostplants. *Oecologia* (Berlin) 51: 91–96.

Economopoulos, A.P. Al-Taweel, A. and Bruzzone, N.D. 1990. Larval diet with a starter phase for mass-rearing *Ceratitidis capitata*: substitution and refinement in the use of yeasts and sugars. *Entomol. Exp. Appl.* 55:239–246.

Feeny, P. 1975. Biochemical coevolution between plants and their insect herbivores. In: Gilbert LE, Raven PH (eds) *Coevolution of animals and plants*. University of Texas Press, pp 3–19.

Fitt, G.P. 1986. The influence of a shortage of hosts on the specificity of oviposition behaviour in species of *Daeus* (Diptera: Tephritidae). *Physiol Entomol.* 11: 133–143.

Fletcher, B.S. and Prokopy, R.J. 1991. Host location and oviposition in tephritid fruit flies. *Reproductive Behaviour of Insects* (ed. By W. J. Baily and J. Ridsdill-Smith), pp. 139–171. Chapman & Hall, New York, New York.

Fontellas-Brandalha, T.M.L. and Zucoloto, F. S. 2004. Selection of oviposition sites by wild *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera: Tephritidae) based on the nutritional composition. *Neotrop. Entomol.* 33: 557–562.

Gripenberg S., Mayhew P.J., Parnell M., Roslin T. 2010. A meta-analysis of preference–performance relationships in phytophagous insects. *Ecology letters* 13: 383–393.

Hernández, M.M., Sanz I., Adelantado, M., Ballach, S., and Primo, E. 1996. Electroantennogram activity from antennae of *Ceratitidis capitata* (Wied) to fresh orange airborne volatiles. *J. Chem. Ecol.* 22:1607–1619.

Ioannou, C.S., Papadopoulos, N.T., Kouloussis, N.A., Tananaki, C.I. and Katsoyannos, B. I. 2012. Essential oils of citrus fruit stimulate oviposition in the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis*

capitata (Diptera: Tephritidae). *Physiol. Entomol.* 37: 330–339.

Janz, N. 2002. Evolutionary ecology of oviposition strategies. *Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition* (ed. by M. Hilker and T. Meiners), pp. 349–376. Blackwell Verlag GmbH, Germany.

Joachim-Bravo, I.S., Fernandes, O.A., De Bortoli, S.A. and Zucoloto F.S. 2001. Oviposition behavior of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae): association between oviposition preference and larval performance in individual females. *Neotrop. Entomol.* 30(4):559–564.

Jones, R.E. 1991. Host location and oviposition on plants. *Reproductive Behaviour of Insects* (ed. by W. J. Baily and J. Ridsdill-Smith), pp. 108–138. Chapman & Hall, New York, New York.

Kaspi, R., Mossinson, S., Drezner, T., Kamensky, B. and Yuval, B. 2002. Effects of larval diet on development rates and reproductive maturation of male and female Mediterranean fruit flies. *Physiol. Entomol.* 27: 29–38.

Krainacker, D.A., Carey, J.R., Vargas, R.I. 1987. Effect of larval host on life history traits of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Oecologia* 73: 583–590.

Levinson, H., Levinson, A. and Osterried, E. 2003. Orange-derived stimuli regulating oviposition in the Mediterranean fruit fly. *J. Appl. Entomol.* 127: 269–275.

Marchini, D. 1982. Laboratory studies on oviposition, and on the structure of the ovipositor, in the Mediterranean Fruit Fly *Ceratitis capitata* (Wied.). Tesis de doctorado. University of Manchester.

Oroño, L.E. 2010. Ecoecología de *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) en la selva subtropical de montaña (Yungas) de la provincia de Tucumán. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán.

Rausher, M.D. 1979. Larval habitat suitability and oviposition preference

in three related butterflies. *Ecology.* 60: 503–511.

Ruiz, M.J., M.L. Juárez, R.A. Alzogaray, F. Arrighi, L. Arroyo, G. Gastaminza, E. Willink, A. Bardón, M.T. Vera. 2015. Oviposition behaviour and larval development of *Anastrepha fraterculus* (Wiedemann) from Argentina in citrus. *Ent. Exp. Appl.* DOI: 10.1111/eea.12357.

Schoonhoven, L.M., van Loon, J.J.A. and Dicke, M. 2005. *Insect-Plant Biology*, 2nd edn. Oxford University Press, U.K.

Valladares and Lawton 1991. Host-Plant Selection in the Holly Leaf-Miner: Does Mother Know Best? *J Animal Ecology* 60(1): 227–240.

Wiklund, C. 1974. Oviposition preferences in *Papilio machaon* in relation to the host plants of the larvae. *Entomol. Exp. Appl.* 17:189–198.

Wiklund, C. 1975. The evolutionary relationship between adult oviposition preferences and larval host range in *Papilio machaon*. *Oecologia.* 18: 185–197

Sistemas de mitigación del riesgo

María Elvira Villagrán y Lucrecia Augier

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

Un sistema “approach” (SA) es definido como “la integración de prácticas en la pre y post- cosecha usadas durante la producción, cosecha, empaque y transporte de un producto que acumulativamente alcanza las exigencias de seguridad cuarentenaria. Integra factores biológicos, físicos y operacionales que pueden afectar la incidencia, viabilidad y potencial reproductivo de una plaga dentro de un sistema de prácticas y procedimientos que juntos proveen seguridad cuarentenaria” (Jang & Moffit, 1994). En cada paso de los procedimientos, la seguridad cuarentenaria va aumentando hasta alcanzar los valores requeridos por las exigencias de protección vegetal de los países importadores.

Por décadas los tratamientos cuarentenarios han utilizado sustancias químicas y a partir de los años 80, como alternativa a éstos, se desarrollaron tratamientos físicos tales como frío, calor y radiación de alta energía. Desde los años 90 se buscaron alternativas con una base ecológica más concreta y se elaboró el concepto de un sistema de integración de todas las informaciones disponibles desde el punto de vista biológico, ecológico y de aspectos operacionales.

Este sistema representa una gran evolución de los tratamientos cuarentenarios que se basan exclusivamente en el probit 9 como nivel de seguridad. Por ejemplo, en los tratamientos para frutos infestados con moscas de los frutos se requiere demostrar que la mortalidad es al menos del 99,9968 % (Probit 9) o no más que 32 insectos vivos por millón de insectos tratados (Baker, 1939). En muchas situaciones, la información biológica acerca de la plaga (conocimiento de la relación hospedero-plaga) y la incorporación de factores operacionales específicos es suficiente para conducir a una seguridad cuarentenaria. En algunos casos sólo con esta información se puede proveer la estructura para la certificación sin la necesidad de un tratamiento directo.

Es imprescindible contar con un estudio preciso de la biología de la plaga y del producto; la relación hospedero-plaga permite planificar estrategias de control dando seguridad cuarentenaria. El conocimiento de la fenología del fruto y su madurez pueden indicar periodos estacionales específicos donde la infestación podría no ocurrir o sería baja. Además la asincronía planta-hospedero es otro criterio a tener en cuenta ya que revela los riesgos reales de infestación y por lo tanto permitiría

orientar hacia una adecuada selección de medidas preventivas.

Conceptos básicos que se deben considerar en un SA

1) El frutal donde se desea aplicar el concepto debe ser un hospedero no preferencial de las moscas de los frutos o que presente una resistencia al ataque de las moscas cuando esté verde.

Varios trabajos han demostrado que algunos hospederos presentan en su cáscara algunos compuestos químicos que inhiben la oviposición de las moscas de los frutos o son tóxicos para los huevos. A medida que madura el fruto disminuye su resistencia y se produce la infestación por Tefritidos. Por tal motivo, las frutas destinadas a la exportación no se cosechan sobremaduras para poder aplicar este sistema. De este modo, el ataque puede aún ser menor dependiendo de las acciones tomadas, que disminuirán el riesgo de infestación.

2) Cuando la población de la plaga en el campo de producción comercial es de baja densidad, significa que ella ejercerá una menor presión de ataque, disminuyendo la infestación y consecuentemente el riesgo cuarentenario. Por lo tanto asociando la resistencia del producto a la baja incidencia de la plaga en una quinta, se aumenta la seguridad cuarentenaria.

El concepto de baja densidad es relativo y debe ser analizado dentro de todo el proceso que se va a implementar. De modo general podemos establecer que un nivel aceptable de población de moscas en una quinta comercial no debe sobrepasar un MTD de 0,428 que equivale a 3 moscas/trampa/semana. Este nivel es aplicado tanto para trampas Mc Phail como para Jackson con trimedlure esta última específica para *C. capitata* (Malavasi *et al.*, 1994).

3) Es una condición absolutamente indispensable que las áreas que se destinan a la exportación sean administradas dentro de un alto patrón técnico agrícola. La fruticultura como la más sofisticada actividad agrícola requiere buen reparo de sus técnicos, elevada mano de obra y planeamiento cuidadoso. Al contrario de otros productos que pueden ser estacionados por largos periodos, producirse en sistemas altamente mecanizados y formar parte de la dieta diaria del ser humano, la fruticultura es bastante tecnificada y tiene que comercializar su producto en periodos de tiempo relativamente cortos.

Dentro del concepto de SA, los procedimientos establecidos para la producción, empaque y transporte deben ser seguidos rigurosamente ya que pueden comprometer todo el proceso. La aceptación de estos procedimientos por parte de los productores debe ser bastante profesional.

4) Dentro del SA, es necesario que los packings estén perfectamente adecuados a las exigencias del programa tales como: línea completa de procesamiento de fruta incluyendo paletización, áreas de empaque teladas y aisladas de las demás frutas, buena capacidad de almacenamiento en frío, sistema de carga rápido y eficiente.

Una buena paletización en el cargamento teniendo cuidado con los containers, es fundamental para garantizar la calidad final del fruto.

El transporte desde el área productora hasta el aeropuerto o puerto marítimo debe ser hecho en containers o camiones refrigerados, específicamente para esta finalidad.

5) Debe establecerse una buena comunicación entre los Servicios de Protección Vegetal de ambos países (exportador e importador).

Los SA, al contrario de los tratamientos cuarentenarios post- cosecha únicos o simples (como hidrotérmico, frío, radiación gama, etc.) involucran una serie de procedimientos que deben ser rigurosamente seguidos ya que puede perderse la seguridad cuarentenaria en sus diferentes etapas.

Requisitos para la implementación de un programa de SA

Los requisitos de un programa de SA consta de varias partes las cuales serán las responsables de la generación de conocimiento o la ejecución de acciones (Malavasi *et al.*, 1994):

- Investigación, por parte de empresas estatales de investigación agropecuaria, universidades, institutos de investigación, etc.
- Desarrollo, idem al anterior, más el sector privado.
- Extensión.
- Transferencia de tecnología, a través de empresas de investigación etc.
- Operacional, en el sector productivo.

Los principales elementos que se deben tomar en cuenta para la aplicación de un SA son los siguientes:

1. Biología de la especie clave: esta información es esencial para poder dar inicio al proceso.
2. Conocimiento sobre la biología de la infestación de la plaga clave: de la misma manera que en el ítem anterior esta información es crítica para tener idea si el programa será ejecutable.
3. Relevamiento poblacional de la especie clave: es un dato para tener idea de lo que existe en el área donde el concepto será aplicado.
4. Monitoreo poblacional de la especie clave: después del establecimiento del programa esta información es esencial para la toma de decisiones.
5. Fenología de la planta hospedera: esta información es importante que sea obtenida para saber las condiciones en que la fruta será producida. Hay grandes variaciones interregionales en la producción de plantas cultivadas. Ese conocimiento permite adaptaciones locales de los programas.
6. Química del fruto: Esto ayuda a entender los procesos de resistencia a los insectos.
7. Desarrollo de variedades resistentes.
8. Aumento de resistencia natural: por ejemplo, el empleo de hormonas reguladoras del crecimiento (ácido giberélico aumenta la resistencia natural de varias especies de frutas).
9. Inspección de cosecha: su aplicación correcta permite que los frutos sean llevados al packing, disminuyendo la tasa de frutos rechazados. La cosecha debe tener en cuenta el grado de maduración, color, resistencia y brix.
10. Limpieza de quintas: frutos maduros no colectados son más susceptibles al ataque de los Tefrítidos y caen al suelo volviéndose una excelente fuente de infestación. La cosecha de frutos maduros y su adecuada eliminación son importantes medidas.

Fases del sistema approach

El sistema approach tiene 5 fases distintas (Jang and Moffitt, 1994):

- 1- Prácticas de manejo integrado de plagas en el campo (MIP)

- 2- Prácticas de prevención durante la precosecha
- 3- En poscosecha, clasificación de los frutos.
- 4- Inspección y certificación de la fruta empacada.
- 5- Distribución del producto desde el packing hasta el lugar de destino.

1º Fase

El objetivo es reducir o limitar la población de la plaga en el campo mediante el empleo de medidas físicas, químicas y/o biológicas. Estas prácticas cuentan con el conocimiento inherente al estatus biológico de la plaga, considerando al hospedero en cuestión, dicha información es fundamental para poder realizar evaluaciones y poner en práctica los demás componentes del sistema. El estudio y muestreo de la plaga son utilizados en los programas del MIP para definir los umbrales o niveles de daño económico. Los modelos predictivos son provechosos para determinar el nivel inicial y la evolución de la población de la plaga, puesto que a partir de ellos se adoptan las diferentes medidas de control.

2º Fase

Se prevé el desarrollo de la plaga en el producto antes de ser cosechado. Esta etapa está basada en un buen conocimiento de la relación hospedero-plaga y por lo tanto de la biología de los mismos. Comprende además ciertos procedimientos tales como:

- a. Cosecha manual criteriosa: la cosecha debe ser hecha dentro de los patrones establecidos previamente en el plan de trabajo.
- b. Monitoreo poblacional: la población de las moscas debe ser continuamente monitoreada para asegurar que no pasó los niveles establecidos en el plan de trabajo.

3º Fase, con los siguientes procedimientos en post-cosecha

- a. Pre-inspección y limpieza: (procedimiento manual). Los frutos retirados de las cajas de cosecha son inspeccionados y se eliminan los frutos que presentan algún daño mecánico o alguna malformación de crecimiento.
- b. Selección: (procedimiento manual) los frutos son examinados y evaluados nuevamente en cuanto a su

calidad para un programa.

c. Lavado: (a través de equipamientos automáticos específicos) los frutos son lavados para la eliminación de suciedad adherida a la cáscara.

d. Control de enfermedades: contra enfermedades fúngicas o causadas por bacterias, también esto mata a los huevos de las moscas que están adheridos a la cáscara.

e. Secado: (automático) con ventiladores de aire caliente que ayuda a eliminar los huevos.

f. Aplicación de cera (automático) importante para aumentar el tiempo de permanencia en la góndola a través de la disminución de la transpiración del fruto, ayuda eventualmente a la eliminación de huevos y larvas que se puedan encontrar en el fruto.

g. Inspección pre-embarque (manual) inspección realizada por las autoridades fitosanitarias del país importador, exportador o de ambos dependiendo del acuerdo realizado.

h. Empaque: (manual) los frutos son individualmente embalados en papel y colocados en cajas de cartón.

i. Paletización (manual o automática) procedimiento rutina. Cuando los palets no son transportados en los containers, deberán ser totalmente protegidos por tela plástica, o malla antiáfida.

j. Almacenamiento: en frío: los palets deben ser guardados en cámaras de frío con temperaturas controladas según la fruta, antes del destino final al supermercado, mercados etc.

k. Tránsito por tierra/mar/aire: cuando la carga es transportada en containers refrigerados por algunos días antes de su destino final, ese período de tiempo también funciona para eliminar eventuales larvas del interior de los frutos.

4º Fase

La inspección es llevada a cabo por el país importador a través de su organismo fitosanitario, con el fin de eliminar cargas que no respondan a los requisitos de seguridad cuarentenaria.

5º Fase

Corresponde al marketing y distribución del producto dentro del país importador. Esta etapa no ha sido

considerada de gran importancia y sin embargo también forma parte del conjunto de medidas tendientes a mitigar el riesgo de infestación.

Beneficios del sistema "approach" (SA)

Históricamente la mayoría de los tratamientos cuarentenarios se han enfocado en los componentes post-cosecha de los sistemas como punto de partida en el desarrollo de tratamientos directos. La falta de conocimiento específico de los componentes producción y precosecha incide en los niveles de infestación a campo e impide el desarrollo de sistemas verdaderos, conduciendo a tratamientos donde se asume niveles de infestación máxima.

Sistemas "approach" desarrollados en Argentina

Para la exportación de palta var Hass de Argentina (Famaillá, Tucumán) a Chile, se desarrolló un plan de trabajo para garantizar que los envíos de fruta no presentaran riesgo cuarentenario con respecto a *Anastrepha fraterculus* y *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Para dar cumplimiento a las exigencias cuarentenarias, en 1998 se establecieron entre los Servicios Fitosanitarios de ambos países dos medidas cuarentenarias: un tratamiento cuarentenario combinado de bromuro de metilo y frío para *Ceratitis capitata* y un sistema integrado de prácticas de mitigación del riesgo ("System approach") para *Anastrepha fraterculus* (Villagrán & Willink, 2003). Este sistema comprende una serie de medidas basándose en la resistencia de la palta var. Hass al ataque de las moscas de los frutos. Entre estas medidas se incluye:

a) monitoreo de adultos, para lo cual se distribuyeron trampas tipo Mc Phail y Jackson en las parcelas inscriptas para la exportación y en las del área circundante. Las trampas se revisan semanalmente, los resultados de las muestras que procesa la EEAOC, se informan al SENASA (Servicio Nacional de Calidad Agroalimentaria) de Argentina el que a su vez lo hace al SAG (Servicio Agrícola y Ganadero) de Chile. Se estableció el valor de 0.14 como máximo valor de MTD (moscas/trampa/día), si se supera este límite se deben tomar medidas correctivas y el lote cae hasta que las capturas vuelvan a los valores permitidos.

b) Muestreo de frutos de cada sitio trampa y del suelo. c) Inspecciones post-cosecha, esto incluye inspecciones y muestreo del 2% de los frutos de cada embarque de exportación que llega a la empacadora, para determinar la eventual presencia

de larvas de las moscas. Este método se desarrolló sin dificultades y permitió las exportaciones a Chile durante 9 campañas, no obstante a partir de su implementación, en la EEAOC se desarrollaron estudios para evaluar el riesgo real de infestación de la palta Hass con *C. capitata* (Willink & Villagrán, 2007). Los resultados de estas investigaciones sirvieron de base para que el SENASA solicitara al SAG la modificación del protocolo de exportación. Dichas modificaciones se realizaron en el trapeo de moscas de los frutos, para lo cual se bajó el MTD a un máximo de 0,10 por parcela. Si bien lo hace más exigente al sistema, se consiguió además eliminar el tratamiento con bromuro de metilo y/o frío para *C. capitata*, siempre y cuando no se registren larvas vivas de esta mosca en el muestreo de frutos en el campo, en el empaque y en el punto de ingreso a Chile (SENASA & SAG, 2008).

Otro ejemplo de la aplicación de un SA fue el que permitió a la fruta cítrica del Noroeste Argentino lograr en el año 2000 el acceso al mercado de EEUU. Luego de prolongadas negociaciones entre el APHIS (Servicio de Inspección de Sanidad Animal y Vegetal del Departamento de Agricultura de Estados Unidos) y el SENASA se acordó la implementación de un sistema de mitigación de riesgo o "System approach" para la certificación de lotes de pomelos, limones y naranjas de la región del NOA sin mancha negra y sarna del naranjo dulce. Actualmente el mercado norteamericano estableció otras exigencias para aceptar la importación de cítricos de nuestra región. El APHIS propuso un protocolo de exportación, dentro del mismo se considera un sistema de mitigación de riesgo para prevenir una serie de plagas y enfermedades. Con respecto a las plagas (artrópodos), algunas están ausentes en nuestra región, pero quedan sujetas a regulación, como es el caso del ácaro *Brevipalpus chilensis* para el cual se requiere certificación de sitio libre (previo monitoreo a campo, antes de empezar el período de cosecha), o en el caso de la Mosca del Mediterráneo *C. capitata*, presente en nuestra zona y que deberá ser monitoreada mediante el uso de trampas. También está sujeta a regulación la presencia de dos lepidópteros, *Cryptoblabes gnidiella* y *Gymnandrosoma aurantianum*, y ácaros del género *Brevipalpus* (*B. californicus*, *B. phoenicis* y *B. obovatus*), para todos los casos se deberá emitir un certificado para probar que la partida está libre de esas plagas.

Dentro del mercado citrícola la demanda de China es considerada un punto importante en los últimos años. Para dar cumplimiento a las exigencias de este

mercado, con respecto a los cítricos dulces (naranjas, pomelos y mandarinas) fue necesario mantener la trazabilidad de la fruta en todos los puntos. Para esto se elaboró un protocolo de requisitos fitosanitarios para mosca de los frutos entre el SENASA de Argentina y la AQSIQ (Administración de Supervisión de Calidad, Inspección y Cuarentena) de la República Popular China.

Los pasos comienzan con la etapa de registro: los productores deben registrarse anualmente inscribiendo sus fincas y lotes que destinen a la exportación adquiriendo un código de identificación. Etapa de campo: esta implica un manejo fitosanitario y un monitoreo. En el primero se incluyen las prácticas de manejo recomendadas para la mitigación del riesgo de la plaga de interés para China. En los lotes inscriptos se colocan trampas Jackson y McPhail (1 trampa cada 10 has, con un mínimo de 1 por lote inscripto). El segundo implica la revisión semanal y registro de datos de trapeo. Etapa de cosecha: en esta etapa los productores deben tener cuidado de no mezclar fruta en envases de distintos lotes. Etapa de empaque: se realizarán inspecciones permanentes a fin de asegurar que la fruta procesada corresponda sólo a lotes habilitados para la exportación y de constatar que las partidas no excedan el 1% de larvas vivas. Etapa de puerto: el inspector del SENASA verificará la documentación e identificación de los pallets y realizará la inspección final de la partida para la emisión del certificado.

Internacionales

Para exportar paltas "Sharwil" de Hawai a USA se implementó un sistema para dar seguridad cuarentenaria, (Armstrong, 1991). Este sistema consistió en: cosechar fruta con pedúnculo y transportarlos al packing dentro de las 12 hs. bajo garantías cuarentenarias de estar libre de moscas de los frutos, descartar la fruta dañada mediante la clasificación y selección antes del empaque, realizar una inspección final y certificación. Este sistema se basó en el hecho de que el fruto de palto "Sharwil" no es hospedero de la mosca de los frutos cuando está en el árbol (Armstrong *et al*, 1983; Armstrong 1991).

Curtis *et al*. (1991) reportaron que *Cydia pomonella*

(Lepidoptera: Tortricidae) raramente se encuentra en los nectarinos californianos (basándose en los resultados de los trapeos precosecha y el muestreo poscosecha de frutas elegidas y empacadas). Llegaron a calcular que el número más alto de larvas de la polilla que podrían estar presentes en un cargamento transoceánico (27.500 y 81.500 frutos por container) era de 0,65-1,94 larvas por cargamento. Basándose en este dato, menos de 24 larvas deberían ser encontradas por 1 millón de nectarinos en un 95% de las veces, lo cual excedería el nivel probit 9 de seguridad cuarentenaria. Sugirieron un sistema cuarentenario para los nectarinos a fin de dar seguridad cuarentenaria sin la necesidad de aplicar un tratamiento directo poscosecha. Este sistema incluye la inspección en el packing de fruta cosechada, dando énfasis al descarte de fruta dañada por la polilla y una inspección/certificación final de los nectarinos en las cajas destinadas a exportación.

Consideraciones finales

La aceptación de los procedimientos de un SA por parte de los productores debe llevar a una acción estrictamente profesional ya que ellos son los principales interesados y beneficiados en la comercialización de sus productos tanto a nivel nacional como internacional.

Al involucrar una serie de procedimientos secuenciales, el sistema exige ser riguroso también desde el punto de vista del cumplimiento de las etapas ya que podría perderse la seguridad cuarentenaria en algunas de ellas.

Al implementar este sistema es necesario una eficiente y fluida comunicación entre los funcionarios de las agencias involucradas, fundamental para el éxito del programa.

Los SA son sistemas cuarentenarios que implican un conocimiento profundo de la plaga y su relación con el hospedero, proponiendo esfuerzos de manejo que garantizan, sin la aplicación de un tratamiento único, la necesaria seguridad cuarentenaria, con el beneficio para el fruto a exportar.

Bibliografía recomendada

Armstrong, J. W. 1991. "Sharwil" avocado: Quarantine security against fruit fly infestation in Hawaii. J. Econ. Entomol 84:1308-1315.

Armstrong, J.W., W.C. Mitchell & G.J. Farias .1983. Resistance of "Sharwil" avocados at harvest maturity to infestation by three fruit fly species in Hawaii. J. Econ. Entomol. 76:199-121.

Baker, A.C. 1939. The basis for treatment of products where fruit flies are involved as condition for entry into the United states. USDA Circular 551.

Curtis, C.E., J.D. Clark & J.S. Tebbets. 1991. Codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) incidence in packed nectarine fruit. J. Econ. Entomol. 84: 1686-1690.

Jang, E. B. & H. R. Moffitt. 1994. Systems approaches to achieving quarantine security. IN: 1. L. Sharp and G. J. Hallmand (eds.), Quarantine treatments for pest of food plants. Westview Press, Denver, Colorado.

Malavasi, A., G. G. Rohwer & D. S. Campben. 1994. Fruit fly free areas: strategies to develop them. IN: C. O. Calkins, W. Klassen and P. Liedo (eds), Fruit Flies and the Sterile Insect Technique. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) & Servicio Agrícola y Ganadero (SAG). 2008. Plan de trabajo para la exportación de fruto de palto *Persea americana* variedad Hass de la República Argentina

con destino a Chile. [En línea]. Disponible en: http://www.senasa.gov.ar/requisitos_fitosanitarios/archivos/protocolos/Chile_1_PlanTrabajoparaExportaciondePaltaHassaChile2008.pdf. (Consultado 13/10/16).

Villagán, M. E. & E. Willink. 2003. Sistema "Aproach" para exportar palta Hass a Chile: 5 años de implementación. Av. Agroindustrial 24 (1): 24-26.

Willink, E. & M. E. Villagrán. 2007. Evaluation of quarantine risk of introduction of *Ceratitis capitata* in Hass avocados from Argentina. [En línea]. Disponible en: <http://www.avocadosource.com/WAC6/es/extenso/2a-58.pdf> (Consultado 13/10/16)

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

C1

Desarrollo de un tratamiento cuarentenario

Eduardo Willink



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



El desarrollo de un tratamiento cuarentenario debe contener una serie de pasos, que están bastante estandarizados, y no difieren sustancialmente entre los diferentes países. En la Norma Internacional Medidas Fitosanitarias (NIMF) 28 se encuentran los detalles de los requisitos necesarios para que un tratamiento cuarentenario sea aprobado para su uso a nivel internacional. Se detallan a continuación algunos de los aspectos más importantes a tener en cuenta.

Especie/s plaga

La definición de la/s especie/s plaga/s es fundamental. Es necesario definir si se trabajará con una sola especie plaga, o con diferentes especies. La/s plaga/s deberán ser identificadas taxonómicamente a nivel de especie por especialistas y se deben conservar adecuadamente ejemplares "voucher" en una colección que tenga las instalaciones adecuadas para su conservación.

Cría de la plaga: debe ser representativa de la población presente en el campo, tratando que sus parámetros biológicos sean los más parecidos a la población natural.

La colonia fundadora (moscas de los frutos) debe superar los 1000 individuos cuando la proporción de sexos es 1:1, para desarrollar una población genéticamente cercana a la población natural. Si la plaga es polífaga y está ampliamente distribuida, es importante coleccionar material de diferentes hospederos y zonas geográficas. Existen casos en los que la abundancia de la plaga y/o su cría no permite altos números (algunos coleópteros en madera).

Anualmente se debe incorporar a cría de laboratorio, material salvaje para mantener la diversidad genética de la población de laboratorio y evitar la endocria. Existen métodos para garantizar la incorporación de sangre salvaje, especialmente en moscas de los frutos, mediante el cruzamiento de los machos salvajes con las hembras de laboratorio y viceversa, con lo que se consigue un 50% de sangre salvaje. Si se repite el proceso, cruzando esa filial con otra salvaje se logra un 75% y así sucesivamente. Si este proceso se repite 4 veces consecutivas, se obtiene una cría con 93,75% de sangre salvaje.

Se debe monitorear la calidad de la cría en forma permanente. Para moscas de los frutos generalmente se evalúan los siguientes parámetros: porcentaje de emergencia, peso de pupas, tiempo de desarrollo, porcentaje de eclosión, relación sexos, fecundidad.

Manejo de la cría: debe realizarse de forma tal de poder contar oportunamente con todos los estados o estadios necesarios para infestar la fruta en su máximo vigor.

Si se desarrollará el tratamiento para más de una especie, en pruebas de pequeña escala se deberá identificar cuál de ellas es la más tolerante al tratamiento.

Hospedante (artículo reglamentado)

El hospedante sujeto al tratamiento debe ser definido botánicamente, y claramente identificadas las características de las variedades o cultivares que puedan afectar el tratamiento, (ejemplo: en mango, es importante definir tamaño (peso) y formas en diferentes variedades).

Las condiciones del hospedante debe reflejar la variabilidad que se puede esperar en los lotes de exportación. La calidad del mismo debe ser equivalente a la calidad de exportación y no debe haber sido sometido a tratamientos con insecticidas, fungicidas, u otros químicos como tinturas, jabones o ceras. Si el huésped hubiese sido tratado, habría que demostrar que el tratamiento no es afectado por esas sustancias.

Si se desarrollara el tratamiento para más de una especie hospedera, en pruebas de pequeña escala se deberá identificar cuál de ellas es la más tolerante al tratamiento. Si se desarrollara el tratamiento para más de una variedad, habría que considerar si hay evidencias o razones que permitan suponer que existe una susceptibilidad diferencial entre las mismas, en cuyo caso se deberá identificar cuál de ellas es la más tolerante al tratamiento en pruebas de pequeña escala. Dentro del Panel Técnico de Tratamientos Fitosanitarios de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria, FAO se adoptó el criterio de que en cítricos, las variedades dentro de las especies, no presentan diferencias en la tolerancia a los tratamientos cuarentenarios físicos.

Infestación

Se puede realizar por infestación artificial implantando un número definido de individuos en la fruta o por infestación natural forzada. Se debe siempre seleccionar el método de infestación natural, pero en caso que no sea posible o conveniente por alguna razón específica, hay que demostrar que los resultados con la infestación artificial son equivalentes a la natural.

Algunos de los problemas de la infestación artificial son: daño por manipuleo de los individuos, ubicación no natural del estadio en la fruta (huevos), excesivo daño a la superficie de la fruta, historias de vida diferentes con la infestación de estadios tardíos, como por ejemplo, larvas criadas en dietas artificiales y luego inoculadas en la fruta en estadios más avanzados. En la infestación natural se debe tener en consideración la sobre o sub-infestación de la fruta, además de que cuando se trabaja con estadios larvales avanzados, el deterioro de la fruta puede ser muy grande.

La tasa de infestación del huésped no debería afectar la tolerancia del insecto al tratamiento, o modificar el huésped alejándolo de las condiciones en las que se comercializan.

Determinación de mortalidad

Un aspecto importante a determinar antes de realizar el tratamiento cuarentenario es el criterio de valoración para la mortalidad. Esto depende por un lado, del tipo de tratamiento y por otro del investigador. Es así que para los tratamientos de irradiación se usan varios criterios: mortalidad, prevención del desarrollo (por ejemplo: no emergencia del adulto), inhabilidad para reproducirse (esterilidad) e inactivación. En el caso de los tratamientos térmicos, se usan generalmente dos criterios: mortalidad directa de larvas (larva con movimiento = larva viva) o imposibilidad de empupar, siendo el primer criterio más adecuado y exigente desde el punto de la vigilancia fitosanitaria.

Metodología experimental

Para que el desarrollo de un tratamiento sea eficiente para el control cuarentenario de una o más plagas, es necesario tener en cuenta las exigencias del país importador, especialmente en los niveles de eficacia solicitados, y la consulta a estadísticos para determinar parámetros como: tamaño y mortalidad en los controles, número de repeticiones, comparaciones entre tratamientos, etc.

Generalmente el desarrollo del tratamiento incluye 3 tipos de ensayos: 1) estudios de desarrollo de la plaga en el huésped, 2) ensayos de pequeña escala y 3) ensayos de gran escala.

1. Estudios de desarrollo

El tiempo de desarrollo de cada estado y estadio

en los frutos de experimentación se debe conocer para saber en qué momento se está tratando un determinado estadio. Esto se puede realizar con bastante precisión si es que el tiempo de oviposición se mantiene al mínimo necesario para conseguir la cantidad necesaria de huevos, y manteniendo la temperatura y humedad controladas. El tiempo de muestreo debe basarse en los tiempos mínimos necesarios para detectar cambios en los estados de desarrollo.

2. Ensayos de pequeña escala

Se realizan para determinar los siguientes parámetros: a) determinación de la especie plaga y estadio más resistente al tratamiento: si se trata de desarrollar un tratamiento para un complejo de especies, hay que determinar el estadio más tolerante para la especie más tolerante; b) determinación de la condición del huésped (forma, tamaño, variedad) que ofrece mayor tolerancia al tratamiento; c) la condición dosis-tiempo de exposición necesaria para controlar la plaga en el nivel preestablecido. Para los puntos a y b, se realizan pruebas a través de diferentes dosis (por lo menos 5) para cubrir un gran rango de mortalidades para los estadios de la plaga y huésped, de acuerdo a lo necesario. Se realiza el análisis de los resultados usando un modelo de respuesta a la dosis como probit o logit con los datos de mortalidad. La comparación de los estadios se debe realizar en puntos de mortalidad equivalentes (por ej. DL50). Para el punto c, en el que se determina el tratamiento, se realizan pruebas con diferentes dosis y tiempos de exposición. El nivel de eficacia requerida se pacta previamente con las autoridades de la ONPF (Organizaciones Nacionales de Protección Fitosanitaria) del país exportador. El método para predecir el tratamiento requerido incluyendo cualquier análisis estadístico debe ser plenamente explicado y justificado. Se puede hacer basándose en una regresión con sus límites fiduciales, pero otros países exigen realizar tests de pequeña escala con 3.000 a 5.000 individuos para predecir que el tratamiento tiene la eficacia requerida. Es conveniente en esta etapa considerar también el efecto del tratamiento sobre la calidad de la fruta.

3. Pruebas de gran escala

También llamados de confirmación o bajo condiciones operativas, se realizan para confirmar que el tratamiento seleccionado es efectivo, para lo que se debe usar un gran número de individuos, con repeticiones, dependiendo los números a tratar de los países importadores. Estas pruebas se deben

realizar en las condiciones en las que se realiza la comercialización del commodity (condición de la fruta, embalaje, paletización, etc.).

Calidad de la fruta

El efecto del tratamiento propuesto sobre el huésped considerado debe ser tenido en cuenta, considerando la apariencia externa e interna, características organolépticas, problemas fisiológicos y desarrollo de patógenos.

Equipamiento y monitoreo. Parámetros

Las cámaras y equipamiento deben asegurar un control adecuado de las condiciones establecidas durante el tratamiento.

El equipamiento debe poder medir la temperatura en los tratamientos térmicos, las dosis en las fumigaciones e irradiación, y su evolución a través del tiempo de exposición.

Los instrumentos de control deben ser lo suficientemente precisos como para poder registrar la fluctuación alrededor de los parámetros establecidos fijados con antelación, como por ejemplo más o menos 0,5°C en tratamiento térmicos. El equipamiento y los instrumentos de control deben estar certificados y/o calibrados.

Se establecerá en cada caso el lapso de tiempo entre registros de los parámetros. El registro debe realizarse donde está ubicada la plaga, o en el lugar más frío (tratamiento con calor) o el más caliente (tratamiento con frío).

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

C2

Uso de las radiaciones ionizantes con fines cuarentenarios

**Armando Allinghi, María Verónica Yusef,
Gerardo Gastaminza, Beatriz Carrizo, M.
Elvira Villagrán, Andrea Oviedo.**



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

Los isótopos radiactivos y la radiación gamma se han utilizado en el campo de la entomología, principalmente para estudios de biología, comportamiento, combate autocida de insectos plagas a través de la técnica del insecto estéril (TIE) y como tratamiento cuarentenario.

En este último caso, el proceso consiste en el tratamiento de productos con energía ionizante, (incluye ondas de radio, radar, microondas, infrarrojo visible, rayos ultravioleta, rayos X y rayos gamma). Los tipos de energía ionizante más importantes son:

- Rayos gamma (fuente de cobalto-60 o cesio-137),
- acelerador de electrones con energía máxima de 10 MeV,
- Rayos x, con una energía máxima de 5 MeV (límites establecidos por el Codex Alimentarius, CODEX STAN 106-1983, REV. 1-2003).

Los rayos X y gamma son los tipos de energía ionizante más efectivos para uso cuarentenario, porque penetran fácilmente el producto, sin embargo a pesar que los dos causan un efecto similar, los rayos gamma son los más utilizados debido a las altas energías que poseen. Los rayos gammas constituyen un tipo de radiación ionizante capaz de penetrar la materia más profundamente que la radiación alfa o beta por carecer prácticamente de masa. Dada su alta energía pueden causar grandes daños al núcleo de las células, por lo que son utilizados en la esterilización de equipos médicos y en diversos productos alimenticios.

El cobalto 60 (^{60}Co) es el emisor de radiación gamma frecuentemente más utilizado para el control cuarentenario o para esterilizar insectos.

El ^{60}Co emite dos rayos gamma principales, las energías de estos fotones gamma más frecuentes, en orden decreciente de su probabilidad relativa de emisión son de 1332 y 1173 Kev ($1\text{ Kev} = 1.6 \times 10^{-9}\text{ erg}$). La unidad de radioactividad expresa el número de desintegraciones (o de emisión de radiación) por unidad de tiempo. Actualmente la unidad utilizada es el Becquerel (Bq). Un Bq es definido como la actividad de aquella cantidad de una sustancia radiactiva que emite una desintegración por segundo (dps). Antes se utilizaba el Curie (Ci) donde $1\text{ Ci} = 3.7 \times 10^{10}\text{ Bq} = 3.7 \times 10^{10}\text{ dps} = 37\text{ Gbq}$.

La dosis absorbida, es la energía promedio depositada por la radiación ionizante por unidad de

masa del material irradiado y su unidad es el Gray (Gy) donde $1\text{ Gy} = 1\text{ J.Kg}^{-1}$ (López Valdivia y Reyes Lujan, 1997).

Antecedentes de la utilización de las radiaciones con fines cuarentenarios.

En 1930 Koidsumi propuso que los rayos X podían ser utilizados como tratamientos cuarentenarios. Desde 1960 se han realizado numerosos estudios para determinar el efecto de la irradiación en diferentes plagas cuarentenarias. Los objetivos de estos estudios fueron desarrollar la información necesaria para dar el soporte científico a los tratamientos cuarentenarios propuestos y mejorar los conocimientos sobre los efectos de la irradiación en el desarrollo de los insectos. Así en 1966 Balock *et al.* propusieron la utilización de los rayos gamma provenientes de una fuente de cobalto 60, como tratamiento cuarentenario para moscas de los frutos provenientes de Hawai.

En 1970 la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la IAEA (Agencia Internacional de Energía Atómica) identificaron a la irradiación como un potencial tratamiento cuarentenario para desinfectar frutas afectadas principalmente con moscas de los frutos. Se analizaron los criterios requeridos para alcanzar la seguridad cuarentenaria, y las dosis a emplear.

A partir de 1980 la coordinación de los programas de la FAO y la IAEA pusieron especial mención en la elaboración de los códigos de prácticas para realizar los tratamientos con irradiación, en desarrollar tratamientos con dosis generales para cada una de las plagas; en realizar las investigaciones sobre los problemas de fitotoxicidad y en organizar cursos de entrenamientos para los inspectores cuarentenarios. También propusieron realizar ensayos para verificar que una plaga que ha sido irradiada es incapaz de reproducirse. En ese mismo año, la Organización Mundial de la Salud (OMS), la FAO y el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) determinaron como segura, una dosis máxima de 10 kGy en cualquier producto alimenticio (OMS, 1989). Posteriormente, en 1999 estas mismas instituciones reafirmaron que hasta esta dosis la inocuidad estaba asegurada. En 1986, 1992 y 1998, el Comité Científico de la Alimentación Humana, que fue transferido a la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en mayo de 2003, emitió dictámenes favorables para la irradiación de diferentes productos alimenticios. El Codex Alimentarius también ha hecho público informes a favor de este método.

En la década de los 80 un grupo de consultores internacionales sobre alimentos irradiados conformados por expertos de la FAO, IAEA y OMS (Organización Mundial de la Salud) establecieron que para el caso de los tephritidos dosis de 150 Gy podrían adoptarse como dosis mínima para evitar que los huevos y larvas tratados emergieran como adultos normales. Ellos determinaron una dosis genérica mínima necesaria de 300 Gy para alcanzar la seguridad cuarentenaria (99.9968 % de eficacia con un nivel de confianza del 95 %) en todos los estado de cualquier insecto, cuando hay ausencia de datos experimentales específicos (Bakri *et al.*, 2005).

En los EUA, la FDA (Administración Federal de Alimentos y Drogas) aprobó el uso de la radiación ionizante incluyendo la radiación gamma de fuentes de cobalto 60 y cesio 137 y los rayos X para la irradiación de alimentos a dosis inferiores a los 1000 Gy (Anónimo, 1984).

Las radiaciones ionizantes son un método eficaz para prolongar la vida útil de numerosos productos, evitar la brotación de bulbos, tubérculos y raíces, eliminar insectos para evitar su propagación en productos frutihortícola y granos, eliminar parásitos como la *Trichinella spiralis* en carne de cerdo, retardar la maduración de frutas, demorar el envejecimiento de productos como frutillas, champiñones y espárragos, prolongar el tiempo de comercialización de carnes y pescados frescos al reducir su contaminación microbiana, eliminar microorganismos patógenos no esporulados (excepto virus) causantes de enfermedades al hombre, como por ejemplo Salmonella en pollo y huevos, conservar alimentos sin desarrollo microbiano a temperatura ambiente durante años, como especias y aromáticas (Satin, 1997). La legislación de 40 países autoriza hoy el consumo de medio centenar de alimentos irradiados en todo el mundo (www.iaea.org/icgfi/data.htm)

La irradiación ha sido utilizada en Estados Unidos como tratamiento cuarentenario a nivel comercial desde 1995, y desde 2004 por Australia para la desinsectación de mangos con destino a Nueva Zelanda (Torres Rivero *et al.*, 2007). A modo de ejemplo se puede citar que Hawái irradia anualmente más de 7 millones de libras de batatas con destino a Estados Unidos (Peter Follet, comunicación personal).

Objetivo del tratamiento

La irradiación como medida fitosanitaria tiene como objeto prevenir la introducción o dispersión de plagas reglamentadas. Esto se puede lograr obteniendo

ciertas respuestas en las plagas objetivos:

- Mortalidad, en el caso que sea una plaga que sea vector de enfermedades
- Prevenir el desarrollo exitoso, por ejemplo inhibiendo la emergencia de adultos.
- Produciendo la incapacidad para reproducirse (esterilidad)
- La inactivación, en el caso que sean microorganismos.
- Desvitalización, procedimiento por el cual se elimina la capacidad de germinación, crecimiento o reproducción posterior de las plantas o productos vegetales.

Modo de acción

La utilización de las radiaciones con fines cuarentenarios se basan en producir la esterilización o muerte del insecto en los casos posibles a través del daño sobre el ADN.

Los rayos gamma producen alteraciones que lesionan las cadenas de ADN al colisionar con ellas, fracturándolas o desnaturalizando sus funciones. En general la máxima radiosensibilidad de una célula se presenta durante la mitosis y la máxima radioresistencia se presenta durante la síntesis de ADN. El efecto principal de la radiación es el daño genético letal que causa en las células, por lo tanto existe una relación entre la cantidad de material genético y el daño a la célula (Enkerlin Hoefflich *et al.*, 1997). El efecto de la radiación también depende de otros factores tales como densidad y composición del material que reciba el tratamiento, variaciones en la forma y el tamaño del producto, condiciones de irradiación (temperatura, humedad, atmósfera), hidratación, ploidía, fase del ciclo mitótico, edad, estado metabólico y raza o especie animal.

Las células más radiosensitivas son aquellas que presentan las siguientes características:

- mayor capacidad de metabolizar.
- mayor tasa de división.
- menor grado de diferenciación.

Criterios de eficacia del tratamiento con energía ionizante

Diversos autores han enunciado diferentes conceptos sobre la eficacia de un tratamiento por irradiación; así para Balock *et al.* (1963) el criterio de eficiencia de la irradiación como tratamiento cuarentenario podría estar basado en la prevención de la emergencia de

adultos. Sin embargo para Ouye *et al.* (1985) este concepto podría ampliarse a la inhabilidad de los insectos de perpetuar la especie.

En los EUA el criterio aceptado para avalar la eficiencia de un tratamiento para eliminar moscas de los frutos y otras plagas cuarentenarias ha sido el de prevenir el desarrollo de las larvas y su éxito en la pupación a niveles de probit 9 (99,9968%) (Baker 1939; Chew *et al.*, 1985; Couey *et al.*, 1986), o el de obtener adultos incapaces de volar cuando los insectos son irradiados al estado de larvas o pupas (APHIS 1996).

Dependiendo de las dosis aplicadas, la irradiación puede dar como resultado una mortalidad por evitar la eclosión de las larvas, el desarrollo larval, la pupación o la emergencia de adultos. También, dependiendo de las dosis aplicadas, cualquier adulto proveniente de huevos o larvas irradiadas posiblemente no producirá descendencia fértil debido a la esterilidad o cualquier otra anomalía. Cuando la respuesta esperada es la incapacidad de

la plaga de reproducirse pueden tenerse una serie de opciones:

- Esterilidad total.
- Fertilidad limitada a un solo sexo.
- Oviposición y/o eclosión sin desarrollo adicional.
- Comportamiento modificado.
- Esterilidad de la generación F1.

Las dosis usualmente utilizadas para desinfestar alimentos o productos agrícolas están entre los 150 Gy, mínima dosis utilizada para esterilizar y prevenir el desarrollo larval de mosca de los frutos (Tabla 1) (Hallman y Loaharanu, 2002; APHIS, 2006) y 300 Gy (para controlar otras especies de insectos y ácaros) pudiendo llegar hasta los 1000 Gy según la plaga (Tabla 2) (Bakri *et al.*, 2005, NIMF 18). Dosis menores a los 100 Gy son suficientes para esterilizar a muchas especies de Dípteros. Sin embargo, para los Lepidópteros frecuentemente se tienen que utilizar dosis mayores a los 200 Gy para esterilizarlos. Los tratamientos vigentes en Estados Unidos, se detallan en la tabla 3.

Criterio	Dosis
Mortalidad aguda de huevos y larvas	>1000 Gy
Prevención de la Pupación	≥1000 Gy
Prevención de la pupación del 3 estadio larval	~ 200 Gy
Prevención de la formación del adulto a partir del 3 estadio	~ 150 Gy
Prevención de la emergencia del adulto a partir del 3 estadio	~ 100 Gy
Evitar la capacidad de vuelo de los adultos a partir del 3 estadio	~ 100 Gy
Esterilizar el tercer estadio larval	≤ 100 Gy
Prevenir la reproducción de las hembras a partir del 3 estadio larval	< 100 Gy

Tabla 1. Criterios para medir la eficacia del tratamiento cuarentenario por irradiación en Tephritidos, en orden decreciente de dosis requerida (Hallman y Loaharanu, 2002).

Tabla 2. Cálculo de la dosis mínima absorbida para ciertas respuestas de distintos grupos de plagas (NIMF 18) No se ha comprobado de manera concluyente con pruebas a gran escala. Se basa en un estudio de las publicaciones científicas realizado por Hallman, 2001.

Grupos de plagas	Respuesta requerida	Rango de la dosis mínima (Gy)
Áfidos, moscas blancas (Homoptera)	Esterilizar adulto en reproducción	50-100
Picudos de semillas (Bruchidae)	Esterilizar adulto en reproducción	70-300
Escarabajos (Scarabidae)	Esterilizar adulto en reproducción	50-150
Moscas de la fruta (Tephritidae)	Evitar emergencia del adulto en el último estado larval	50-250
Picudos (Curculionidae)	Esterilizar adulto en reproducción	80-165
Barrenadores (Lepidoptera)	Evitar el desarrollo del adulto en su último estado larval	100-280
Trips (Thysanoptera)	Esterilizar adulto en reproducción	150-250
Barrenadores (Lepidoptera)	Esterilizar último estado de pupa	200-350
Ácaros-arañas (Acaridae)	Esterilizar adulto en reproducción	200-350
Escarabajos de almacén (Coleoptera)	Esterilizar adulto en reproducción	50-400
Palomilla de almacén (Lepidoptera)	Esterilizar adulto en reproducción	100-1,000
Nematodos (Nematoda)	Esterilizar adulto en reproducción	~4,000

Tabla 3. Dosis de irradiación aprobadas para insectos o grupos de insectos por United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service (USDA-APHIS)

Nombre científico	Nombre común	Dosis (Gy)
<i>Anastrepha ludens</i>	Mexican fruit fly	70
<i>Anastrepha obliqua</i>	West Indian fruit fly	70
<i>Anastrepha serpentina</i>	Sapote fruit fly	100
<i>Anastrepha suspensa</i>	Caribbean fruit fly	70
<i>Aspidiotus destructor</i>	Coconut scale	150
<i>Bactrocera jarvisi</i>	(none)	100
<i>Bactrocera tryoni</i>	Queensland fruit fly	100
<i>Brevipalpus chilensis</i>	False red spider mite	300
<i>Conotrachelus nenuphar</i>	Plum curculio	92
<i>Copitarsia decolora</i>	(none)	100
<i>Cryptophlebia ombrodelta</i>	Litchi fruit moth	250
<i>Cryptophlebia illepidia</i>	Koa seedworm	250
<i>Cylas formicarius elegantulus</i>	Sweetpotato weevil	150
<i>Cydia pomonella</i>	Codling moth	200
<i>Euscepes postfasciatus</i>	West Indian sweetpotato weevil	150
<i>Grapholita molesta</i>	Oriental fruit moth	200
<i>Omphisca anastomosalis</i>	Sweetpotato vine borer	150
<i>Pseudaulacaspis pentagona</i>	White peach scale	150
<i>Rhagoletis pomonella</i>	Apple maggot	60
<i>Sternonchetus mangiferae</i>	Mango seed weevil	300
Moscas de los frutos de la familia Tephritidae no mencionadas arriba		150
Insectos plagas no mencionados arriba excepto pupas y adultos de lepidoptera		400

Fuente: USDA-APHIS. 2006. Treatments for fruits and vegetables. Federal Register 71 (18): 4451-4464., June 26, 2006. Rules and Regulations.
USDA-APHIS. 2008. Treatments for fruits and vegetables. Federal Register 73 (88): 24851-24856, May 6, 2008. Rules and Regulations.

La dosis a utilizar para controlar una plaga estará influenciada por la máxima dosis que puede recibir el producto (fruta, hortaliza etc.) sin que se vea afectada su calidad teniendo en cuenta que la dosimetría confirme que se ha cumplido con la dosis mínima que asegure la medida fitosanitaria (tabla 4).

Tabla 4. Tolerancia de diferentes frutos a la irradiación.

Tolerancia relativa

Alta	Moderada	Baja
Manzanas	Banana	Palta
Cerezas	Chirimoya	Brócoli
Guayaba	Higos	Coliflor
Mango	Pomelos	Limón
Nectarinos	Kunquat	Lima
Papaya	Tangelos	Olivo
Duraznos	Mandarinas	
Rambutan	Naranjas	
Frutilla	Peras	
Tomate	Ciruelas	
	Fruta de la pasión	
	Litchi	

Requerimiento del método

El uso de la radiación como tratamiento cuarentenario, requiere del control preciso de las dosis utilizadas, sistemas automáticos que incluyan la información e identificación de los productos a tratar, una dosimetría asegurada para medir la irradiación mínima requerida (Prusik *et al.*, 1985).

Identificación de las plagas irradiadas

Si bien la certificación fitosanitaria que emite el país exportador donde establece los lotes que recibieron tratamiento, la fecha en que lo recibieron, la dosis mínima objetivo y la dosis mínima comprobada es suficiente para que se produzca la comercialización del producto irradiado, cuando la respuesta requerida del tratamiento no es la muerte del insecto se podrán encontrar estadios vivos de la plaga sin que esto signifique un fracaso del tratamiento a menos que existan evidencias

de que se haya producido una falla en el sistema. De ser necesario se pueden realizar estudios o análisis de laboratorio para comprobar la eficacia del tratamiento. Existen varias técnicas para identificar si un insecto fue irradiado o no, pero estos métodos no permiten cuantificar por lo tanto permiten determinar que el insecto fue irradiado pero es difícil establecer la dosis recibida. En principio si los procedimientos y la integridad del sistema son los adecuados no sería necesario realizar un test para determinar si la plaga fue irradiada. Existen distintos métodos que se pueden realizar:

A.- Medición del tamaño del ganglio

supraesofágico: estudios realizados por Rahman *et al.* (1990) muestran que el tamaño del ganglio supraesofágico fue reducido en las larvas del tercer estadio de *C. capitata*, cuando estas fueron irradiadas al estado de huevos o larvas. También observaron que la disminución era mayor al aumentar la dosis de irradiación y proponen usar estos cambios morfológicos como un método para identificar las larvas tratadas; sugiriendo además que podrían

testearse con otras especies de moscas de otros géneros de la familia para formular una conclusión general. Esta reducción en el ganglio supraesofágico podría ser más real que otros métodos indirectos usados anteriormente para identificar las frutas tratadas (Chadwick *et al.*, 1977).

B.- Test de la actividad de la fenoloxidasa y medición cuantitativa de la misma:

esta enzima puede ser fácilmente cuantificada y está presente en todos los insectos, jugando un rol importante en la melanización de la cutícula (Anderson, 1985). Diversos trabajos han demostrado que la actividad de esta enzima es severamente afectada por la irradiación, cuando los insectos son irradiados al estado de huevos o larvas jóvenes, sin embargo para el caso de *C. capitata* esta disminución no fue tan drástica cuando se realizó en larvas del tercer estadio, no pudiendo realizarse fácilmente la discriminación entre larvas tratadas de las no tratadas. Este método tiene como inconveniente que requiere de costosos laboratorios y personal altamente entrenado (Mansour *et al.*, 1996).

C.- Fallas en la melanización: como ya se mencionó, la reducción de la actividad de la fenoloxidasa afecta el proceso de melanización de las larvas, por lo que Mansour *et al.* (1996) sugirieron realizar una prueba de color con un espectrofotómetro.

Otros parámetros que pueden observarse son: el desarrollo de los discos del imago; el número de hemocitos por 1 µl de hemolinfa, y el peso de las larvas (Nation, 1999)

Marco regulatorio

Las normas internacionales para medidas fitosanitarias son elaboradas por la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) como parte del programa mundial de políticas y asistencia técnica en materia de cuarentena que lleva a cabo la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Este programa establece normas, directrices y recomendaciones para armonizar las medidas fitosanitarias en el ámbito internacional, con el propósito de facilitar el comercio y evitar el uso de medidas injustificadas como obstáculos al comercio.

Las partes signatarias en la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) y los Miembros de la FAO que no son partes signatarias adoptan las Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias

(NIMF). Las NIMF son normas, directrices y recomendaciones reconocidas como la base para las medidas fitosanitarias que aplican los miembros de la Organización Mundial del Comercio en virtud del acuerdo sobre la aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias. Argentina es parte contratante de la convención internacional de protección fitosanitaria (CIPF).

En el marco de la CIPF existe la NIMF N° 18, aprobada en el año 2003 que fijó las directrices para utilizar la irradiación como medida fitosanitaria. Esta norma ofrece orientación técnica sobre los procedimientos específicos para la aplicación de la radiación ionizante como tratamiento fitosanitario para las plagas o artículo reglamentado (cualquier planta, producto vegetal, lugar de almacenamiento, de empaque, medio de transporte, contenedor, suelo y cualquier otro organismo, objeto o material capaz de albergar o dispersar plagas, que se considere que debe estar sujeto a medidas fitosanitarias, en particular en el transporte internacional).

La Organización Nacional de Protección Fitosanitaria (ONPF) de cada país, en el caso de Argentina el SENASA, tiene a su cargo los aspectos fitosanitarios de evaluación, adopción y utilización de la irradiación como medida fitosanitaria.

La irradiación puede aplicarse como parte integrante de operaciones de embalaje; a los productos a granel, en ubicaciones centralizadas tal como los puertos de embarque. Los productos básicos que han recibido tratamiento deberán certificarse y liberarse solamente cuando la dosimetría (sistema utilizado para determinar la dosis absorbida) confirme que se ha cumplido con la dosis mínima absorbida que asegure el tratamiento. Según la plaga y el riesgo de la misma, la irradiación puede utilizarse como tratamiento individual o combinado con otros como parte de un enfoque de sistemas para cumplir con el nivel de eficacia deseado. Se utilizan las conclusiones de la evaluación del riesgo de plagas para decidir si es necesario el manejo del riesgo y la intensidad de las medidas que se utilizarán (Etapa 2 del ARP). El manejo del riesgo de plagas, (Etapa 3 del ARP), consiste en el proceso de identificar la forma de reaccionar ante la percepción de un riesgo, evaluar la eficacia de estos procedimientos y recomendar las opciones más apropiadas. Las opciones que suelen utilizarse en los tratamientos de poscosecha y manipulación son:

1) tratamientos para matar, esterilizar o eliminar plagas (por ejemplo, fumigación, irradiación,

almacenamiento en frío, atmósfera controlada, lavado, cepillado, encerado, inmersión, calor, etc.)

2) inspección y selección (NIMF 14).

Se podrán encontrar plagas objetivo vivas (NIMF 18), debido a que pocas veces la mortalidad se justificará técnicamente como la respuesta requerida. Por consiguiente, es fundamental que el tratamiento por irradiación asegure que las plagas no puedan reproducirse. Además, es preferible que dichas plagas no puedan emerger o escapar del producto básico a menos que puedan distinguirse de forma práctica de las no irradiadas (NIMF 18). Los productos básicos que han recibido tratamiento deberán certificarse y liberarse solamente cuando las medidas de dosimetría confirmen que se ha cumplido con la dosis mínima. Cuando corresponda, es posible que se repita la aplicación del tratamiento, siempre que la dosis máxima absorbida esté dentro de los límites permitidos por el país importador. Este es el caso de los alimentos de bajo contenido de humedad (cereales, legumbres, alimentos deshidratados y productos análogos) que pueden ser irradiados nuevamente para controlar la reinfestación por insectos.

La norma general del Codex Alimentario para alimentos irradiados (CODEX STAN106-1983, REV. 1-2003) estableció que los alimentos no se consideran sometidos a una irradiación repetida cuando: a) los alimentos irradiados se prepararon a partir de materiales que se han irradiado a dosis de bajo nivel, con fines distintos de la inocuidad de los alimentos (por ejemplo, prevención de brotes en raíces y tubérculos y con fines de cuarentena); b) se irradiaron alimentos con un contenido de ingredientes irradiados inferior al 5%, o c) la dosis total de radiación ionizante requerida para conseguir el efecto deseado se aplica a los alimentos en más de una dosis como parte de un proceso destinado a lograr una finalidad tecnológica específica. La dosis máxima absorbida que se haya acumulado en un alimento no deberá exceder de 10 kGy como consecuencia de una irradiación repetida, excepto cuando ello sea necesario para lograr una finalidad tecnológica legítima, y no deberá comprometer la seguridad del consumidor ni la salubridad del alimento.

La confianza en la idoneidad del tratamiento por irradiación se basa principalmente en la seguridad de que el tratamiento es eficaz contra las plagas de interés, bajo condiciones específicas, y que el mismo se ha realizado en forma apropiada, además de que los productos básicos estén protegidos adecuadamente. Al organismo de protección

fitosanitaria del país en donde se encuentra ubicada la instalación le corresponde asegurar la integridad del sistema, de tal forma que los tratamientos cumplan con los requisitos fitosanitarios del país importador (NIMF 18).

Debido a que no suele ser posible distinguir a simple vista los productos irradiados de los no irradiados, los productos básicos que han recibido tratamiento deberán separarse, identificarse claramente y manipularse en forma adecuada bajo condiciones que los protejan contra la infestación y/o contaminación o identificación errónea.

Es esencial contar con un medio seguro para movilizar el producto básico desde las áreas de recepción hacia las áreas de tratamiento sin que haya una identificación errónea o riesgo de contaminación cruzada y/o infestación. Se deberán acordar de antemano, los procedimientos apropiados que sean específicos para cada instalación y programa de tratamiento del producto básico. Los productos básicos que se desembalen o expongan en su embalaje requieren protección inmediata después del tratamiento, con el fin de asegurar que posteriormente no estén sujetos a infestación, reinfestación o contaminación. Si el tratamiento se aplica antes de que se lleve a cabo la exportación, sería conveniente embalar el producto básico antes de aplicar la irradiación para prevenir la reinfestación; o si se realiza en el lugar de destino, sería recomendable embalarlo para prevenir el escape accidental de la(s) plaga(s) objetivo (NIMF 18).

La certificación fitosanitaria conforme a la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (CIPF) valida la culminación exitosa de un tratamiento por irradiación cuando lo requiera el país importador. El certificado fitosanitario o su documentación relacionada deberá especificar los lotes que recibieron tratamiento, la fecha en que lo recibieron, la dosis mínima objetivo y la dosis mínima comprobable. El organismo de protección fitosanitaria del país en donde se encuentra la planta puede emitir certificados fitosanitarios basándose en la información del tratamiento que le proporcione la entidad aprobada por el organismo.

Efecto de la irradiación en los productos

Generalmente las dosis requeridas para la seguridad cuarentenaria son bajas para el control de patógenos o para extender la vida media de los productos. Las investigaciones realizadas por más de 30 años han mostrado que la mayoría de los vegetales y frutas

frescas no son afectados por las dosis propuestas con fines cuarentenarios (Abdel – Kader *et al.*, 1967; Kader *et al.*, 1983, Moy, 1983).

Ventajas del tratamiento de irradiación

- La radiación ionizante usada en los tratamientos cuarentenarios de productos de importancia es segura, no induce radioactividad.
- No hay evidencias de problemas toxicológicos en humanos debido a los tratamientos de alimentos en dosis menores o iguales a los 10.000 Gy.
- No deja residuos en los frutos.
- Puede aplicarse a una gran variedad de productos.
- Es mucho más rápido, bastan algunos minutos para completar el tratamiento.
- Retarda la maduración de algunos frutos.
- No modifica la temperatura del producto;
- Los frutos pueden ser tratados en su embalaje final.
- Es un proceso continuo y eficiente.
- Asegura la completa desinfección.
- Penetra fácilmente en el producto.
- Se pueden centralizar los procesos de inspección y fiscalización por parte de los países importadores.

Desventajas del tratamiento

- No todos los países lo aceptan como válido (ej. Japón).
- Dificultades en la inspección cuarentenaria al no poderse diferenciar rápidamente las larvas irradiadas de no irradiadas.
- No todas las especies frutales son tolerantes a los efectos de irradiación.
- Falta de conocimiento de por parte del público del uso de la energía ionizante.
- Necesita de instalaciones costosas.
- No mata a los insectos en un tiempo razonable a las dosis permitidas.

- Con bajas dosis de irradiación el desarrollo larval continúa y la fruta se deteriora por alimentación de la larva.

- Frutos con altos contenidos de jugo, o ambientes con bajos niveles de oxígeno, pueden reducir la eficacia del tratamiento y requerir un incremento en las dosis para alcanzar la seguridad cuarentenaria (Balock *et al.*, 1963; Kaneshiro *et al.*, 1983).

Aplicaciones

Un ejemplo de uso potencial de la radiación gamma como tratamiento cuarentenario en la Argentina es el caso de la polilla de la manzana, *Cydia pomonella* (L.), plaga clave de frutas de pepita en la mayoría de las áreas cultivadas con frutales de hojas caducas del mundo (Chapman, 1973). En su estado larval infesta manzanas, peras, nueces, duraznos, ciruelas, etc. produciendo pérdidas de millones de dólares todos los años (Barnes, 1991), ocasionando además, el rechazo de los envíos por parte de los países compradores de estos productos. En el año 2003, Brasil redujo en casi el 50% la compra de peras y manzanas a la Argentina debido a las restricciones sanitarias impuestas por la presencia de *C. pomonella* (Bruzzone, 2003).

Estudios sobre la polilla de la manzana han indicado que la radiación gamma puede ser efectiva en el tratamiento cuarentenario frente a huevos y larvas maduras (Manssur, 2003, Burditt *et al.*, 1985; Burditt, 1986; Toba and Moffitt, 1996). Burditt y Moffit (1985) estimaron la dosis necesaria para prevenir el 99,9968% de emergencia de adultos de la polilla de la manzana para el cuarto y quinto estadio larval. En ensayos realizados en manzanas infestadas con *C. pomonella* se observó que con dosis de 50 Gy se reduce la pupación y la emergencia de adultos, mientras que con 200 Gy se previene completamente la emergencia de los mismos (Mansour 2003). Experiencias realizadas en el laboratorio de CNEA con larvas en estadios L4PM-L5 criadas en dieta artificial y en manzanas e irradiadas con dosis comprendidas entre 200 y 600 Gy no se obtuvieron insectos adultos, permaneciendo todas en estado de prepupa o pupa hasta la muerte.

Recientemente se conformó un grupo interinstitucional conformado por investigadores de CNEA, USDA y la EEAOC, los cuales están realizando trabajos tendientes a desarrollar tratamientos con irradiación para *C. capitata* y *A. fraterculus* en cultivos como cítricos y arándanos entre otros.

Consideraciones finales

La irradiación es un tratamiento alternativo para plagas de importancia cuarentenaria. Sin embargo la industria y los entes de regulación oficial deberían considerar estos beneficios en relación a otras alternativas y seleccionar aquellas con mejor relación costo / beneficio.

Si la irradiación es aceptada, la industria y el público deberían convencerse que el producto puede ser irradiado en forma económica y además que el proceso no daña la fruta. La educación es necesaria para alcanzar un nivel de entendimiento del proceso al usarse como tratamiento cuarentenario, además para mejorar la aceptación de los productos irradiados por parte del público. Se deberían realizar cursos de entrenamiento para personal de agencias cuarentenarias o de la industria agrícola. Estos podrían ayudar a identificar los problemas concernientes a la actividad e incrementar el

entendimiento por parte del público de la tecnología de irradiación. Es necesario profundizar las investigaciones para desarrollar dosis de seguridad cuarentenaria, evaluar fitotoxicidad u otros factores adversos en los productos evaluados.

Por otra parte se debe tener en cuenta que el tratamiento cuarentenario por irradiación puede formar parte como complemento del Sistema integrado de prácticas de mitigación de riesgo (System Approach) garantizando así el movimiento de productos vegetales libres de determinadas plagas.

Además las radiaciones ionizantes pueden ser una alternativa a los tratamientos con bromuro de metilo para el tratamiento de productos frescos agrícolas a fin de superar barreras cuarentenarias. Varios autores en la última década, han presentado trabajos en este tema (Burditt, 1994; Nation and Burditt, 1994; Hallman, 1998, 2000, 2001; Johnson and Marcotte, 1999).

Bibliografía recomendada

Abdel – Kader, A. S. & E. C. Maxie. 1967. "Radiation Pasteurization of Fruits and Vegetables: a Bibliography," in P. S. Baker, ed. Isotopes Information Center. IIC-11. PP 1 – 52. Oak Ridge National Library.

Anderson, S. O. 1985. Sclerotization and tanning of the cuticle, pp.59 – 74. In G. Kerkut and L. Gilbert eds., Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology, vol. 3. Pergamon, Oxford.

Anónimo. 1984. Food and Drug Administration. Irradiation in the production processing and handling of food. Federal Register 49: 5714 - 5722.

APHIS. Animal and Plant Health Inspection service. 1996. The application of irradiation to

phytosanitary problems. Fed. Reg. 1996: 24433 – 24439.

Balock, J. W., A. K. Burditt Jr., & L. D. Christenson. 1963. Effects of gamma radiation on various stages of three fruit fly species. J. Econ. Entomol. 56: 42 - 46.

Balock, J. W., A. K. Burditt Jr., S. T. Seo & E. K. Akamine. 1966. Gamma radiation as a quarantine treatment for Hawaiian fruit flies. J. Econ. Entomol. 59: 202 - 204.

Baker, A. C. 1939. The basis for treatment of products where fruitflies are involved as a condition for entry into the United States. USDA Circular 551.

Bakri, A; Heather, N.; Hendrichs, J. and Ferris I. 2005. Fifty years

of radiation biology in entomology: Lessons Learned from IDIDAS. Ann. Entomol. Soc. Am. 98 (1):1-12.

Barnes, M.M. 1991. Codling moth occurrence, host race formation, and damage. In: Tortricidae Pests. Their Biology, Natural Enemies and Control. Ed. By Van Der Geest, L.P.S.; Evenhuis, H.H. New York: Elsevier, 313-327.

Burditt, A.K. 1986. Gamma irradiation as a quarantine treatment for walnuts infested with codling moths (Lepidoptera: Tortricidae). J. Econ. Entomol. 79, 1577-1579.

Burditt, A.K., 1994. Irradiation. In: Quarantine Treatments for Pest of Food Plants. Ed. By Sharp, J.L.; Hallman, G.J.; Boulder, C.O. Westview Press, 101-117.

- Burditt, A. K., Jr. & F. P. Hungate. 1988.** Gamma irradiation as a quarantine treatment for cherries infested by western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae) J. Econ. Entomol. 81: 859 – 862.
- Burditt, A. K., Jr. & F. P. Hungate. 1989.** Gamma irradiation as a quarantine treatment for apples infested by codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) J. Econ. Entomol. 82: 1386 – 1390.
- Burditt, A. K., Jr., F. P. Hungate & H. Toba. 1989.** Gamma Irradiation: Effect of dose rate on development of mature codling moth larvae and adult eclosion. Radiation Physics and Chemistry 34: 979 - 984.
- Burditt, A.K.; Moffitt, H.R. 1985.** Irradiation as a quarantine treatment for fruit subject to infestation by codling moth larvae. Proceedings of the International Conference on Radiation Disinfestations of Food and Agricultural Products, Ed. By Moy, J.H. University of Hawaii, Honolulu, 87-97.
- Burditt, A.K.; Moffitt, H.R.; Hungate, F.P. 1985.** Effects of gamma radiation as a quarantine treatment on the development of the codling moth larvae. In: International Symposium on Food Irradiation Processing, IAEA, Vienna, 3-8.
- Bruzzone, A.B. 2003.** Peras y Manzanas. Informe Frutícola -Ministerio de Economía y Producción, Dirección General de Alimentos. N°1, octubre 2003
- Chadwick, K. H., D. A. E. Ehlermann & W. L. McLaughlin. 1977.** Manual of Food Irradiation Dosimetry, Technical reports Series 178. Vienna, Austria: International Atomic Energy Agency.
- Chapman, P.J., 1973.** Bionomics of apple feeding Tortricidae. Annu. Rev. Entomol. 18, 73-96.
- Chew, V. & M. T. Ouye. 1985.** "Statistical Basis for Quarantine Treatment schedule and Security", in J. H. Moy, ed., Radiation Disinfestation of Food and Agricultural Products, Proceedings of an International Conference, Honolulu. (1983). Pp. 70 - 74. Honolulu, Hawaii: Hawaii Institute of Tropical Agr. And Human Resources. University of Hawaii at Manoa, Honolulu.
- Couey, H. M. & V. Chew. 1986.** Confidence limits and sample size in quarantine research. J. Econ. Entomol. 79: 887 – 890.
- Enkerlin Hoeflich, W.R.; Liedo Fernandez, P.; Gabayet, J.R. 1997.** Principios de esterilidad y su aplicación en la TIE contra moscas de la Fruta. Curso Regional sobre Moscas de la fruta y su Control en áreas grandes, con énfasis en la Técnica del Insecto Estéril. IAEA, México. pp: 283-293
- Hallman, G., 1998.** Ionizing radiation quarantine treatments. Ann. Soc. Entomol. Brasil. 27, 313-323. Hallman, G., 2000. Expanding radiation quarantine treatments beyond fruit flies. Agr. Forest Entomol. 2, 85-95.
- Hallman, G. J. 2001.** Irradiation as a quarantine treatment. En: Molins, R.A. (ed.) Food Irradiation Principles and Applications. New York: J. Wiley & Sons. p. 113-130.
- Hallman, G. J. & D. B. Thomas. 1999.** Gamma Irradiation Quarantine Treatment Against Blueberry Maggot and Apple Maggot (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 92 (6): 1373 – 1376.
- Hallman, G. J. and Loaharanu P. 2002.** Generic ionizing radiation quarantine treatments against fruit flies (Diptera: Tephritidae) proposed. J. Econ. Entomol. 95 (5): 893-901.
- Hallman, G. J. & J. W. Worley. 1999.** Gamma Radiation doses to Prevent Adult Emergence from Immatures of Mexican and west Indian Fruit Flies (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 92 (4): 967 – 973.
- Heather, N. W., R. J. Corcoran & O. Banos. 1991.** Disinfestation of mangoes with gamma irradiation against two Australian fruit flies (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 84: 1304 – 1307. <http://www.iaea.org/icgfi/data.htm>
- Ignatowicz, S. & G. Brzostek. 1990.** Use of irradiation as a quarantine treatment for agricultural products infested by mites and insects. Radiation Physics and Chemistry 35: 263 - 267.
- Johnson, J., Marcotte, M., 1999.** Irradiation control of insect pest of dried fruits and walnuts. Food Technol. 53, 46-48.
- Kader, A. A. & C. M. Heintz. 1983.** Gamma Irradiation of Fresh Fruits and Vegetables, an Indexed Reference List (1965 – 1982). Pp. 1 – 55. Davis California: University of California.
- Kaneshiro, K. Y., A. T. Otha, J. S. Kurihara, K. M. Kanegawa & L. R. Nagamine. 1983.** Gamma irradiation treatment for desinfestation of the Mediterranean fruit fly in California grow fruits. I. Stone fruits. Proceedings, Hawaiian Entomological Soc. 24: 245 – 259.
- Koidsumi, K. 1930.** Quantitative studies on lethal action of X-rays upon certain insects. J. of the Soc. of Tropical Agr. 2:243 - 263.
- López Valdivia, H., Reyes Lujan, J. 1997.** Instalaciones y equipos utilizados para irradiación. Curso Regional sobre Moscas de la fruta y su Control en áreas grandes, con énfasis en la Técnica del Insecto Estéril. IAEA, México. pp. 295- 308.
- Mansour, M. 2003.** Gamma irradiation as a quarantine treatment for apples infested by codling moth (Lep., Tortricidae). Journal of Applied Entomology 127 (3), 137-141.
- Mansour, M. & G. Franz. 1996.** Effect of Gamma Radiation on Phenoloxidase Activity in Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 89 (3): 695 – 699.
- Mansour, M. & G. Franz. 1996.** Gamma Radiation as a Quarantine Treatment for the Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 89 (5): 1175 – 1180.
- Moy, J. H. & N. Y. Nagai. 1985.** "Quality of Fresh Fruits Irradiated at Disinfestation Doses", In J. M.

Moy, ed., Radiation Disinfestation of Food and Agricultural Products, Proceedings of an International Conference, Honolulu. November 14 – 18, 1983. Pp. 135 – 145. Honolulu, Hawaii: Hawaii Institute of Tropical Agr. And Human Resources. University of Hawaii at Manoa.

Nation, J.L., Burditt A.K., 1994.

Irradiation. In: Insect Pest and Fresh Horticultural Products: Treatments and Responses. Ed. By Paull, R. E.; Armstrong, J.W. Wallingford, UK: CAB International, Chapter 5,85-102.

Nation, J.L, Smittle B.J., K.R. Milne.

1999. Physiological markers in insects indicating treatment with ionizing radiation. Irradiation as a quarantine treatment of arthropod pests. IAEA-TECDOC-1082

NIMF 14. 2002. Aplicación de medidas integradas en un enfoque de sistemas para el manejo del riesgo de plagas. FAO, Roma.

NIMF 18. 2003. Directrices para utilizar la irradiación como medida fitosanitaria. FAO, Roma

Norma General del Codex para Alimentos Irradiados. 2003. CODEX STAN 106-1983, REV. 1-2003

Organización Mundial de la

Salud.1989. La irradiación de los alimentos. Una técnica para conservar y preservar la inocuidad de los alimentos.OMS, Ginebra.

Ouye, M. T. & J. E. Gilmore. 1985.

“The Philosophy of Quarantine Treatment as Related to Low - Dose Radiation”, in J. H. Moy, ed., Radiation Disinfestation of Food and Agricultural Products, Proceedings of an International Conference, Honolulu. Novembre 14 - 18, 1983. Pp 67 - 69.

Prusik, T. & T. Wallace. 1985. “ An Automated System for Measuring the Dose Provided to Irradiated Food”, in Food Irradiation Processing, Proceedings of an International Symposium on Food Processing, Proceedings, Washington, D.C. March 4 - 8, 1985. Vienna, Austria: International Atomic Energy Agency.

Rahman, R., C. Rigney & E. Busch - Petersen. 1990. Irradiation as a

quarantine treatment against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): Anatomical and cytogenetic changes in mature larvae after gamma irradiation. J. Econ. Entomol. 83: 1449 - 1454.

Satin M. 1997. La irradiación de los alimentos. Acribia, Zaragoza, España.

Toba, H.H.; Moffitt H.R., 1996.

Post treatment development and fertility of nondiapausing codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) larvae and their progeny following gamma irradiation. J. Econ. Entomol. 89, 56-62.

Torres Rivera, Z., G. Hallan. 2007.

Low dose irradiation phytosanitary treatment against Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). Florida Entomologist 90 (2) 343:346.

Wit, A. K. H. & M. Van de Vrie.

1985. Gamma radiation for post harvest control of insects and mites in cut flowers. Mededelingen van de Facultei Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent 50/2b, 697 – 704.

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

C3

Irradiación en productos agropecuarios para tratamiento cuarentenario

Eulogia Kairiyama

Centro Atómico Ezeiza, CNEA.

E-mail: kairiyam@cae.cnea.gov.ar

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

La historia de la ciencia de las radiaciones ha evolucionado rápidamente, desde sus comienzos a fines del siglo XIX. En 1895 Röntgen descubre los rayos X, a los pocos meses Becquerel descubre la radiactividad y en ese entonces, los primeros intentos de aplicación en radioterapia sobre pacientes cancerosos los realiza Grubbe. A comienzos del siglo XX Proust observa el efecto de las radiaciones sobre microorganismos.

Desde entonces las aplicaciones de las radiaciones en el campo de la salud, la industria y el agro han ido creciendo. La radioesterilización de productos médicos fue introducida industrialmente por Ethicon en el año 1956, en EE.UU, con la irradiación de hilos de sutura.

Actualmente en el mundo hay plantas de irradiación para tratamiento fitosanitario en EEUU (Hawaii), Tailandia, México, Brasil.

La culminación de los grandes esfuerzos realizados por varios profesionales son las Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias - Directrices para utilizar la irradiación como medida fitosanitaria. No. 18. (2003)

Efectos Biológicos de las Radiaciones Ionizantes

1- Efecto de las radiaciones ionizantes sobre algunas moléculas de importancia biológica

El efecto biocida de las radiaciones es consecuencia de la interacción de la radiación con la materia. La alta energía de los fotones es entregada a los átomos del medio que atraviesa produciendo ionización y excitación como resultado de la interacción de las radiaciones ionizantes con los electrones orbitales de los átomos de los compuestos celulares y de los componentes del medio en que se encuentran. Este fenómeno produce cambios químicos de los componentes celulares y del medio, conllevando a una serie de eventos que conducen a cambios biológicos. Dependiendo de la seriedad del daño, pueden llegar a causar modificaciones de la función celular hasta causar la muerte del organismo. La totalidad del proceso de producción de cambios químicos por acción de las radiaciones ionizantes se puede dividir en 3 estadios: físico, físico-químico y químico.

Acción sobre la molécula de agua

Estadio físico:

Consiste en la transferencia de energía al sistema que ocurre entre 10^{-17} – 10^{-16} seg. La radiación incidente produce ionización y excitación.

• Ionización:



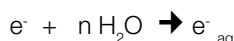
• Excitación:



Estadio físico-químico:

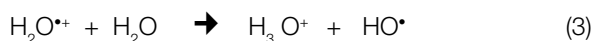
Consiste en el establecimiento del equilibrio térmico del sistema (10^{-12} seg).

El electrón expulsado (1) en el proceso de ionización, se thermaliza e hidrata,



El e^- es capaz de reaccionar con un gran espectro de moléculas de solutos. En soluciones diluidas, la hidratación del e^- se completa en 10^{-11} seg.

El radical catión (1) es un ácido fuerte y rápidamente pierde un protón al reaccionar con moléculas de agua que lo rodea (10^{-14} seg),



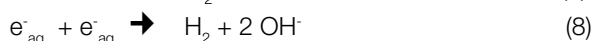
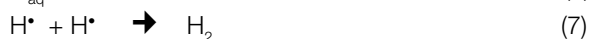
La molécula de agua excitada, formada en (2), se disocia dando un átomo de hidrógeno y radical hidroxilo



Estadio químico:

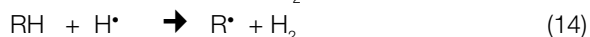
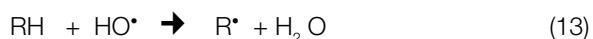
Consiste en la difusión de las especies primarias formadas desde su punto de origen y la trayectoria que describe en el medio líquido, produciendo reacciones químicas que conllevan al establecimiento del equilibrio químico (alrededor de 1 seg.). Estas especies pueden reaccionar entre sí como con otras moléculas del medio.

Se producen las siguientes reacciones,

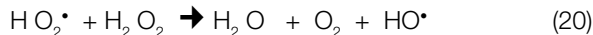
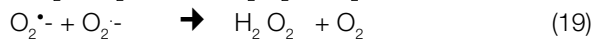
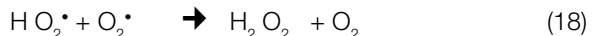
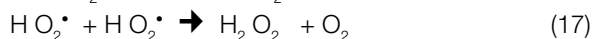
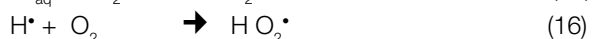




Las reacciones secundarias de los radicales libres del agua con otras moléculas producen otros radicales:



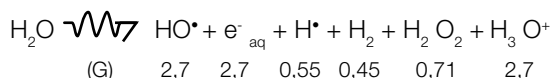
En presencia de oxígeno, los radicales libres pueden reaccionar con moléculas de O_2 , produciendo radicales peróxido, anión radical, superóxidos,



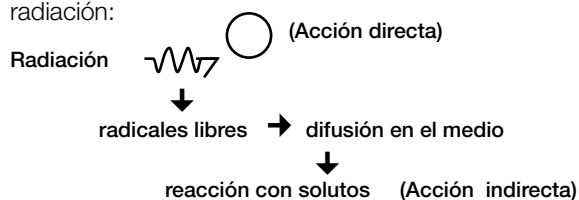
En la química de las radiaciones, los cambios químicos inducidos por las radiaciones son cuantificados mediante el Valor G. Este valor es el número de moléculas cambiadas o nuevas sustancias formadas por cada 100 eV de energía absorbida y se expresa en número de moles/J.

Tales cambios químicos son la producción o desaparición de moléculas, radicales libres, iones, etc.

En la radiólisis del agua se forman,



Básicamente hay 3 diferentes radicales libres formados en la radiólisis del agua, el radical HO^\bullet ; el electrón solvatado e^-_{aq} y el átomo de H. Las constantes velocidad de reacción de estos radicales son conocidos y han sido tabulados. Las reacciones secundarias se producen entre las especies altamente reactivas producidas por la radiólisis del agua u otra molécula con los solutos del medio, también se conocen como efecto indirecto de la radiación:



Los efectos indirectos de las radiaciones están relacionados con el estado físico y químico del producto y del medio.

En los sistemas biológicos la influencia de la acción indirecta de las radiaciones ionizantes pueden traducirse en diferentes efectos, por ejemplo se observa disminución de la resistencia de una organismo al aumentar la temperatura (efecto sinérgico) o una mayor resistencia cuando se mantiene congelado el sistema durante la irradiación. En este último caso la acción indirecta es minimizada. Asimismo, cuando se irradia un sistema biológico en presencia de sustancias que tienen una alta reactividad con los radicales libres, se traduce en un efecto radioprotector.

Acción sobre la molécula de ADN:

El efecto letal de la radiación sobre las células es atribuible, en principio, a la deposición de la energía en estructuras críticas o blancos.

El blanco principal para la inactivación de los microorganismos por radiación es conferida a la molécula de ácido desoxirribonucleico (ADN), debido al rol que juega en la división celular. La teoría del blanco, formulada en 1946 por Lea, basado del concepto original del punto caliente (Punktwärme) enunciado por Dessauer en 1923, asevera que un evento radioinducido tal como la ionización de alguna entidad particular del organismo, causa su inactivación. Esta teoría está desactualizada, solamente es válida para modelos moleculares simples, entidades subcelulares o en organismos vivos simples como virus, no es válida para sistemas complejos dinámicos como ocurre en una célula. Una de las principales complicaciones es la capacidad que tiene la célula de modificar la lesión inicial causada por la radiación, las células tienen capacidad de reparación o remoción de los daños en los ácidos nucleicos y posiblemente otros polímeros y hasta la restauración de la membrana injuriada.

Se han considerado los siguientes mecanismos posibles de acción de la radiación sobre la célula:

- cambios en la estructura y composición del ADN celular, los que pueden afectar el normal funcionamiento celular, incluyendo el de la reproducción celular.
- alteración de la membrana celular. Afectan su función de transportar sustancias críticas para la actividad celular y el de la replicación del ADN (muchas de las enzimas requeridas para reparar el

ADN están localizadas en la membrana).

- efectos sobre los procesos de síntesis, particularmente de las moléculas de ADN y ARN.
 - efectos sobre enzimas.
 - efectos sobre el metabolismo energético a través de la reducción de la fosforilación.
- De todos estos cambios, los considerados de relevancia son los del ADN celular, debido a que éste es el que lleva la información genética.

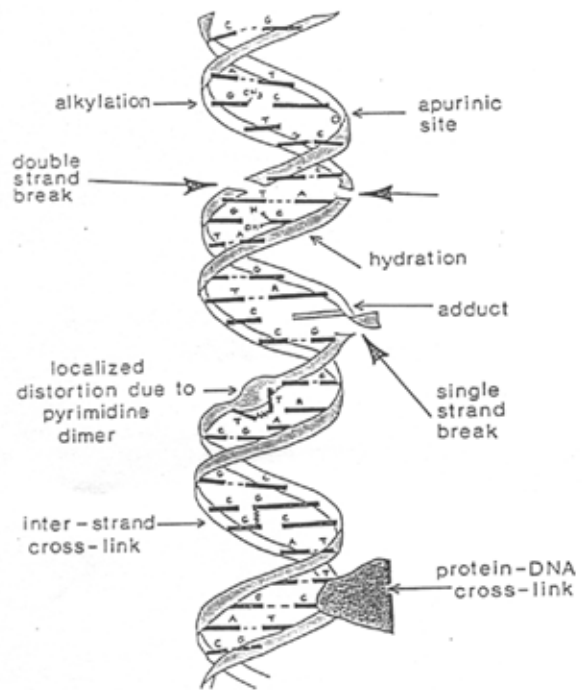
La importancia del ADN en un sistema biológico es debida:

- al importante papel que juega en la función celular,
- presencia de una sola copia de la molécula de ADN por célula,
- a su gran tamaño en comparación con otras moléculas de la célula y
- a su fragilidad estructural.

Es posible que más de un mecanismo esté involucrado en la muerte celular. Algunas células tienen capacidad intrínseca de reparación del daño celular, resultando ellas tener mayor resistencia a la radiación. Las células que son capaces de reparar rupturas de doble cadena de ADN son más resistentes de aquellas que reparan solamente ruptura de una sola cadena.

Los principales daños causados en el ADN por acción directa e indirecta de la radiación son:

- Ruptura simple de cadena, producida por daño en la desoxi-ribosa,
- Ruptura doble de cadena, producida por daño en la desoxi-ribosa de ambas cadenas
- Daño en las bases
- Entrecruzamiento con la cadena complementaria o con otra molécula de ácido nucleico o con moléculas de proteínas,
- Probablemente escisión de las uniones fosfóricas, y producción de esteres fosfóricos y fosfatos inorgánicos
- Otros



Schematic representation of radiation-induced alterations in double stranded DNA (Adapted from Devoret, 1979)

Figura 1. Representación esquemática de las alteraciones radioinducidas en la doble cadena del ADN.

De todos estos cambios, los considerados de relevancia son los del ADN celular, debido a que éste es el que lleva la información genética. Es posible que más de un mecanismo esté involucrado en la muerte celular.

En algunos casos el daño no es suficiente para causar la muerte celular. En otros los daños causados son reparados. Algunas células tienen capacidad intrínseca de reparación del daño celular, resultando ellas tener mayor resistencia a la radiación. Las bacterias que son capaces de reparar rupturas de doble cadena de ADN son más resistentes de aquellas que reparan solamente ruptura de una sola cadena. En el caso de

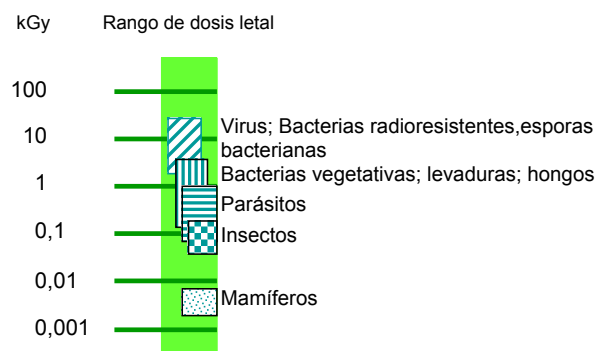


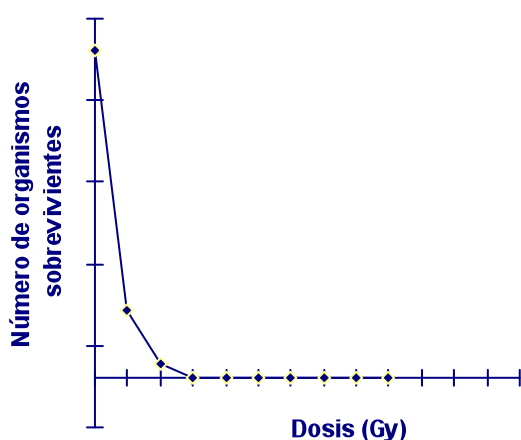
Figura 2. Esquema de los rangos de dosis letal para diferentes organismos vivos.

que se repare equivocadamente y resulta viable se produce mutación.

La dosis letal varía con el organismo, como se observa en la Figura 3, la dosis letal disminuye con la incremento de la complejidad y tamaño del organismo.

2- Curva de inactivación

Si se irradia una población de células/organismos acondicionadas en un determinado medio con dosis crecientes y se grafica el número de sobrevivientes en función de la dosis se obtiene una curva exponencial negativa:



$$N = N_0 10^{-kD} \text{ (a)}$$

Donde:

N_0 : número inicial de organismos

D: dosis absorbida

N: número de organismos sobrevivientes a la dosis D

k: constante propia para cada tipo de organismo y condición de irradiación.

Figura 3. Curva de inactivación de una población de organismos irradiados con dosis crecientes.

Proceso de irradiación. Validación

La validación consiste en establecer evidencias documentadas que provee con alto grado de seguridad que un proceso específico producirá consistentemente un producto que cumple con las especificaciones predeterminadas y los atributos de calidad.

Las Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias (NINF) elaboradas por la Secretaría de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria

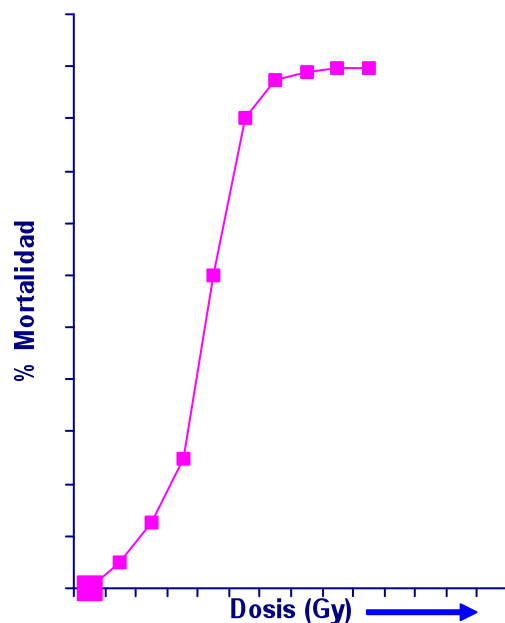


Figura 4. Curva de mortalidad de una población de organismos irradiados con dosis crecientes.

como parte del programa mundial de políticas y asistencia técnica en materia de cuarentena que lleva a cabo la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). Este programa ofrece tanto a los Miembros de la FAO, como a otras partes interesadas estas normas, directrices y recomendaciones para armonizar las medidas fitosanitarias en el ámbito internacional, con el propósito de facilitar el comercio y evitar el uso de medidas injustificadas como obstáculos al comercio.

Las NIMF son normas, directrices y recomendaciones reconocidas como la base para las medidas fitosanitarias que aplican los miembros de la Organización Mundial del Comercio en virtud del Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias. Se exhorta a las partes no contratantes en la CIPF a que observen esas normas.

La Norma Internacional para Medida Fitosanitaria (NIMF) No. 18 (2003): DIRECTRICES PARA UTILIZAR LA IRRADIACIÓN COMO MEDIDA FITOSANITARIA ofrece orientación técnica sobre los procedimientos específicos para la aplicación de la radiación ionizante como tratamiento fitosanitario para las plagas o artículos reglamentados.

Esto no incluye los tratamientos utilizados para:

- la producción de organismos estériles para el control de plagas;

- los tratamientos sanitarios (inocuidad de alimentos y salud animal);
- la conservación o mejoramiento de la calidad del producto básico (por ejemplo, extensión de la vida útil de almacenamiento); o
- la inducción de la mutagénesis.

La NIMF No. 18 incluye los siguientes elementos:

1. Autoridad

La ONPF tiene a su cargo los aspectos fitosanitarios de evaluación, adopción y utilización de la irradiación como medida fitosanitaria.

2. Objetivo del tratamiento

La irradiación como medida fitosanitaria tiene como objetivo prevenir la introducción o dispersión de plagas reglamentadas. Esto se puede lograr obteniendo ciertas respuestas en la(s) plaga(s) objetivo, tales como:

- la mortalidad;
- prevenir el desarrollo exitoso (por ejemplo, inhibir la emergencia de adultos);
- la incapacidad para reproducirse (por ejemplo, esterilidad); o
- la inactivación.

La utilización de la irradiación con fines fitosanitarios también incluye la desvitalización de plantas (por ejemplo, las semillas pueden germinar pero las plántulas no crecen; o los tubérculos, los bulbos o los esquejes no brotan).

2.1 Eficacia

La ONPF del país importador deberá definir específicamente la eficacia del tratamiento requerido. El mismo consta de dos componentes distintos:

- una descripción precisa de la respuesta requerida;
- el nivel estadístico de la respuesta requerida. Se debe especificar la respuesta describiendo la forma en que se medirá.

Se pueden detallar una serie de opciones específicas cuando la respuesta que se espera sea la incapacidad de la plaga para reproducirse. Entre ellas se pueden incluir:

- la esterilidad total;
- la fertilidad limitada de un solo sexo;
- la oviposición y/o eclosión sin desarrollo adicional;

- el comportamiento modificado; y
- la esterilidad de la generación F1.

3. Tratamiento

La radiación ionizante puede obtenerse mediante isótopos radiactivos (rayos gamma provenientes del cobalto-60 o cesio-137); con electrones acelerados con energía máxima (de 10 MeV) o por medio de rayos X con energía (de hasta 5 MeV) (límites establecidos por el Codex Alimentarius).

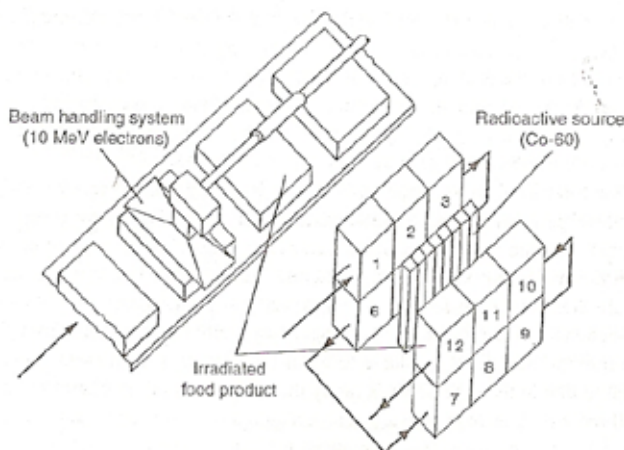


Figura 5. Diagrama esquemático de instalaciones de irradiación. Izquierda: instalación de electrones acelerados. Derecha: Instalación con fuente de Co-60. (Dosimetry for Food Irradiation, Tech. Report Series No. 409, IAEA, Vienna 2002).

La unidad de medición para la dosis absorbida deberá ser en Gray (Gy).

Entre las variables que se considerarán cuando se apliquen los tratamientos se incluyen la tasa de dosis, la duración del tratamiento, la temperatura, la humedad, la ventilación y las atmósferas modificadas; las cuales deben ser compatibles con la eficacia del tratamiento.

Las atmósferas modificadas pueden disminuir la eficacia del tratamiento a una dosis prescrita.

Los procedimientos del tratamiento también deberán asegurar que se alcance completamente la dosis mínima absorbida (D_{min}) en todo el producto básico con el fin de obtener el nivel de eficacia prescrito. Al aplicar los tratamientos por irradiación hay que tener en cuenta el uso final al que se destinará el producto.

Se podrán encontrar plagas objetivo vivas, debido a que pocas veces la mortalidad se justificará técnicamente como la respuesta requerida. Por consiguiente, es fundamental que el tratamiento por irradiación asegure que las plagas no puedan

reproducirse. Además, es preferible que dichas plagas no puedan emerger o escapar del producto básico a menos que puedan distinguirse prácticamente de las no irradiadas.

3.1 Aplicación

La irradiación puede aplicarse:

- como parte integral de las operaciones de embalaje
- a los productos básicos a granel (tal como los granos que se movilizan sobre una banda);
- en ubicaciones centralizadas tal como los puertos de embarque.

Cuando la seguridad fitosanitaria sea adecuada y la movilización en tránsito del producto básico sin tratamiento sea factible en términos operativos, el tratamiento también puede realizarse en:

- el punto de ingreso;
- en un sitio designado en un tercer país;
- en un sitio designado dentro del país de destino final.

Los productos básicos que han recibido tratamiento deberán certificarse y liberarse solamente cuando las medidas de dosimetría confirmen que se ha cumplido con la Dmin. Cuando corresponda, es posible que se repita la aplicación del tratamiento a los envíos, siempre que la dosis máxima absorbida esté dentro de los límites permitidos por el país importador.

4. Dosimetría

La dosimetría asegura que la Dmin requerida para un producto básico determinado se aplique a todas las partes del envío. La selección del sistema de dosimetría deberá ser de tal forma que la respuesta del dosímetro abarque todo el rango de la dosis que pueda recibir el producto. Además, dicho sistema deberá calibrarse conforme a las normas internacionales o las normas nacionales apropiadas (por ejemplo, la Norma ISO/ASTM 51261 Guide for selection and calibration of dosimetry systems for radiation processing).

Los dosímetros deberán ser los apropiados para las condiciones del tratamiento. Deberán evaluarse en función de la estabilidad frente a los efectos de las variables tales como la luz, la temperatura, la humedad, el período de almacenamiento y el tipo y duración de los análisis requeridos.

La dosimetría deberá considerar las variaciones

debido a la densidad y la composición del material que reciba el tratamiento, las variaciones en la forma y el tamaño, en la posición del producto, el apilamiento, la cantidad y el embalaje. Se requerirá el mapeo de la dosis del producto en cada configuración geométrica del embalaje, la disposición y la densidad del producto que se utilizará durante los tratamientos rutinarios, antes que la ONPF apruebe la instalación para aplicar el tratamiento. Se utilizarán solamente las configuraciones aprobadas por la ONPF para los tratamientos.

4.1 Calibración de los componentes del sistema de dosimetría

Todos los componentes del sistema de dosimetría deberán calibrarse conforme a los procedimientos de funcionamiento normalizados que estén documentados.

Una organización independiente reconocida por la ONPF deberá evaluar el rendimiento del sistema de dosimetría.

4.2 Mapeo de la dosis

Los estudios sobre el mapeo de la dosis deberán realizarse para caracterizar completamente la distribución de la dosis en las cámaras de irradiación y en los productos básicos, y identificar la ubicación y magnitud de la mínima y máxima dosis. La información proveniente de los estudios sobre el mapeo se utiliza en la selección de las ubicaciones para los dosímetros durante los procesos de rutina.

4.3 Dosimetría de rutina

La medición precisa de la dosis absorbida en un envío es fundamental para determinar y monitorear la eficacia, además forma parte del proceso de comprobación. La cantidad, la ubicación y la frecuencia necesarias de estas medidas deberán prescribirse basándose en el equipo, los procesos, los productos básicos y las normas pertinentes específicas, además de los requisitos fitosanitarios.

5. Aprobación de las instalaciones

Las autoridades normativas competentes en el campo nuclear (Autoridad Regulatoria Nuclear –ARN–) deberán aprobar las instalaciones que ofrecen tratamientos, cuando corresponda. Dichas instalaciones igualmente deberán estar sujetas a la aprobación (la calificación, la certificación o la acreditación) por parte de la ONPF (SENASA) en el país en donde se encuentran ubicadas antes de aplicar los tratamientos fitosanitarios.

6. Integridad del sistema fitosanitario

La confianza en la idoneidad del tratamiento por

irradiación se basa principalmente en la seguridad de que el tratamiento es eficaz contra las plagas de interés, bajo condiciones específicas, y que el mismo se ha realizado en forma apropiada, además de que los productos básicos estén protegidos adecuadamente. A la ONPF del país en donde se encuentra ubicada la instalación le corresponde asegurar la integridad del sistema, de tal forma que los tratamientos cumplan con los requisitos fitosanitarios del país importador.

La investigación sobre la eficacia y la dosimetría aseguran que se utilizarán solamente tratamientos eficaces. Los sistemas bien diseñados y monitoreados detenidamente para aplicar el tratamiento y brindar protección aseguran que los tratamientos se realizan en forma apropiada y que los envíos se protejan de las infestaciones, las reinfestaciones o la pérdida de la integridad.

6.1 Medidas de seguridad fitosanitarias en la instalación que ofrece el tratamiento

Debido a que no suele ser posible distinguir a simple vista los productos irradiados de los no irradiados, los productos básicos que han recibido tratamiento deberán separarse, identificarse claramente y manipularse en forma adecuada bajo condiciones que los protejan contra la contaminación y/o infestación o identificación errónea.

Es esencial contar con un medio seguro para movilizar el producto básico desde las áreas de recepción hacia las áreas de tratamiento sin que haya una identificación errónea o riesgo de contaminación cruzada y/o infestación. Se deberán acordar de antemano, los procedimientos apropiados que sean específicos para cada instalación y programa de tratamiento del producto básico. Los productos básicos que se desembalen o expongan en su embalaje requieren protección inmediata después del tratamiento, con el fin de asegurar que posteriormente no estén sujetos a infestación, reinfestación o contaminación.

Si el tratamiento se aplica antes de que se lleve a cabo la exportación, sería conveniente embalar el producto básico antes de aplicar la irradiación para prevenir la reinfestación; o si se realiza en el lugar de destino, sería recomendable embalarlo para prevenir el escape accidental de la(s) plaga(s) objetivo.

6.2 Etiquetado

Los productos embalados deberán etiquetarse con número de lote de tratamiento y otras características que lo identifiquen, permitiendo de esta manera su

rastreabilidad (es decir, la identificación y ubicación de las instalaciones y fecha de embalaje y tratamiento).

6.3 Verificación

La idoneidad de los procedimientos y de las instalaciones que ofrecen los tratamientos deberán verificarse mediante el monitoreo y la revisión aleatoria de los registros de dichas instalaciones que incluyen, según sea necesario, la supervisión directa del tratamiento. La supervisión directa y continua no será necesaria cuando los programas de tratamientos estén diseñados en forma apropiada, y con la finalidad de asegurar un alto nivel de integridad del sistema de la instalación, el procedimiento y el producto básico en cuestión. El nivel de supervisión deberá ser suficiente para detectar y corregir deficiencias con prontitud.

La instalación y la ONPF de su país llegarán a un acuerdo de cumplimiento, el cual puede incluir lo siguiente:

- la aprobación de la instalación por parte de la ONPF de su país;
- el programa de monitoreo según lo administre la ONPF del país en donde se realizan los tratamientos;
- disposiciones para una revisión aleatoria que permita realizar visitas sin previo aviso;
- acceso libre a los registros y documentación de la instalación que ofrece tratamiento; y
- medidas correctivas que se tomarán en caso de incumplimiento.

7. Documentación de la instalación que ofrece tratamiento

A la ONPF del país en donde la instalación está ubicada le compete verificar el mantenimiento de registros y la documentación de la instalación que ofrece tratamiento, además de asegurar que los mismos estén a disposición de las partes interesadas. Al igual que con cualquier tratamiento fitosanitario, es primordial la capacidad de rastreabilidad.

7.1 Documentación de los procedimientos

Los procedimientos documentados ayudan a asegurar que los productos básicos reciban tratamientos uniformes tal como se requiere. Por lo general, los controles de los procedimientos y los parámetros de operación se establecen para brindar los detalles operativos necesarios para una instalación y/o autorización específica. El administrador de la instalación debe documentar los programas de calibración y de control de calidad. Como mínimo, un procedimiento acordado por

escrito deberá abarcar lo siguiente:

- los procedimientos para manipulación de los envíos antes, durante y después del tratamiento;
- la posición y la configuración del producto básico durante el tratamiento;
- los parámetros críticos del procedimiento y los medios para su monitoreo;
- la dosimetría;
- los planes de contingencia y las medidas correctivas que se tomarán si el tratamiento no funciona o se presentan problemas con los procedimientos críticos del tratamiento;
- los procedimientos para manipular los lotes rechazados;
- el etiquetado, el mantenimiento de registros y los requisitos de la documentación.

7.2 Registros de la instalación y rastreabilidad

La administración de los embaladores así como la de las instalaciones que ofrecen tratamientos deberán mantener los registros correspondientes. Dichos registros deberán estar a disposición de la ONPF para su revisión, es decir cuando sea necesario su rastreabilidad.

La instalación de irradiación deberá mantener registros apropiados de los tratamientos para fines fitosanitarios, al menos durante un año para asegurar la rastreabilidad de los lotes que han recibido tratamiento. El administrador de la Instalación deberá mantener todos los registros de cada tratamiento. La instalación que realiza el tratamiento debe mantener los registros de la dosimetría por lo menos durante un año completo después de haber realizado el tratamiento. En la mayoría de los casos, otras autoridades requerirán estos registros, pero también deberán estar a disposición de la ONPF para su revisión.

Otro tipo de información que posiblemente necesite mantenerse consiste en:

- la identificación de la instalación y personas responsables;
- la identidad de los productos básicos que recibieron tratamiento;
- la finalidad del tratamiento;
- la(s) plaga(s) reglamentada(s) objetivo;
- la identificación de la instalación que realizó el embalaje, el productor, y del lugar de producción del producto básico;
- el tamaño del lote, la cantidad e identificación, incluyendo la cantidad de artículos o embalajes;
- las marcas o características que lo identifican;

- la cantidad en el lote;
- la dosis absorbida (objetivo y medida);
- la fecha en que se realizó el tratamiento;
- cualquier anomalía que se observe en la especificación del tratamiento.

8. Inspección y certificación fitosanitaria por la ONPF

8.1 Inspección de exportaciones

La inspección para asegurar que los envíos cumplan los requisitos fitosanitarios del país importador deberá incluir lo siguiente:

- comprobación de la documentación, y
- examen para detectar plagas no objetivo.

La revisión de la documentación para garantizar que esté completa y exacta constituye la base para certificar el tratamiento. La inspección se lleva a cabo para detectar cualquier plaga no objetivo, y se puede realizar antes o después del tratamiento. Si se encuentran plagas no objetivo, la ONPF deberá comprobar si son plagas reglamentadas para el país importador.

Se pueden encontrar plagas objetivo vivas después de haberse realizado el tratamiento, pero esto no deberá causar el rechazo de la certificación, excepto cuando la respuesta exigida sea la mortalidad. Cuando el resultado que se requiera sea la mortalidad, se podrán encontrar plagas objetivo vivas durante el período posterior a la aplicación del tratamiento dependiendo de la especificación de la eficacia (véase la sección 2.1). Si se encuentran plagas vivas, la certificación podrá basarse en revisiones aleatorias que confirmen que se alcanzará la mortalidad. Además, cuando la mortalidad no sea la respuesta requerida, es muy probable que las plagas objetivo vivas puedan persistir en el envío que ha recibido tratamiento, lo cual tampoco deberá motivar el rechazo de la certificación. Las revisiones aleatorias, incluyendo los análisis de laboratorio, pueden llevarse a cabo para asegurar que se obtenga la respuesta requerida.

Dichas revisiones pueden ser parte del programa de comprobación usual.

8.2 Certificación fitosanitaria

La certificación fitosanitaria conforme a la CIPF valida la culminación exitosa de un tratamiento por irradiación cuando lo requiera el país importador. El Certificado Fitosanitario o su documentación relacionada deberá especificar por lo menos los

lotes que recibieron tratamiento, la fecha en que lo recibieron, la dosis mínima objetivo y la Dmin comprobada.

La ONPF puede expedir Certificados Fitosanitarios basándose en la información del tratamiento que le proporcione la entidad aprobada por la ONPF. Nótese que el Certificado Fitosanitario puede exigir otro tipo de información para comprobar que también se han cumplido los requisitos fitosanitarios adicionales (véase la NIMF N° 7: Sistema de certificación para la exportación y la NIMF N° 12: Directrices para los certificados fitosanitarios).

8.3 Inspección de importaciones

Cuando la mortalidad no sea la respuesta exigida, la detección de etapas vivas de dichas plagas en la inspección de importaciones no deberá considerarse como incumplimiento debido a un fracaso del tratamiento, a menos que existan evidencias que indiquen que la integridad del sistema de tratamiento era inadecuada. Los análisis de laboratorio o de otro tipo pueden realizarse en la(s) plaga(s) objetivo que sobrevivan, con el fin de comprobar la eficacia del tratamiento. Dichos análisis se necesitarán solamente con poca frecuencia como parte del monitoreo, salvo que existan evidencias que indiquen que hay problemas en el procedimiento de tratamiento. Cuando la mortalidad sea la respuesta exigida, se puede confirmar esta mortalidad. Cuando la mortalidad sea un requisito, se pueden encontrar plagas objetivo vivas cuando el período de transporte sea breve, pero normalmente no deberá motivar el rechazo del envío, a menos que se haya superado el tiempo establecido para la mortalidad.

La detección de otras plagas que no sean las plagas objetivo en las importaciones deberá evaluarse con respecto al riesgo que presenten y a las medidas apropiadas que se apliquen, considerando en especial el efecto que pueda haber tenido el tratamiento en éstas. La ONPF del país importador puede detener el envío y tomar cualquier otra acción que considere apropiada. Las ONPF deberán especificar claramente los planes de contingencia que se llevarán a cabo si se encuentran plagas vivas:

- plagas objetivo — no se tomarán medidas a menos que no se obtenga la respuesta requerida;

- plagas reglamentadas no objetivo:

- no se requerirán medidas si se cree que el tratamiento ha sido eficaz
- se requerirán medidas si hay datos insuficientes o

no se sabe si el tratamiento es eficaz;

- plagas no reglamentadas, no objetivo — no se requerirá medida o acción de emergencia para las plagas nuevas.

En caso de incumplimiento o acción de emergencia, la ONPF del país importador deberá notificar lo antes posible a la ONPF del país exportador (véase la NIMF N° 13: Directrices para la notificación de incumplimiento y acción de emergencia.)

8.4 Métodos de verificación de la eficacia del tratamiento en la inspección de exportación e importación

A petición del país importador, el país exportador debe describir los métodos de verificación, incluidas las pruebas o análisis de laboratorio para determinar si se ha alcanzado la respuesta exigida.

8.5 Administración y documentación por parte de la ONPF

La ONPF debe contar con la capacidad y los recursos para evaluar, monitorear y autorizar la irradiación realizada con fines fitosanitarios. Las políticas, los procedimientos y los requisitos elaborados para la irradiación deberán estar en concordancia con aquellos relacionados con otras medidas fitosanitarias, salvo cuando la utilización de la irradiación requiera un enfoque diferente debido a circunstancias particulares.

El monitoreo, la certificación, la acreditación y la aprobación de instalaciones que ofrecen tratamientos fitosanitarios por lo general lo realiza la ONPF del país en donde está ubicada la instalación, sin embargo mediante acuerdo de cooperación se puede acordar que lo realice:

- la ONPF del país importador;
- la ONPF de país exportador; u
- otras autoridades nacionales.

9. Investigaciones

ANEXO 1

Tratamientos específicos aprobados

ANEXO 2

Lista de control (checklist) para la aprobación de la instalación

APÉNDICE 1

Cálculo de la dosis mínima absorbida para ciertas respuestas de grupos de plagas seleccionadas.

La tabla a continuación identifica el rango de la dosis mínima absorbida para los grupos de plagas basándose en las investigaciones de los tratamientos reportadas en las publicaciones científicas. Las dosis mínimas se tomaron de diversas publicaciones que se encuentran en las referencias que figuran a continuación. Las pruebas confirmativas deberán realizarse antes de adoptar la

dosis mínima para un tratamiento específico de una plaga.

Para asegurar que se obtenga la dosis mínima absorbida para los fines fitosanitarios, se recomienda buscar información acerca de la Dmin para las especies objetivo determinadas y también tomar en cuenta la nota que figura en el Apéndice 2.

Grupos de plagas	Respuesta requerida	Rango de la dosis mínima (Gy)
Áfidos y moscas blancas (Homoptera)	Esterilizar adulto en reproducción	50-100
Picudos de semillas (Bruchidae)	Esterilizar adulto en reproducción	70-300
Escarabajos (Scarabidae)	Esterilizar adulto en reproducción	50-150
Moscas de la fruta (Tephritidae)	Evitar emergencia del adulto en su 3er estadio	50-250
Picudos (Curculionidae)	Esterilizar adulto en reproducción	80-165
Barrenadores (Lepidoptera)	Evitar el desarrollo del adulto en su último estado larval	100-280
Trips (Thysanoptera)	Esterilizar adulto en reproducción	150-250
Barrenadores (Lepidoptera)	Esterilizar último estado de pupa	200-350
Ácaros-arañas (Acaridae)	Esterilizar adulto en reproducción	200-350
Escarabajos de almacén (Coleoptera)	Esterilizar adulto en reproducción	50-400
Palomilla de almacén (Lepidoptera)	Esterilizar adulto en reproducción	100-1,000
Nematodos (Nematoda)	Esterilizar adulto en reproducción	~4,000

APÉNDICE 2. Protocolo de investigación

Bibliografía recomendada

Training Manual on Food Irradiation Technology and Techniques, 2nd Edition, internacional Atomic Energy Agency, Viena, 1982.

Food Irradiation, Walter M. Urbain, Academic Press, 1986.

Dosimetry for Food Irradiation, Tech. Report Series No. 409, IAEA, Vienna 2002.

Norma Internacional para Medida Fitosanitaria (NIMF) No. 18 (2003): Directrices para utilizar la irradiación como medida fitosanitaria.

ISO / WD 22008:2008, Food irradiation – Requirements for the development, validation and routine control of the ionization radiation process used for the treatment of food products.

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

C4

Utilización de las bajas temperaturas

Gerardo Gastaminza



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

El tratamiento con frío es uno de los métodos cuarentenarios más antiguos y uno de los más usados actualmente porque es de fácil aplicación y sirve para una amplia gama de productos que son tolerantes al frío. Es un método común de desinfección en frutas frescas y otros productos. Las primeras investigaciones sobre la utilización del frío como tratamiento cuarentenario se llevaron a cabo a partir de 1890, pero se desarrollaron con mayor énfasis a comienzo del siglo veinte. Así Howard, en 1896, menciona por primera vez en la literatura entomológica científica la importancia del almacenamiento con frío en el control de insectos.

Fundamento

Consiste en exponer a las frutas a bajas temperaturas; generalmente por debajo de los 3°C, por períodos de tiempos que garanticen la completa eliminación de las plagas.

Los insectos y su relación con la temperatura:

Los insectos son animales de sangre fría, que se adaptan a las condiciones ambientales, por cambios en las temperaturas del cuerpo de acuerdo a los cambios en el ambiente. Cuando la temperatura ambiental desciende de ciertos niveles, ellos detienen su crecimiento (temperatura límite para el desarrollo o umbral de desarrollo o temperatura de desarrollo cero).

Cuando la temperatura desciende por debajo de los 0°C, si bien algunas especies pueden morir, la mayoría de las especies de insectos pueden sobrevivir con temperaturas cercanas a 0°C.

En la mayoría de los insectos el umbral de desarrollo esta alrededor de los 10°C; sin embargo la reacción a temperaturas inferiores, difiere marcadamente con la especie de insecto. Algunos insectos mueren con exposiciones cortas a temperaturas sobre 0°C; sin embargo otras pueden sobrevivir a exposiciones de -50°C o -60°C por largos períodos. Por ejemplo los insectos que viven en regiones templadas o frías inician la preparación de la hibernación a comienzos del otoño. Con la excepción de fríos extremos e inusuales, que exceden los límites de tolerancia, la mayoría de los insectos pueden sobrevivir el invierno y alcanzar la primavera; por esta razón es generalmente difícil matar a los estados de los insectos que han entrado en diapausa invernal. Razón por la cual los tratamientos con frío con

temperaturas cercanas a 0°C son aplicables a un rango limitado de especies. Pueden ser aplicados con éxito en aquellos insectos de regiones tropicales o subtropicales, donde las temperaturas atmosféricas rara vez son inferiores a los 0°C o para los estados de desarrollo activos de los insectos de regiones templadas o frías.

Mecanismo de acción letal de las bajas temperaturas: El efecto letal de las bajas temperaturas puede dividirse en dos grandes grupos:

A.- Temperaturas sobre cero

El mecanismo de acción letal de estas temperaturas han sido poco estudiadas hasta el presente. Algunos autores, parangonándolo con el comportamiento que ocurre en los vegetales, sostienen que la capa lipídica de la membrana celular es la responsable de la fluidez de la misma, lo que es fundamental para el funcionamiento apropiado de los sistemas enzimáticos (transportes electrónicos, fosforilaciones), de transportes localizados en ella y para que ésta funcione como barrera física que impida el paso libre de sustancias entre los compartimentos subcelulares. Un descenso moderadamente rápido de la temperatura no permite una adaptación de la composición lipídica de las membranas a la nueva situación, lo que las convierte en más cristalinas, menos fluidas, con las consecuencias funcionales normalmente fatales de la pérdida de fluidez. De estas consecuencias funcionales, las más graves se deberían a la baja producción de ATP y más aún al libre paso de sustancias a través de las membranas. La salida de sus componentes determina un colapso del funcionamiento de la célula y su muerte.

B.- Temperaturas bajo cero

Cuando las temperaturas descienden por debajo de los 0°C. y este proceso se realiza en forma lenta, el agua intercelular comienza a congelarse. La temperatura a la cual el agua intercelular se congela se denomina punto de supercongelamiento. El término tolerancia al frío de los insectos es aplicado al grado de habilidad de los mismos de bajar el punto de supercongelamiento.

Al congelarse el agua extracelular (por poseer un menor contenido de soluto), determina que la concentración de solutos en el exterior aumente, lo que provoca una salida de agua desde el interior de la célula con la correspondiente pérdida de turgencia. Si el proceso continúa las células mueren por desecación.

Por otro lado cuando el enfriamiento es brusco, se forman dentro de las células cristales de hielo cuyo crecimiento rompen las subestructuras celulares, las membranas y la ordenación estructural de muchas proteínas. La muerte de las células en este caso se produce por una pérdida de sus componentes a través de la membrana, a la vez que por una pérdida de la actividad de muchas enzimas. El congelamiento del agua intracelular es definitivamente letal para muchos insectos.

Mecanismos de defensa de los insectos a las bajas temperaturas

La tolerancia al frío puede generalmente dividirse en tolerancia al congelamiento o bajas temperaturas y en la no tolerancia al congelamiento. Las especies tolerantes al congelamiento pueden sobrevivir con temperaturas que permiten la formación del hielo extracelular, mientras que los del segundo grupo sobreviven únicamente a temperaturas superiores a las temperaturas de cristalización. (Bale, 1987; Salt 1961 citado por Cheng Ping Chen *et al.*, 1994). Las temperaturas que no producen congelamiento, son aquellas que se encuentran por arriba de la temperatura de cristalización pero que pueden causar daño por enfriamiento indirecto (que es el resultado de un largo período de exposición a las bajas temperaturas) o un daño directo (cold – shock) que es el resultado de un rápido enfriamiento (Lee, 1991; Morris and Watson, 1984 citado por Cheng Ping Chen *et al.*, 1994). Estos dos tipos de daños por frío son conocidos en un amplio rango de organismos desde bacterias hasta animales mamíferos (Watson and Morris 1987 citado por Cheng Ping Chen *et al.*, 1994).

En los insectos la tolerancia al *cold shock* puede ser incrementada por un corto período de aclimatación, en un proceso conocido como respuesta rápida al *cold hardening* (Chen *et al.* 1987; Lee *et al.* 1987; Coulson and Bale, 1990; Czajka and Lee, 1990, citado por Cheng Ping Chen *et al.*, 1994). Las temperaturas a las que se producen la aclimatación al frío (*cold acclimation*) son aquellas que se encuentran definidas en el rango de temperaturas debajo del umbral de crecimiento pero superiores a las temperaturas donde ocurre una gran mortalidad. Temperaturas por debajo de este rango pero superiores a la temperatura de cristalización (que es donde se forman el hielo en los fluidos del cuerpo) son definidas como condiciones de *cold – shock*. (Czajka and Lee 1990, citado por Cheng Ping Chen *et al.*, 1994).

Utilización de las bajas temperaturas como tratamiento cuarentenario

A continuación se detallan en forma cronológica las principales investigaciones realizadas durante el siglo pasado. A pesar de su extensión se consideró conveniente transcribir las completamente para reflejar los distintos enfoques de los investigadores a lo largo de todo este tiempo, tratando al final de la misma de presentar en forma resumida las conclusiones.

De la revisión bibliográfica realizada, se puede mencionar que: en 1906 Fuller reportó la supervivencia de *Ceratitis capitata* en embarques de duraznos mantenidos a 3,9°C. - 4,4 °C por 124 días.

En 1907 Lounsbury trabajando con duraznos, estableció que en tres semanas a 3,3°C - 4,4 °C morían todas las larvas.

En el mismo año Hooper, trabajando con manzanas, peras y duraznos infestadas con *C. capitata*, encontró que estas no sobrevivían cuando eran sometidas a 0,56°C. - 1,67 °C por 15 días.

En 1914 Wilcox y Hunn, reportaron que las larvas de *C. capitata* no sobrevivieron a 0 °C por 4,5 días y que cuando la exposición era de 2,5 días, los adultos no emergían de las pupas formadas.

Back y Pemberton (1916; 1918), fueron los primeros en trabajar intensamente en laboratorio sobre los efectos de las bajas temperaturas en huevos, larvas y pupas de *C. capitata*, en duraznos y manzanas. Encontraron que a temperaturas entre 4,4°C. y 7,2 °C morían todos los estados en siete semanas, mientras que entre 0,56°C y 4,4 °C lo hacían en tres semanas y entre 0°C. y 0,56 °C en dos semanas, mientras que usando temperaturas entre - 4,4°C y -1,1°C morían los huevos en 7 días, las larvas en 6 días y las pupas en 4 días. También establecieron que las larvas eran generalmente más tolerantes que los huevos, siendo las del 3er estadio la más tolerante respecto al frío. Afirmaron que no es probable que la naturaleza de la fruta hospedera afecte la acción de la temperatura.

En experiencias realizadas en Sudáfrica, las larvas de *C. capitata* sobrevivieron por seis semanas a una temperatura entre -3,9°C y 6,7°C. (Departamento de Agricultura de Sudáfrica, 1923).

En 1929 se realizaron los primeros tratamientos cuarentenarios con frío para *C. capitata* en Florida, EUA. El tratamiento utilizado fue de -2,2°C por 5

horas, seguidas de $-1,1^{\circ}\text{C}$ por 5 días para eliminar todos los estadios (Baker y Richardson, 1952), pero luego se modificó a $1,1^{\circ}\text{C}$ por 12 días, ya que el primer tratamiento causaba daños en los cítricos (Richardson, 1958).

Entre los años 1929 a 1937, se utilizaron exposiciones de $-1,1$ a $-0,55^{\circ}\text{C}$ por 15 días, para la eliminación de *Anastrepha ludens* (Loew.) en cítricos de Texas y México (Baker et al. 1944).

En 1931 Pettet y Griffiths en ensayos realizados en uvas y peras, registraron que ningún estadio de *C. capitata* sobrevivió 3 semanas a $0 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$.

En 1934 Mason y Mc Bride trabajando con naranjas, paltas y manzanas, establecieron la completa mortalidad de todos los estados inmaduros durante 8-11 días a una temperatura de $-1,67^{\circ}\text{C}$. a $-0,56^{\circ}\text{C}$, bajo condiciones comerciales de almacenaje en Hawaii.

Entre 1935 y 1938 trabajos realizados en Puerto Rico en mangos y guayabas infestadas con *Anastrepha obliqua* (Macquart) y *Anastrepha suspensa* (Loew.) mostraron que las larvas no sobrevivieron a exposiciones de 9 días a 0°C . ; 13 días a $1,1^{\circ}\text{C}$; o 16 días a $2,2^{\circ}\text{C}$; sin embargo estos tratamientos no fueron aplicados comercialmente ya que los mismos dañaban las frutas (Burditt et al. 1982).

En 1936 Nel registró la total destrucción de todos los estados de *C. capitata* en 9 días a $-0,56^{\circ}\text{C}$, 12 días a $1,1^{\circ}\text{C}$ y 16 días a $2,77^{\circ}\text{C}$.

En 1947 los Estados Unidos imponen restricciones a la importación de frutas de Argentina proveniente de zonas afectadas con *C. capitata*, estableciendo un tratamiento de 1°C . por 12 días; posteriormente en 1948 al comprobar que la dispersión de *Anastrepha fraterculus* era similar a la de *C. capitata* cambiaron el tratamiento de frío a 18 días a $0,5^{\circ}\text{C}$. (Vergani, 1956).

En Australia tratamientos de 14 días a $0,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.; o 16 días $1,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ lograron la completa desinfección de manzanas Granny Smith infestadas con huevos, larvas jóvenes (1er y 2do estadio) y larvas del 3er estadio de *C. capitata* (Sproul, 1976).

Tebbets et al., (1978) trabajando con los estados juveniles de *Amyelois transitella* Walker (Lepidoptera: Pyralidae), determinaron que la tolerancia al frío se incrementaba con la edad de los huevos y larvas, siendo necesarios 28 días a $3,5^{\circ}\text{C}$. para lograr la eliminación de todos los estadios.

Tratamientos de 21 días a $1,1^{\circ}\text{C}$ fueron utilizados para la eliminación de larvas de *A. suspensa* (Loew) en cítricos con destino a Japón (Benschoter, 1983; 1984; Benschoter et al. 1984).

Trabajos realizados para *Bactrocera dorsalis* (Hendel) y *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett), mostraron que 9 días a $-1,1^{\circ}\text{C}$.; 12 días a $2,7^{\circ}\text{C}$. ; 14 días a $4,4^{\circ}\text{C}$. y más de 28 días a temperaturas superiores a $7,2^{\circ}\text{C}$., mataban a todos los estadios de *B. dorsalis*; mientras que para *B. cucurbitae* eran necesarios 7 días a $-1,1^{\circ}\text{C}$. y 10 días a $2,7^{\circ}\text{C}$ para lograr la eliminación de todos los estadios (Burditt et al. 1985).

Hill et al. (1988) trabajando con naranjas Valencia, determinaron que las larvas del 3er estadio de *Dacus tryoni* y *C. capitata* fueron las más tolerantes al frío; mientras que los huevos de *C. capitata* los más susceptibles; no encontrando diferencias entre las larvas jóvenes y las del 3er estadio. Determinaron que un tratamiento de 16 días a $1 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ eliminó en naranjas, la totalidad de los huevos y larvas de *D. Tryoni* y *C. Capitata*.

Moffit et al. (1989), trabajando con huevos de *Cydia pomonella* determinaron que la tolerancia al frío de los huevos, no fue afectada significativamente por las variedades de manzanas usadas como sustrato de oviposición.

Gould et al. (1990) desarrollaron un tratamiento de 15 días a $1,1^{\circ}\text{C}$. para carambolas infestadas con *A. suspensa* de Florida con destino a California.

Jessup et al. (1990) trabajando con kiwis infestados con *D. tryoni* determinaron que el estadio más tolerante era la larva del 1er estadio, y que la completa eliminación de todos los estadios se lograba con 12 días a $1^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Jessup et al. (1993), trabajando con limones Eureka y Lisboa infestados con *C. capitata*, determinaron que no había diferencias significativas entre el estado de huevos y los tres estadios larvales en limones Eureka; mientras que en limones Lisboa el 2do estadio era el más tolerante. En el mismo trabajo pero para *B. tryoni*, concluyeron que las larvas del 1er estadio en la variedad Eureka eran la más tolerante al frío, sin encontrar diferencias entre los estados en la variedad Lisboa.

Gould (1996), trabajando carambolas infestadas artificialmente con *A. suspensa* estableció que no había diferencias significativas entre los estados de huevos y larvas en la tolerancia al frío, pero ésta

era mayor en las larvas jóvenes (1er y 2do estadio), larvas del 3er estadio, siendo los huevos los más susceptibles.

Gramajo *et al.* (2000), trabajando con larvas del tercer estadio de *C. capitata* y *A. fraterculus*, en naranjas demostraron que no había diferencias en la tolerancia al frío entre estas dos especies. Similares resultados se obtuvieron al trabajar con ambas especies de moscas de los frutos en mandarinas y pomelos (Willink *et al.* 2007).

Gastaminza (2001) demostró que las variedades de limón no incidían en la tolerancia al frío del estadio más resistente de la mosca del mediterráneo. Igual resultado se obtuvieron al estudiar el comportamiento de la mencionada plaga en cuatro variedades de pomelos, en cinco de naranjas y en seis de mandarinas (Willink *et al.* 2007).

Gastaminza (2001) demostró que los estadios juveniles de *C. capitata* son incapaces de desarrollar procesos de aclimatación térmica a bajas temperaturas, que puedan alterar la efectividad del tratamiento.

En Argentina, con el aporte de la Asociación Fitosanitaria del NOA (AFINOA), la EEAOC desarrolló un tratamiento de 2,1° C durante 19 días para todas las variedades de pomelos y limones y de 21 días a igual temperatura para naranjas Valencias con destino a Japón, (Willink *et al.* 2001; Gastaminza *et al.* 2007). Dichos tratamientos, permitieron, la exportación de cítricos Argentinos a Japón desde el año 2003 y de naranjas y pomelos a China a partir de 2005.

Durante el período 2002 al 2004, la EEAOC evaluó la factibilidad de desarrollar tratamientos con temperaturas superiores a los 2°C, para minimizar el impacto del tratamiento en la calidad de las frutas. En el año 2008, MAFF aprobó los resultados presentados por la EEAOC, aceptando la vigencia de tratamientos a 3,2 °C para pomelos y limones de Argentina durante 23 y 24 días respectivamente (tabla 4), (MAFF 2008)

Con el financiamiento de la Cámara de Exportadores de Cítricos del Noreste Argentino (CECNEA), la EEAOC concluyó un tratamiento para la desinfección de mandarinas (incluye a todas las variedades del grupo Clementinas, Nova, Murcott y Ellendale) con destino a Japón de 23 días a 2°C. En dicho trabajo también se amplió el espectro varietal de naranjas, incorporando a las variedades, Salustiana y grupo Navel. Dicho trabajo, previa auditoria *in situ* realizada por los expertos del MAFF, fue aprobada por el

mencionado organismo.

La EEAOC desarrolló el primer tratamiento cuarentenario con frío para *A. fraterculus*, en naranjas, a nivel internacional (Gramajo, *et al.* 2004; Gastaminza *et al.* 2007), demostrando que los tratamientos que son efectivos para *C. capitata*, también lo son para *A. fraterculus*.

De Lima *et al.* (2007), trabajó con cinco variedades de cítricos, pertenecientes a tres especies: naranjas (Valencia y Navel), mandarinas (Murcott y Ellendale) y limón (Lisboa) y con dos especies de moscas, *C. capitata* y *Bactrocera Tryoni* (la mosca de las frutas de Queensland), concluyendo que para *C. capitata* temperaturas de 2°C, se necesitaron 16 días de exposición en limones y 18 en naranjas y mandarinas, para lograr la seguridad cuarentenaria, mientras que a temperaturas de 3°C se requerían 18 días en limón y 20 en naranjas y mandarinas. Para *B. tryoni*, se necesitaron 14 días de exposición en limones y 16 en naranjas y mandarinas, para lograr la seguridad cuarentenaria a ambas temperaturas.

Santaballa *et al.* (2009), desarrolló un tratamiento cuarentenario para mandarinas clementinas a 2±0,5°C. En dicho trabajo, concluyó que el estado de huevo era el más susceptible al frío, no encontrando diferencia significativa al analizar los diferentes estadios larvales.

En términos generales y en base a los trabajos realizados por la EEAOC, se puede resumir que para el caso de *C. capitata* y *A. fraterculus*, no se encontraron diferencias en la tolerancia al frío entre estas dos especies de moscas de los frutos, siendo las larvas del tercer estadio las más tolerantes al frío. Sin embargo, estas diferencias pueden o no ser significativas desde el punto de vista estadístico, pero en forma práctica son las que requirieron mayores tiempos para su eliminación. No se ha encontrado que las variedades dentro de una misma especie frutal incidieran en la tolerancia al frío de las moscas, pero sí se han encontrado en forma reiterada antecedentes donde la tolerancia de la mosca variaba en función de la especie frutal, lo que supondría una cierta interacción entre el sustrato y las moscas.

Sin embargo, en la amplia revisión bibliográfica mencionada anteriormente se han encontrado bastantes diferencias en cuanto a cuál es el estadio de *C. Capitata* más tolerante al frío y a la incidencia de las variedades en la duración de un tratamiento, algunas de ellas analizadas por Hallman *et al.* (2013), Gastaminza *et al.* (2013) entre otros autores.

La dificultad de comparar los resultados obtenidos entre los diferentes trabajos, radica en que en cada uno de ellos los investigadores utilizaron diferentes metodologías. Para tratar de analizar la incidencia de cada una de las variables involucradas en el desarrollo de un tratamiento y con el objetivo de definir una guía para el desarrollo de un tratamiento térmico, la Internacional Plant Protection Convention (IPPC), convocó a una consulta de expertos, reunión que se realizó en Buenos Aires Argentina (diciembre de 2013), donde se analizaron diferentes tópicos, que dieron lugar a informes técnicos que fueron posteriormente analizados por Phytosanitary Temperature Treatments Expert Group (PTTEG).

Aplicaciones prácticas: tratamientos vigentes

Los Estados Unidos a través del APHIS (Servicio de Inspección de Sanidad Animal y Plantas) estandarizó las temperaturas y los períodos de exposición expresados en días, a los que deben ser sometidas las frutas consideradas hospederos de *C. capitata* u otras especies de moscas de los frutos, para ingresar al país (tabla 1). Esta reglamentación es independiente del país de origen del producto, de la especie o de la variedad (tabla 2).

Este criterio de estandarización de los tratamientos no es compartido por otros países como Japón que establece que cada país debe desarrollar sus propias experiencias para demostrar cuales son las temperaturas y las duraciones que deben tener los tratamientos, ya que las condiciones climáticas, varietales y culturales bajo las que se realizan los cultivos en cada país productor, pueden hacer variar las características fisiológicas de los cultivos, afectando de esta manera la eficiencia de los tratamientos (Anónimo, 1992).

En el caso de Japón, todos los tratamientos con frío autorizados, tienen como destinatarios a moscas de los frutos de origen tropical o subtropical. En el caso de *C. pommonella*, que es

originaria de Europa y que no existe en las regiones tropicales alrededor del Ecuador, únicamente pueden ser eliminadas completamente con el adicional de la fumigación de bromuro de metilo (tablas 3 y 4).

Tabla 1. Tratamientos cuarentenarios con frío reconocidos por EUA.

	<i>C. capitata</i>	<i>Anastrepha ludens</i>	Otras spp. <i>Anastrepha</i>	<i>Bactrocera tryoni</i>	<i>B. cucurbitae</i> - <i>B. dorsalis</i>
0°C	10		11	13	10
0,55°C	11	18	13	14	11
1,11°C	12	20	15	18	12
1,67°C	14	22	17	20	14
2,22°C	16			22	

Tabla 2. Frutas aceptadas por EUA para realizar tratamientos con frío.

Cítricos	Carozo	Pepita	Otros
Naranjas	Cerezas	Peras	Uvas
Pomelos	Duraznos	Manzanas	Kiwi
Mandarinas	Nectarines		Fruta de la pasión

Tabla 3. Tratamientos cuarentenarios con frío reconocidos por Japón.

País	Producto	Plaga	T°C.	Días
Israel	Naranjas dulces	<i>C. capitata</i>	0,5°C	14
	Naranjas dulces	<i>C. capitata</i>	1,5°C	16
Australia	Naranjas dulces	<i>C. capitata</i> – <i>B. tryoni</i>	1°C	16
	Limón	<i>C. capitata</i> – <i>B. tryonit</i>	1°C	14
España	Naranjas dulces	<i>C. capitata</i>	2°C	17
	Limón	<i>C. capitata</i>	2°C	16
Chile	Uva	<i>C. capitata</i>	0°C.	12
	Kiwi	<i>C. capitata</i>	0°C.	14
Sudáfrica	Naranjas dulces	<i>C. capitata</i>	-0,6°C.	12
	Pomelos	<i>C. capitata</i>	-0,6°C.	12
	Limón	<i>C. capitata</i>	-0,6°C.	12
Suazilandia	Naranjas dulces	<i>C. capitata</i>	-0,6°C.	12
	Pomelos	<i>C. capitata</i>	-0,6°C.	12
Taiwan	Ponkan	<i>B. dorsalis</i>	1°C.	14
Estado Unidos	Manzanas	<i>C. pommonella</i>	2,2°C.+Br CH ₃	55
Nueva Zelanda	Manzanas	<i>C. pommonella</i>	0,5°C.+Br CH ₃	25

Tabla 4. Tratamientos cuarentenarios con frío aceptado por Japón para cítricos de Argentina.

Especie	Temperatura de inicio	Duración	Temperatura tratamiento
Limón	1,9°C	19 días	Inferior a 2,2° C
Pomelos	1,9°C	19 días	Inferior a 2,3° C
Naranjas (Valencia, Grupo Navel; Salustiana)	1,9°C	21 días	Inferior a 2,2° C
Mandarinas (Grupo Clementinas, Murcott; Nova, Elledale)	1,9°C	23 días	Inferior a 2,3° C
Limón	3,0°C	24 días	Inferior a 3,2°C
Pomelos	3,0°C	23 días	Inferior a 3,2°C

Revisión de los tratamientos con frío por parte de los EUA.

Los tratamientos con frío establecidos por las autoridades fitosanitarias de los EUA, se basaron en los trabajos desarrollados por Back y Pemberton en 1916 y que fueron ratificados por Baker en la década del treinta, mediante el desarrollo del estadístico denominado probit 9. Sin embargo a partir de las reiteradas intercepciones de mandarinas clementinas con larvas vivas de *C. capitata*, provenientes de España (a pesar de haber recibido el tratamiento térmico vigente a ese momento), ocurridas entre octubre y diciembre del 2001, el USDA decidió convocar a un panel de especialistas para estudiar el fracaso del tratamiento. Como conclusión del mencionado trabajo y luego de una revisión de las investigaciones realizadas tanto en EUA como Australia y Sudáfrica, el APHIS recomendó la modificación del tratamiento vigente (tabla N° 5). Dichas modificaciones incluyeron la extensión en dos días la duración de los tratamientos vigentes hasta el 2002 y la eliminación de los tratamientos a temperaturas inferiores a los 31° F o 1°C, ya que consideraron que los tratamientos a las temperaturas mencionadas no alcanzaban a satisfacer la seguridad cuarentenaria requerida. ((USDA – APHIS, 2002, a, b, c, d, e; Powell, 2003).

Tabla 4. Tratamientos cuarentenarios con frío aceptado por Japón para cítricos de Argentina.

	Vigente hasta 2002	Modificatoria a partir del 2003
Temperaturas	<i>C. capitata</i>	<i>C. capitata</i>
0°C	10	-
0,55°C	11	-
1,11°C	12	14
1,67°C	14	16
2,22°C	16	18

Ventajas y desventajas de la utilización de las bajas temperaturas como tratamiento cuarentenario

Ventajas

- 1- Validez: es un método cuarentenario aceptado internacionalmente.
- 2- Efectivo: ha demostrado ser efectivo en una de las principales plagas cuarentenarias del mundo *Ceratitis capitata* (la mosca del mediterráneo).

3- Seguridad: es un método seguro de implementarse.

4- Inocuo: es un método inocuo para la salud humana.

5- Aceptado: es un método aceptado por los consumidores.

6- Es aplicable a numerosas frutas, sin que estos presenten características indeseables, ej cítricos, arándanos.

7- Operacionales: en el caso de la comercialización a mercados muy alejados es compatible con el transporte a bajas temperaturas.

8- Compatibilidad: es compatible con otros métodos cuarentenarios tanto físicos como químicos (ej. atmósferas modificadas, bromuro de metilo etc.)

Desventajas

La utilización del frío como tratamiento cuarentenario, presenta algunas desventajas, entre las que se pueden mencionar:

1. Duración del tratamiento: generalmente no son inferiores a los 12 días, dependiendo esto de las temperaturas utilizadas. En muchos casos la duración de estos tratamientos dificulta las oportunidades comerciales.
2. Sensibilidad de los productos a desinfectar: no se puede aplicar a cualquier tipo de producto. Los frutos de origen tropical y subtropical generalmente no resisten tratamientos prolongados a bajas temperaturas.
3. Limitado rango de especies plagas a tratar: los tratamientos cuarentenarios desarrollados con éxito se basaron en la eliminación de plagas de origen tropical o subtropical, o estados activos de plagas originarias de regiones templadas frías o frías.
4. Infraestructura: tanto las cuarentenas en origen o en tránsito requieren de cámaras de frío especiales, equipos de registro de temperaturas homologados, etc.
5. Costoso: el costo de las cuarentenas con frío es elevado comparado con otros tratamientos.
6. Problemas de cosecha y postcosecha: el frío

potencia los deterioros de las frutas ocasionados por una cosecha y transporte deficiente.

7. Incertidumbre: la validación del tratamiento depende del cumplimiento de las exigencias de temperatura a lo largo de todo el proceso; si

por alguna razón operativa no se respetan las temperaturas acordadas (ej. fallas en el equipo de frío), si la misma no es muy grande se penaliza la mercadería con un tiempo extra de frío, pero si excede los límites tolerables se invalida todo el tratamiento.



Bibliografía recomendada

Animal and Plant Health Inspection Service – Plant Protection and Quarantine (APHIS-PPQ). 2006

Treatment manual. 2006. [En línea]. Disponible en http://www.aphis.usda.gov/ppq/manuals/online_manuals.html (Consultado Septiembre de 2008).

Anónimo. 1987. Japanese Cold Treatment trial successful. Australian Citrus News. 65: 5.

Anónimo. 1992. Plant quarantine guide. Import Prohibition for plants and plant products. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Government of Japan, Tokio, Japón.

Anónimo. 1993. Requisitos a tener en

cuenta en la elaboración de proyectos de tratamientos cuarentenarios con frío para el control de *Ceratitis capitata*. Comunicación Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Government of Japan, 10 pp.

Anónimo. 1995. Comentarios sobre el plan de pruebas de desinfección en relación a la apertura de la importación de frutas cítricas producidas en Argentina. Sección de Prevención Epidémica de Plantas de la Dirección de Producción Agrícola y Hortícola. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Government of Japan, Japón, 29 pp.

Back, E. A. & C. E. Pemberton. 1916. Effect of cold storage

temperatures upon the mediterranean fruit fly. Journal of Agricultural research. 5 (15): 657 – 666.

Baust, J. G. & L. K. Miller. 1972. Influence of low temperature acclimation on cold hardiness in the beetle, *Pterostichus brevicornis*. J. Insect Physiol. 18: 1935 – 1947.

Cannon, R. J. C. 1987. Effects of low- temperature acclimation on the survival and cold tolerance of an Antarctic mite. J. Insect Physiol. 33 (7): 509 – 521.

Cheng – Ping Chen & V. K. Walker. 1994. Cold- shock and chilling tolerance in *Drosophila*. J. Insect Physiol. 40 (8): 661 – 669.

Couey, H. M. & V. Chew. 1986.

Confidence limits and sample in quarantine research. J. Econ. Entomol. 79: 887-890.

De Lima, C. P. F., A. J. Jessup, L. Cruickshank, C. J. Walsh, E. R. Mansfield. 2007. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. 35: 39-50.

Denlinger, D. L., R. E. Lee, G. D. Yocum & O. Kukal. 1992. Role of chilling in the acquisition of cold tolerance and the capacitation to express stress proteins in diapausing pharate larvae of the Gypsy moth, *Lymantria dispar*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 21: 271 – 280.

Finney, D. J. 1971. Probit analysis. 3rd. ed. Cambridge Univ., New York.

Gastaminza, G. A. 2001. Tratamiento cuarentenario con frío para *Ceratitis capitata* en limones del NOA. Tesis para obtener el grado de Magíster en Entomología Aplicada. UNLAR, CRILAR, CONICET, 100 pp.

Gastaminza, G., L. M. Argañaraz and E. Willink. 2013. Argentine citrus species and varieties variability to develop cold quarantine treatments for *Ceratitis capitata*. Revision of related literature. Report Expert Consultation on Cold Treatments. (IPPC). Argentina December 2013

Gastaminza, G., E. Willink, M. C. Gramajo, A. Salvatore, M. E. Villagrán, B. Carrizo, A. Macián, R. Avila, P. Favre, S. Toledo, M.F. García Degano, M.G. Socias y A. Oviedo. 2007. Tratamientos con frío para el control de *Ceratitis capitata* y *Anastrepha fraterculus* para la exportación de cítricos. (En línea) Disponible en www.eeaoc.org.ar (consultado 22/09/2008).

Gramajo, M. C, G. Gastaminza, E. Willink & M. E. Villagrán. 2004. Cold treatment for the quarentenary control of *Anastrepha fraterculus* for oranges. 5th Meeting of the Working Group on Fruit Flies of the Western Hemisphere. May 16 – 21 Ft Lauderdale, Florida, USA.

Gould, W. P. & J. L. Sharp. 1990.

Cold storage quarantine treatment for carambolas infested with the Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 83 (2): 458-460.

Gould, W. P. 1994. Cold storage. En SHARP J. L & G. J. HALLMAN (Eds.). Quarantine treatments for pests of food plants. Westview Press, San Francisco, pp. 119-132.

Gould, W. P. 1996. Cold treatment the Caribbean fruit fly and carambolas. En: McPherson, B. A. & G. J. Steck (eds.), Fruit fly pests. A world assessment of their biology and management, St. Lucie Press, Florida, pp.485-489

Gould, W. P. & M. K. Hennessey. 1997. Mortality of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) in carambolas treated with cold-water precooling and cold storage. Florida Entomologist 80 (1): 79- 84.

Hallman, G. J. Tratamientos Cuarentenarios para Plagas de Plantas y Frutas de Exportación. USDA, ARS. Florida. 8 pp.

Hallman, G. J, S. W. Myers, M. F. El-Wakkad, M. D. Tadrous, A. J. Jessup. 2013. Development of phytosanitary cold treatments for oranges infested with *Bactrocera invadens* and *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae) by comparison with existing cold treatment schedules for *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). J Econ Entomol. 2013 Aug;106(4):1608-12.

Hatton, T. T. 1984. Cold treatment for Florida grapefruit. Packinghouse Newsletter. 136:1-2.

Heather, N. W. 1994. Pesticide quarantine treatments. En SHARP J. L & G. J. HALLMAN (Eds.). Quarantine treatments for pests of food plants. Westview Press, San Francisco, pp.89-100.

Hill, A. R., C. J. Rigney & A. N. Sproul. 1988. Cold storage of oranges as a disinfestation treatment against the fruit flies *Dacus tryoni* (Froggatt) and *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: tephritidae). J. Econ. Entomol. 81 (1): 257- 260.

Houck, L. G. & R. T. Hinsch. 1983. Evaluation of van containers for cold treatment of citrus fruit for quarantine purposes. Proc. Fla. State Hort. Soc. 96: 340-344.

Ismail, M. A. 1984. Quarantine treatments for citrus against fruit flies. Citrograph 197-199.

Landolt, P. J., D. L. Chambers & V. Chew. 1984. Alternative to the use of probit 9 mortality as a criterion for quarantine treatments of fruit fly (Diptera: Tephritidae) - infested fruit. J. Econ. Entomol. 77: 285- 287.

Lichtfield, J. T. & F. Wilcoxon. 1949. A simplified method of evaluating dose - effect experiments. J. Exp. Ther. 96: 99- 110.

Mason, A. C. & O. C. McBride. 1934. Effects of low temperatures on the mediterranean fruit fly in infested fruit. J. Econ. Entomol. 28: 897- 902.

Mcdonald, R. E., W. R. Miller & E. J. MitchAM. 1993. Temperature as a quarantine treatment of Caribbean fruit flies (Diptera: Tephritidae) and its effect on product condition and quality. Florida Entomologist. 76 (2): 218- 224.

Meats, A. 1983. Critical periods for developmental acclimation to cold in the Queensland fruit fly, *Dacus tryoni*. J. Insect Physiol. 29 (12): 943 – 946.

Moffitt, H. R. & A. K. Burditt, Jr. 1989. Effects of low temperatures on three embryonic stages of the Codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). J. Econ. Entomol. 82 (5): 1379- 1381.

Newcomer, E. J. 1936. Effect of cold storage on eggs and young larvae of codling moth. J. Econ. Entomol. 29 (6): 1123- 1125.

Piccolo, M. I. 1999. Apuntes de curso de control químico, CRILAR, La Rioja, 30 pp.

Powell, M. K. 2003. Modeling the Response of the Mediterranean Fruit Fly (Diptera:Tephritidae) to Cold Treatment. J. Econ. Entomol. 96(2): 300 – 310.

Putruele, G., N. C. Vaccaro, D. E. Vázquez & N. Abbiati. 1993. Aplicación de la técnica del frío en el control cuarentenario de la mosca del mediterráneo (*Ceratitis capitata* Wied.) en frutas cítricas fresca. Informe, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Entre Ríos Argentina, 157 pp.

Santaballa, E., R. Laborda, M. Cerdá. 2009. Quarantine cold treatment against *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) to export clementine mandarins to Japan. Boletín Sanidad Vegetal Plagas. 35: 501-512.

Sharp, J. L. 1993. Heat and cold treatments for postharvest quarantine disinfestation of fruit flies (Diptera: Tephritidae) and other quarantine pest. Florida Entomologist. 76 (2): 212- 218.

Smith, L. B. 1970. Effects of cold – acclimation on supercooling and survival of the rusty grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (coleoptera: cucujidae), at subzero temperatures. Can. J. Zool. 48: 853-858.

Sproul, A. N. 1976. Disinfestation of Western Australian Granny Smith apples by cold treatment against the eggs and larval stages of the mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*). Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry. 16: 280 – 285

Tebbetts, J. S., C. E. Curtis & R. D. Fries. 1978. Mortality of immature stages of the Navel Orangeworm stored at 3.5°C. J. Econ. Entomol. 71: 875- 876.

Tugwell, B. 1986. Cold treatment of lemons. Australian Citrus News. 47: 4.

[USDA—APHIS] U.S. Department of Agriculture–Animal and Plant Health Inspection Service. 2002a. Evaluation of cold storage treatment against Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Oxford Plant Protection Center, Oxford, NC. (<http://www.aphis.usda.gov/oa/clementine/>).

[USDA—APHIS] U.S. Department of Agriculture–Animal and Plant Health Inspection Service. 2002b. Treatment manual. Plant Protection and Quarantine, Washington, DC. (http://www.aphis.usda.gov/ppq/manuals/pdf_Ples/TM.pdf)

[USDA—APHIS] U.S. Department of Agriculture–Animal and Plant Health Inspection Service. 2002c. Importation of clementines from Spain: proposed rule. Federal Register 67: 45922D45933.

[USDA—APHIS] U.S. Department of Agriculture–Animal and Plant Health Inspection Service. 2002d. Importation of clementines from Spain: Pnal rule. Federal Register 67: 64702D64739.

[USDA—APHIS] U.S. Department of Agriculture–Animal and Plant Health Inspection Service. 2002e. Risk mitigation for Mediterranean fruit flies with special emphasis on risk reduction for commercial imports of clementines (several varieties of *Citrus reticulata*) from Spain. Center for Plant Health Science and Technology, Raleigh, NC. (<http://www.aphis.usda.gov/oa/clementine/>)

Vergani, A. R. 1956. Esterilización por el frío de frutos infestados por larvas de *Anastrepha fraterculus*, Wied. IDIA (abril): 15- 16.

Willink, E., G. Gastaminza & D. Ciancaglini. 1997. Protocolo de trabajo para el proyecto. "Tratamiento para el Control cuarentenario de la mosca del mediterráneo *Ceratitis capitata* (Wied) en frutas cítricas producidas en el Noroeste Argentino para la exportación a Japón. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, Argentina, 21 pp.

Willink, E., G. Gastaminza, M. C. Gramajo, A. R. Salvatore, A. Macián, B. Carrizo, M. E. Villagrán, S. Toledo, D. Ciancaglini, M. Lourdes Fonalleras & G. Muslera. 2001. Cold quarentenary treatment for *Ceratitis capitata* control in citrus species for the japanese market. 4th Meeting of the Working Group on Fruit Flies of the Western Hemisphere. November 25 – 30 Mendoza, Argentina.

Willink, E., G. Gastaminza, M. C. Gramajo, A. Salvatore, M. E. Villagrán, B. Carrizo, A. Macián, R. Avila y P. Favre.. 2007. Estudios básicos para el desarrollo de tratamientos cuarentenarios con frío para *Ceratitis capitata* y *Anastrepha fraterculus* en cítricos de Argentina. (En línea) Disponible en www.eeaoc.org.ar (consultado 22/09/2008).

Wolfenbarger, D. A. 1995. Post-harvest treatment of citrus, mango and other fruit status for quarantine security against *Anastrepha species* (Diptera: Tephritidae). Subtropical plant science. 47: 12-25.

Aire caliente forzado

**Florencia García Degano, Verónica E. Ortiz
y Analía R. Salvatore**

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



El aire caliente forzado es un tratamiento cuarentenario de poscosecha aplicado en frutos y vegetales frescos para eliminar las infestaciones de ciertos organismos patógenos.

El objetivo de este tratamiento es garantizar seguridad cuarentenaria de los productos tratados evitando disminuir su calidad comercial.

Introducción

A partir de la restricción del dibromuro de etileno como fumigante, resurgió el interés de utilizar calor como un agente letal para desinfectar frutos y vegetales frescos.

Entre los tratamientos que utilizan calor podemos mencionar:

- Inmersión en agua caliente
- Vapor caliente
- Aire caliente forzado

La diferencia entre el tratamiento con vapor caliente y el de aire caliente está en el contenido de humedad relativa (HR). En el vapor se usa aire saturado o cercano a la saturación con 100% de HR y transfiere calor en forma continua a la superficie de la fruta a través de la condensación del vapor de agua y por convección del aire caliente.

En el caso del aire caliente forzado, la HR no supera el 60% pudiendo fluctuar durante el tratamiento. La transferencia de calor es únicamente por convección.

Otros tratamientos de aire caliente usados en cuarentena son el calor seco y la esterilización por vapor. (FAO 1983, Anónimo 1985), pero éstos generalmente no se aplican sobre órganos vegetales porque son dañinos para los mismos.

Antecedentes

El tratamiento con aire caliente fue desarrollado por primera vez en Florida, EEUU, para eliminar tres tipos de moscas de los frutos: *Ceratitis capitata*, mosca del mediterráneo, *Dacus cucurbitae*, mosca del melón y *Dacus dorsalis*, mosca oriental; en papayas infestadas de Hawái. La HR utilizada fue de un 40-60% durante el tratamiento completo sin experimentar efectos adversos sobre la calidad de la fruta (Armstrong, *et al.* 1989, Hansen *et al.* 1990). Se calentó con aire forzado la superficie de la fruta

a cuatro temperaturas diferentes 43° C, 45° C, 46,5° C, y 49° C hasta alcanzar una temperatura de 47.2° C en el centro de la misma. Las tres primeras temperaturas requirieron un período de 2 hs, hasta alcanzar la temperatura deseada en el centro de la fruta mientras que la última requirió menos de 1 hora de calor.

Se comprobó que el tratamiento con aire caliente forzado no dañaba la calidad comercial de las papayas.

En diciembre de 1998 se aprobó el tratamiento de aire caliente forzado para pomelos, mandarinas y naranjas navel.

Modo de Acción

En el tratamiento con aire caliente forzado se deben mantener elevadas las temperaturas de la pulpa y de la superficie del fruto para eliminar los insectos. Los mismos mueren en un corto período de tiempo al exponerlos a temperaturas que oscilan entre 45 a 60°C.

La causa de la mortalidad por las altas temperaturas puede ser explicada desde el punto de vista fisiológico debido a un desorden químico que ocasiona la coagulación de las proteínas, la pérdida de agua del cuerpo o deshidratación, inhibición de la acción enzimática, etc.

La tolerancia al calor varía según la especie plaga y el estado de desarrollo de las mismas. Un ejemplo es el trabajo realizado con *Dacus cucurbitae* (mosca del melón) y *Dacus dorsalis* (mosca oriental), comparando las 2 especies en cuanto a su estado de desarrollo más resistente a las elevadas temperaturas; es evidente una correlación entre el tiempo de exposición y la mortalidad, en huevos de 24 hs de edad y en el tercer estadio larval la mosca oriental es más tolerante al calor que la mosca del melón. Los huevos de 4 hs son menos tolerantes que el primer y tercer estadio larval y entre los estadios larvales, el primer estadio es el más tolerante al calor.

Experiencias realizadas en pomelos, en función de su época de maduración demostraron que las variedades tempranas o de media estación toleran tratamientos con aire caliente a 49°C durante 2hs o 48 °C durante 3hs, mientras que los pomelos de estación tardía no toleraban temperaturas superiores a 47.5 °C sin que disminuyera la calidad del jugo (McGuire & Reeder 1992).

Tabla 1. Tolerancia/ Tiempo de Exposición

M: mortalidad

SF: superficie de la fruta

Frutos	3º Estadio Larval	M	T°C	T. de exposición
Mangos (<i>Mangifera indica</i>)	<i>A. oblicua</i>	100%	Pulpa: 48.1° C • SF: 50° C	101-213 min.
Pomelos (<i>Citrus paradisi</i>)	<i>A. suspensa</i>	100%	Pulpa: 44-45 °C • SF: 48+/-0,3 °C	181,7-213,9 min.
Papayas (<i>Carica papaya</i>)	<i>C. capitata</i> , <i>D. cucurbitae</i> , <i>D. dorsalis</i>	100%	Pulpa: 47° C • SF: 45+/- 0,3° C	menos de 60 min.
Carambolas (<i>Averrhoa carambola</i>)	<i>A. suspensa</i>	100%	Pulpa: 45,5 °C • SF: 47+/-0,2 °C	90 min.

Otras experiencias con aire caliente forzado fueron realizadas para eliminar adultos de thrips, *Heliothrips haemorrhoidalis*, y el quinto estadio de la polilla de la manzana *Epiphyas postvittana*, sobre la superficie del níspero japonés *Disopyros kaki* L. Se empleaba aire caliente a una temperatura de 47° C y una HR de un 55-60% durante 15 minutos, logrando una mortalidad del 100%, sin deteriorar la calidad de la fruta (Cowley et al. 1992).

Daños

Para que el tratamiento sea efectivo, se deben matar los insectos sin causar lesiones en los frutos tratados. Sin embargo, las lesiones por calor son directamente proporcional a los grados más altos de temperatura y al mayor tiempo de exposición.

Los síntomas más comunes son:

- Alteración del sabor
- Deformación
- Aparición de manchas sobre la superficie

- Deterioro de la pulpa
- Pudrición

Otro problema que ocasiona el calor es la pérdida de agua de la fruta produciendo dos efectos negativos:

1. A medida que se evapora el agua de la fruta lleva calor con ella, de este modo, calienta lentamente la fruta.
2. Disminución de la calidad de la fruta.

Equipamiento

Las máquinas son operadas por computadoras capaces de registrar la variación de humedad del aire, temperatura, velocidad y la dirección del flujo de aire. Manteniendo el punto de rocío próximo a la temperatura de la superficie de la fruta se evita la humedad de condensación sobre la fruta; de esta manera se obtiene la humedad ideal durante el tratamiento, para prevenir la pérdida excesiva de agua en ella.

Bibliografía recomendada

Anónimo. 1985. Animal and Plant Health Inspection Service. Plant protection and quarantine treatment manual, section III, part 9, pp. 1-3, Section VI-T106, p. 24. U.S. Government Printing Office. Washington, D.C.

Armstrong, J. W., J. D. Hansen, B.K.S. Hu & S. A. Brown. 1989. High-temperature, forced-air quarantine treatment for papayas infested with Tephritidae fruit flies (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 82: 1667-1674.

Cowley, J. M., K. D. Chadfield, & R. T. Baker. 1992. Evaluation of dry heat as a postharvest disinfestation treatment for persimmons. New Zealand J. Crop and Hort. Sci.

20:209-215.

Gould, W. P. 1996. Mortality of *Toxotrypana curvicauda* (Diptera: Tephritidae) in papayas exposed to forced hot air. Florida Entomologist 79 (3) 407-413.

Hallman, G. J. and J. W. Armstrong. 1994. Heated Air Treatments. En: Quarantine treatments for pest of food plants. Cap. 10 149-163pp.

Mangan, R. L. & S. J. Ingle. 1992. Forced hot- air quarantine treatment for mangoes infested with west Indian fruit fly (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 85(5): 1859-1864.

McGuire, R. G. and W. F. Reeder. 1992. Predicting market quality of

grapefruit after hot- air quarantine treatment. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117 (1): 90-95.

Miller, W.R., R. E. McDonald & J. L. Sharp. 1990. Condition of Florida carambolas after hot- air treatment and storage. Proc. Fla. State Hort. Soc. 103: 238-241.

Sharp, J. L. & W. P. Gould. 1994. Control of Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in grapefruit by forced hot- air and hidrocooling. J. Econ. Entomol. 87 (1): 131-133.

USDA. 2002. Forced Hot Air Treatments Moving Forward for Citrus. Agricultural Research Service. <http://www.ars.usda.gov>

Inmersión en agua caliente

**Florencia García Degano, Verónica E. Ortiz
y Cecilia Gramajo**

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

La inmersión en agua caliente es un tratamiento cuarentenario físico de poscosecha que consiste en sumergir un producto (frutos, vegetales, raíces y tallos) en un baño de agua caliente a una temperatura específica durante un tiempo determinado. El tiempo de exposición depende del tipo de producto y de las plagas que pudieran estar presentes en él.

El objetivo del tratamiento es eliminar las infestaciones de diversas plagas, tratando de conservar la calidad comercial del producto y de esta manera garantizar una seguridad cuarentenaria.

El tratamiento de inmersión en agua caliente fue utilizado por primera vez en 1953, en Estados Unidos, usando agua a 43,3°C o 46.1°C mezclada con dibromuro de etileno (DBE), para eliminar infestaciones de moscas de los frutos en papayas y mangos. Durante muchos años el tratamiento de inmersión en agua caliente junto con el DBE fue usado como un tratamiento combinado.

Actualmente el uso del DBE está restringido debido a que se comprobó su relación con trastornos cancerígenos, por lo que se recomienda utilizar tratamientos con calor para la desinfestación de estados inmaduros de ciertos insectos plagas.

Modo de acción

En el tratamiento con agua caliente se debe mantener la temperatura interna de los frutos lo suficientemente elevada para eliminar los insectos, nemátodos, ácaros, caracoles, hongos u otra plaga. Los mismos mueren en un corto período de tiempo al exponerlos a temperaturas entre los 40 - 60°C.

La tolerancia al calor difiere según la especie plaga y el estado de desarrollo. Tabla 1.

La causa de la mortalidad por altas temperaturas ha

sido considerada desde el punto de vista fisiológico como la coagulación de las proteínas solubles de las células corporales, pérdida de agua o deshidratación, inhibición de la acción enzimática, etc.

El tratamiento de inmersión en agua caliente fue desarrollado con mayor éxito en mangos y papayas debido a la resistencia de éstos frutos al calor. Para la desinfección de los otros frutos tropicales se recomienda la fumigación o tratamientos con frío, por la baja tolerancia de los mismos a temperaturas elevadas.

Instalaciones necesarias

Estanque: Las dimensiones y el diseño dependen en buena parte del producto a tratar. El tanque se construye en metal esmaltado en ambas caras, o bien en acero inoxidable. Entre ambas caras se coloca fibra de vidrio como aislante y se ubican los calefactores eléctricos, un termostato y un regulador, además de rejillas de seguridad para evitar el contacto del producto con los calefactores.

Antes de introducir el fruto en el estanque, la temperatura de la pulpa debe ser igual o mayor 21°. Para que el tratamiento de inmersión sea efectivo debe poseer un sistema de circulación continua de agua y sensores de temperatura que permitan tratar varios frutos a la vez. La temperatura y el tiempo de inmersión en dicho estanque dependerá de las características físicas del producto, como ser: variedad, tamaño, forma, densidad de la pulpa y estado de maduración de la fruta. Tabla 2

Consecuencias del tratamiento

Los daños ocasionados en los productos por el tratamiento de inmersión en agua caliente se manifiestan alterando la apariencia física como así también la pulpa de los mismos; representando signos de pérdida de la calidad comercial.

Tabla 1. Comparación entre temperatura y tiempo de inmersión en diferentes frutos.

Frutos	T°	T/I	Plagas
Mango (<i>Mangifera indica</i>)	46°C	90 min.	<i>C.capitata</i> , <i>Bactrocera spp</i> , <i>Anastrepha sp</i>
Pomelo (<i>Citrus paradisi</i>)	43,0°C ± 0,5°C	24 min.	<i>C. c.</i> , <i>B. spp.</i> , <i>A. spp.</i>
Papaya (<i>Carica papaya</i>)	49°C	20 min.	<i>C. c.</i> , <i>B. spp.</i> , <i>A. spp.</i>
Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	46,1°C ± 0,5°C	24 min.	<i>C. c.</i> , <i>B. spp.</i> , <i>A. spp.</i>
Lima persa (<i>Citrus latifolia</i>)	49°C	20 min	<i>Planococcus citri</i> , <i>Pseudococcus odernatti</i>
Banana (<i>Musa acuminata</i>)	50°C	15-20 min.	<i>C. c.</i> , <i>B. spp.</i> , <i>A. spp.</i>

Tabla 2. Relación entre forma, peso y tiempo de inmersión en mangos.

Forma del fruto	Peso	Tiempo de exposición
Var. Elongadas	Hasta 375grs	65 min.
(Francés, Carrot, Zill)	375 a 570 grs	75 min.
Var. Redondas	Hasta 500 grs	75 min.
(T.Atkins Ken, Keith Hayde)	500 a 700 grs	90 min.

Tabla 3. Otros tratamientos de inmersión vigentes.

Hospedero	Huésped	T°	T./ Inm.
Frutos de carozo	<i>Grapholita molesta</i> (polilla oriental)	45°C	40 min.
Mangos - Pomelos	<i>Asynonychus godmani</i> <i>Cryptorhynchus mangiferae</i>	55°C	2 min.
<i>Strelitzia reginae</i>	<i>Pseudaulacaspis cockerelli</i>	49°C	10 min.
<i>Gardenia jasminoides</i>	<i>Coccus viridis</i> (cochinilla verde)	49°C	10 min.

Entre ellos se mencionan: el escaldado (manchas marrones), maduración desigual, hundimientos de la cáscara, putrefacción.

Ventajas y desventajas

El tratamiento de inmersión en agua caliente es considerado como una alternativa no química eficaz para obtener seguridad cuarentenaria sin contaminar el medio ambiente ni perjudicar la salud del hombre.

La inmersión en agua caliente tiene también el

beneficio adicional de controlar enfermedades microbianas de poscosecha como: Antracnosis y mejorar además la condición del fruto en cuanto a la oleocelosis.

Puede ser aplicado no sólo a frutos, sino también a raíces, hojas y tallos.

Se obtienen buenos resultados en cortos períodos de tiempo. En algunos casos, para obtener una mortalidad de la plaga de un 100% se necesitan temperaturas más elevadas de las que puede tolerar el fruto, ocasionándoles daños irreversibles.

Desde el punto de vista económico, su aplicación es desfavorable por el elevado costo de inversión.

Sólo es efectivo para frutos tropicales, especialmente en mangos y papayas.

Consideraciones finales

A pesar de la eficacia del tratamiento de inmersión debido a que, en un corto período de exposición se obtienen resultados favorables, se deberían realizar más estudios para minimizar los efectos provocados por el calor.

Bibliografía recomendada

Anónimo, 2004. Almacenamiento poscosecha y calidad de lima persa *Citrus latifolia* Tan. Consejo Nacional de Producción. Boletín N° 43.

Anónimo. Heat treatments (hot-water immersion, high temperature forced air, vapor heat) as alternative quarantine control technologies for perishable commodities.

Armstrong, J. & Melvin Couey, H. 1996. Fumigation, heat, and cold. In Robinson & Hooper (eds). Fruit flies their biology, natural enemies and control. 419pp.

Carranza, G. 1996. Exportación de papaya hawaiana Tipo Solo. Resumen 89.359 pp.

Gould, W. & Sharp, J. 1992. Hot-water immersion quarantine treatment for guavas infested with Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 85(4): 1235-1239.

Gould, W. & McGuire, R. 2000. Hot water treatment and insecticidal coatings for disinfesting limes of mealybugs (Homoptera: Pseudococcidae). J. Econ. Entomol. 93(3): 1017-1020.

Hallman, G. 1996. Mortality of third instar Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae) reared in diet or grapefruits and immersed in heated water or grapefruit juice. Florida Entomologist 79(2): 168-172.

Hara, A. H., Hata, T. Y., Hu, B. & Tenbrink, V. 1993. Hot-water immersion as a potential quarantine treatment against *Pseudaulacaspis Cockerelli* (Homoptera: Diaspididae). J. Econ. Entomol. 86 (4): 1167-1170.

Hara, A., Hata, T., Hu, B., Kaneko, R. & Tenbrink, V. 1994. Hot-water immersion of Cape Jasmine cuttings for disinfestation of green scale (Homoptera: Coccidae). J. Econ. Entomol. 87(6): 1569-1573.

Sharp, J. L. 1994. Hot water immersion. In Sharp & Hallman (eds). Quarantine treatment for pests food plants. Westview Press, Colorado, 133pp.

Desinfección con vapor de agua

Silvana N. Toledo, M. Fernanda Villagrán

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



El tratamiento con vapor caliente es un método de desinfección que aplica vapor saturado a una temperatura aproximada de 43 – 50° C. Los tratamientos con vapor caliente comenzaron a estudiarse a partir de 1910, pero fue en 1929 aplicado por primera vez para la desinfestación de fruta infestada con *Ceratitis capitata* para prevenir la expansión de la misma en otros estados después de haber invadido Florida, EEUU. Posteriormente su uso declinó rápidamente por la aparición del EDB (Dibromuro de etileno), fumigante que parecía ser la solución para la desinfectación de frutos afectados por moscas de la fruta.

En los inicios de 1980 el vapor caliente volvió a surgir como una alternativa ya que se descubrió que el EDB era cancerígeno.

Además su re- aparición fue acompañada con nuevas tecnologías que resultaron útiles a la hora de resolver algunos inconvenientes del tratamiento.

Los problemas mas frecuentes que se plantearon en la implementación del vapor caliente fueron:

- 1- Elevación uniforme de la temperatura de los frutos por distribución no uniforme del vapor caliente.
- 2- Falta de uniformidad en la temperatura durante el tratamiento.
- 3- Falta de uniformidad en la humedad durante el tratamiento.
- 4- El tiempo que tomaba llegar a la temperatura propuesta dependía de donde era colocada la fruta.
- 5- Daño presente en muchos frutos.

Fundamentos del tratamiento con vapor caliente

El vapor caliente es el más popular y fácil de los métodos de desinfección. Consiste en calor de vapor saturado con 100% de humedad relativa. El aire húmedo se condensa, cuando el agua entra en contacto con la superficie fría de la fruta al inicio del tratamiento. Esto tiene dos beneficios: primero es que la condensación producida en la superficie de la fruta libera calor cuando se produce el cambio de estado del agua, de vapor a líquido aumentado el calor de conducción, transfiriendo este calor a la superficie de la fruta. El segundo es que el agua condensada sobre la superficie de la fruta la recubre e incrementan el área de conducción del calor. El efecto del calor de condensación es equivalente a elevar el consumo de

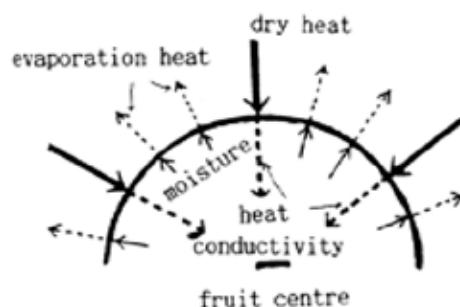
calorías de una fruta en 4° C, asumiendo un radio de 1cm2 de agua sobre la superficie de la fruta en 100g. Por esta razón la eficiencia térmica del tratamiento con vapor caliente es mayor que la del tratamiento con aire caliente.

En este último, cuando el aire entra en contacto con la fruta, la misma comienza a transpirar, el líquido contenido en ella se evapora y como consecuencia, el fruto se deshidrata.

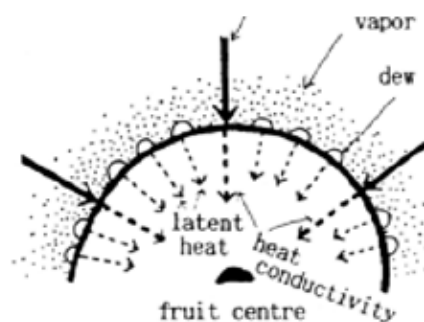
El principio de la desinfección es el calor de conducción producido por el vapor de agua saturada que se emplea para matar plagas y patógenos.

Modo de acción de las altas temperaturas en los insectos

Los insectos generalmente mueren en un corto tiempo de exposición a temperaturas entre los 40 y 60° C. La mortalidad es causada por las elevadas temperaturas que generan un desorden químico debido a la desnaturalización de las proteínas que forman parte de las células, pérdida de agua del cuerpo, inhibición de la acción enzimática, etc.



Conductividad del calor seco



Conductividad del vapor de agua caliente

Químicamente las proteínas están compuestas por aminoácidos unidos entre sí por los llamados puentes hidrógeno. Esta estructura molecular es la responsable de las propiedades y funciones naturales de las proteínas.

Cuando las proteínas son sometidas a la acción de agentes físicos como el calor, sufren alteraciones a nivel estructural, son afectadas las fuerzas que mantienen la estructura. Por esta razón la proteína pierde sus propiedades es decir se desnaturaliza. Dependiendo de la intensidad del estímulo, este fenómeno puede ser irreversible.

Como consecuencia la membrana celular pierde su permeabilidad selectiva permitiendo el pasaje de sustancias que rompen el equilibrio de los fluidos.

Tolerancia de los insectos al aumento de la temperatura

La tolerancia de los insectos a la temperatura difiere con cada especie y estado de desarrollo de las mismas.

Una prueba que se utiliza para determinar los niveles de tolerancia al calor consiste en sumergir los insectos recién sacados del fruto hospedero en agua caliente, esta es la forma más directa de conocer la tolerancia de los mismos al calor.

Se conoce además que los insectos, cuando permanecen un determinado tiempo en un rango de temperatura por debajo de 40 °C, son capaces de producir una sustancia de adaptación al calor, que le confiere cierta tolerancia al aumento de la temperatura. Este es un tipo de adaptación llamada termo-tolerancia. Se la define como la capacidad de sobrevivir a cualquier temperatura letal por exposición previa a dosis no letales.

Existe un gran grupo de organismos que responden a temperaturas elevadas mediante la síntesis de proteínas especiales (shock al calor, HS) con represión de la síntesis proteica normal y la formación de proteínas especiales.

En el tratamiento con vapor, este fenómeno se evita al lograr que el aumento de la temperatura sea lo más rápido posible. Básicamente, exposiciones prolongadas sobre los 40°C, es letal para cualquier especie de insecto.

Si bien el método fue desarrollado para eliminar moscas de la fruta en áreas tropicales y subtropicales como *Bactrocera dorsalis*, *Bactrocera cucurbitae*, *Ceratitis capitata*, actualmente se aplica sobre otras plagas, por ejemplos gorgojos de la batata, *Cylas formicarius* y *Euscepes postfasciatus*.

Metodologías utilizadas para la aplicación del vapor caliente

La metodología implementada para los tratamientos de vapor, ha evolucionado desde fines de los años 60 hasta hoy, incrementando su complejidad y efectividad.

Método de succión:

El vapor entra por la parte superior de la cámara, el mismo fluye gracias a dos ventiladores colocados uno en la parte superior y el otro al costado de la cámara. Las bandejas donde se colocan las frutas poseen perforaciones para permitir el paso del vapor. El problema de este método, es que el flujo de vapor no está direccionado, una gran parte fluye hacia el exterior y la otra parte entra mas rápidamente en contacto con las frutas ubicadas en la parte superior de la cámara.

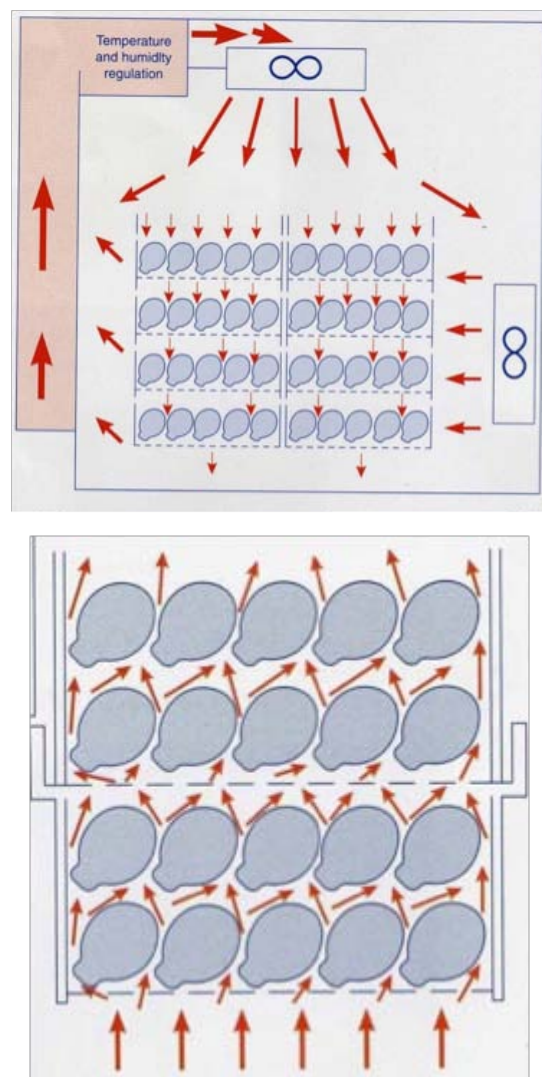


Figura 1. Sistema de succión: compartimento de tratamiento de una cámara que utiliza el sistema de succión. La flecha roja indica la dirección de flujo de vapor.

Método de vapor cruzado:

Este método surge para mejorar el método de succión, y consiste en que el vapor es introducido por el costado de la cámara, y para que el flujo alcance a todas las frutas por igual, se colocan unas rejillas las cuales le dan la dirección al vapor de manera horizontal a lo largo de la fila de bandejas. Si bien se alcanza una distribución más pareja del vapor, minimizando las diferencias entre las frutas colocadas arriba y las de abajo, el flujo sigue tocando solo la superficie de cada fruta, por lo tanto, dentro de cada fruto, la temperatura es diferente.

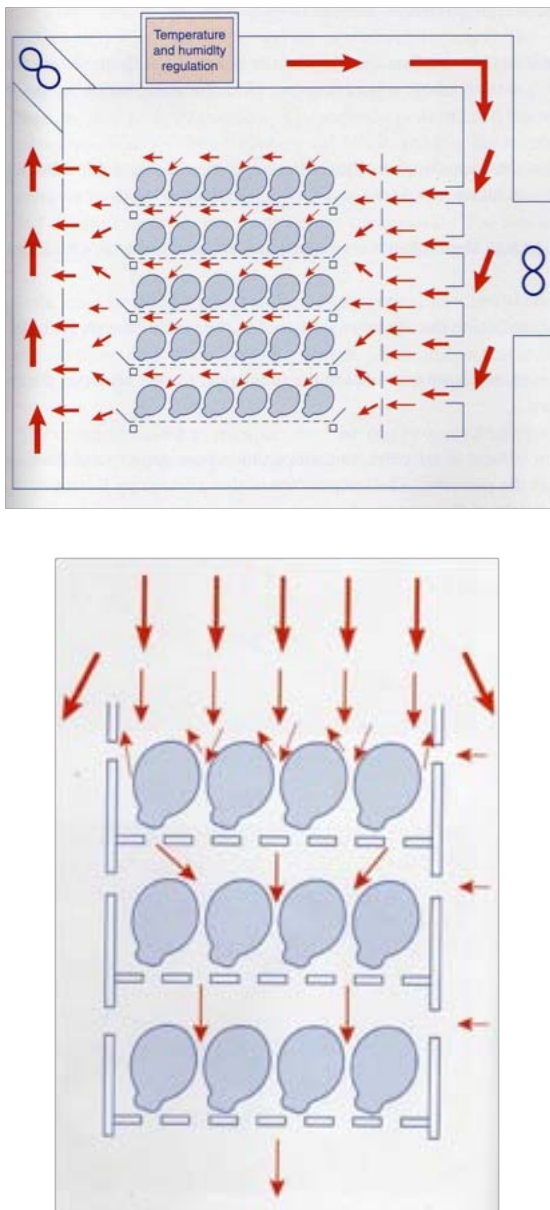


Figura 2. Método de vapor cruzado: Se muestra el flujo de vapor en una cámara experimental. La flecha roja indica la dirección del vapor.

Método de presión diferencial:

El sistema de presión diferencial soluciona el problema del todo. La cámara adopta ahora una forma de chimenea, lo cual previene que el flujo se escape por los laterales.

Posee una forma acampanada con un ventilador en la parte superior el cual succiona el vapor que ingresa por el lado opuesto, creando así una diferencia de presión entre la parte interior y exterior de la cámara. El vapor circula ahora de arriba hacia abajo (o viceversa) y por toda la fruta, de manera uniforme.

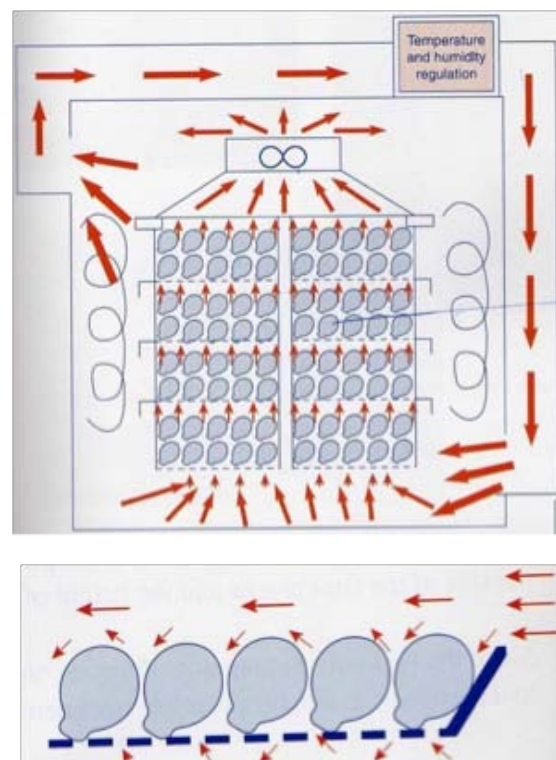


Figura 3. Sistema de presión diferencial: se muestra el mecanismo de acción de una cámara de presión diferencial. La flecha roja indica la dirección del vapor.

La diferencia más importante entre estos tres métodos está en el tiempo que necesitan las frutas para alcanzar la temperatura de tratamiento, lo cual influye no tan solo en la eficacia del mismo, sino también en el daño que se ocasiona en la fruta. Por lo tanto el método de presión diferencial, es considerado el más eficiente de todos.

Cámara de tratamiento

A medida que fueron resolviéndose los problemas, las estructuras de las cámaras variaron sustancialmente desde el modelo original. Los diseños actuales de cámara, (presión diferencial), presentan como

principal ventaja que distribuyen el vapor de forma mas eficiente, elevando la temperatura de los frutos de manera mas uniforme.

Una cámara experimental mide aproximadamente 3,10 mts de largo, 1,81 mts de alto y 1,3 mts de profundidad, con un volumen de 1 m³ (80 x 156 x 80 cm) y una capacidad máxima de 150 kg. Consta de 15 sensores entre los que se encuentran los sensores de humedad y temperatura del aire, además posee otro sensor que mide la temperatura en el tanque de agua.

Los modelos actuales consisten en cámaras con estantes plásticos con orificios en la superficie, donde se coloca los estantes que soportan las frutas. La parte superior de la cámara es estrecha y posee un ventilador que succiona el aire del fondo de la cámara, los laterales están cerrados. Los orificios de las bandejas son pequeños para acelerar el aire y así el calor es eficientemente distribuido. Constantemente se debe agregar vapor caliente a la cámara para permitir que la fruta sea rodeada por el mismo.

Luego de finalizado el tratamiento, la cámara genera una circulación de aire frío. El tiempo de enfriado luego del tratamiento, debe ser lo mas corto posible, ya que esto incide en la calidad de la fruta. Algunos

modelos incorporaron un baño de agua con lo que se obtienen mejores resultados.

Tolerancia de los frutos al vapor caliente

El tratamiento con vapor caliente es adecuado para frutos susceptibles de deshidratación. Los frutos tropicales y subtropicales como papaya, mango, litchi muestran tolerancia a las altas temperaturas.

Este método de desinfección pasó a reemplazar a los de aire caliente e inmersión en agua caliente por ser menos agresivo con los frutos y puede ser aplicado para el control de diferentes plagas siempre que el hospedero lo tolere.

Relación entre efecto letal y daño en frutos

El objetivo de cualquier tratamiento cuarentenario es lograr el 100% de mortalidad de la plaga y minimizar el daño ocasionado por el tratamiento.

En general el daño aparece con el aumento de la temperatura y/ o del tiempo de exposición. Esta regla también se aplica para el efecto letal.

Los síntomas mas frecuentes de daños provocados por la aplicación de vapor caliente son:

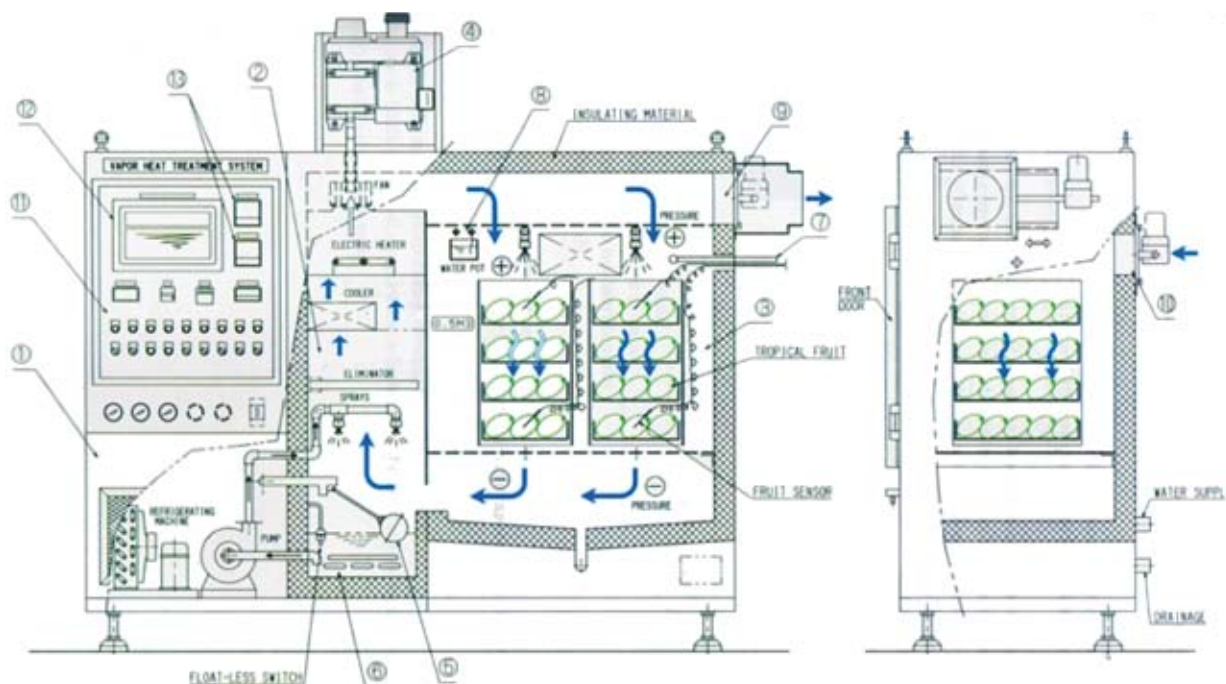


Figura 4. Esquema de cámara de tratamiento de Vapor con sistema de presión diferencial. 1- Compartimento de refrigeración; 2- Compartimento de acondicionamiento de aire; 3- Compartimento de tratamiento; 4- Motor; 5- Flotador; 6- Tanque de agua; 7- Termómetro estándar; 8- Sensor de Humedad; 9- Salida de aire; 10- Entrada de Aire; 11- Panel de control; 12- Registrador digital; 13- Controlador de temperatura digital; Circulación de vapor; Circulación de agua.

- Decoloración de la superficie del fruto.
- Aparición de manchas.
- Marchitado.
- Deformación.
- Deterioro de la pulpa.
- Pudrición.
- Infestación por microorganismos.
- Maduración anormal.
- Cambio del sabor y olor.
- Cambios en la composición química.

En papayas por ejemplo se presenta endurecimiento de la pulpa alrededor de la cavidad con semillas, esto se debería a un fenómeno de maduración tardía e incompleta. La elevada temperatura inhibe a las enzimas que intervienen en la activación del etileno, del cual depende el proceso de maduración. Este daño se puede prevenir con el precalentamiento de la fruta durante un corto período con aire caliente con 40- 60% de humedad a una temperatura específica. Otro método es calentar la fruta durante 11 horas elevando la temperatura desde 23° C a 44.4° C.

En otros tipos de daños, el estado de madurez del fruto influye en la aparición de los mismos. En frutos no tan tolerantes al vapor caliente como pimientos, se recomienda un baño con agua fría para lograr el enfriamiento durante 8 horas después del tratamiento.

Es necesario mencionar la importancia de seleccionar el tamaño de los frutos antes del desarrollo del tratamiento. Cuando el tratamiento se aplica sobre frutos de tamaño muy variable, tanto el daño como los efectos mortales pueden variar. Por ello se sugiere el desarrollo de un tratamiento teniendo en cuenta estas características del hospedero: tamaño, peso, forma, etc.

Tratamientos con vapor caliente

En la tabla 1 se muestran diferentes tratamientos con vapor caliente desarrollados en el mundo para la comercialización de frutos. Los tratamientos que están reglamentados en Argentina se muestran en la tabla 2.

Tabla 1. Tratamientos vigentes en el mundo.

Frutos	Hospedero	Especie plaga	Tratamiento
China	Litchi	<i>Bactrocera dorsalis</i>	30- 40° C; A.T.* 46.5° C durante 10 min. + 2° C durante 40 horas
Philipinas	Papaya	<i>Bactrocera dorsalis</i> + <i>Bactrocera cucurbitae</i>	46° C durante 70 min.
	Mango		46° C durante 10 min.
Hawaii	Papaya	<i>Ceratitidis capitata</i> + <i>B. dorsalis</i> + <i>B. cucurbitae</i>	47.2° C
Australia	Mango	<i>C. capitata</i> + <i>Bactrocera tryoni</i>	47° C durante 15 min.
Tailandia	Mango (Rad, NamDorkmai, Pimsendaeng)	<i>B. dorsalis</i> + <i>B. cucurbitae</i>	43° C A.T. 47° C durante 20 min.
	Mango (Nang Klarngwan)		43° C A.T. 47° C durante 10 min.
Taiwan	Mango	<i>B. dorsalis</i> + <i>B. cucurbitae</i>	46.5° C durante 30 min.
	Litchi	<i>B. dorsalis</i>	30- 41° C A.T. 46.2° C durante 20 min. + 2° C durante 42 horas
Japón	Batata	<i>Cylas formicarius</i> + <i>Euscepes postfasciatus</i> + <i>Omphisa anastomosalis</i>	47° C durante 190 min.
	Papaya	<i>B. cucurbitae</i> + <i>B. dorsalis</i>	45- 46° C durante 30 min.
	Mango		43- 44° C durante 3 horas
	Pomelo		43- 43.8° C durante 3 horas
	Peras	<i>B. cucurbitae</i>	45- 46° C durante 30 min.
	Melón		45- 46° C durante 30 min.

*A.T.= antes del tratamiento

Tabla 2. Tratamientos reglamentados en Argentina.

Hospedero	Especie plaga	Tratamiento
Mango, Pomelo,	<i>Ceratitis capitata</i> + <i>Anastrepha fraterculus</i>	43° C durante 6 horas
Naranja, mandarina		43.3° C durante 4 horas

▼ Bibliografía recomendada

Anónimo. 1996. Textbook for Vapor Heat Disinfestation Test Technicians. Japan Fumigations Technology Association- Japan International Cooperation Agency.

Anóniimo. 2000. Principles and Features of Vapor Heat Treatment System. Japan Fumigation Association (JAFTA). SANSU SANGYO CO., LTD. Pp: 51.

Jang, E. B. & H. T. Chan. 1990. Thermal Death Kinetics: Importance in Development of Heat- Based

Quarantine Treatments. En: Fruit Fly- Biology and Management, de M. Aluja & P. Liedo. Pp: 344- 351.

Moss, J. I & E. B. Jang. 1991. Effects of Age and metabolic Stress on heat Tolerance of mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) Eggs. J. Econ. Entomol. 84 (2): 537- 541.

Sharp, J. L. & V. Chew. 1987. Time/ Mortality Relationships for *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) Eggs and Larvae Submerged in Hot Water. J. Econ. Entomol. 80: 646- 649.

Shimabukuro, S., A. Ishikawa, M. Iwata, T. Sakaguchi, S. Makiguchi, & H. Katsumata. 1997. Efficacy of Vapor Heat Treatment on Sweet Potato Infested with Sweet Potato Weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Brentidae), West indian sweet Potato Weevil *Euscepes postfasciatus* (Fairmaire) (Coleoptera: Curculionidae), and sweet Potato Vine Borer *Omphisa anastomosalis* Guenée (Lepidoptera: Pyralidae). Res. Bull. Pl. Prot. Japan. 33: 35- 41.

Fumigaciones con bromuro de metilo

**Lic. Silvana N. Toledo e
Ing. Agr. Beatriz Carrizo**

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Los tratamientos químicos pueden ser representados actualmente por la fumigación con Bromuro de metilo, Fosfina y Dióxido de carbono. La fumigación es el tratamiento cuarentenario más usado en el mundo para el control de plagas.

La fumigación es un método de desinfección en el cual el fumigante es dosificado directamente dentro de espacios herméticos o cerrados como: cámaras, silos, containers o carpas con productos agrícolas o forestales.

El primer producto empleado para estos tratamientos fue el Di bromuro de etileno, prohibido en 1984, debido ya que se descubrió que era cancerígeno para el hombre. Mientras que desde 1939 se comenzó a investigar el efecto insecticida del Bromuro de metilo. Finalmente el Bromuro de metilo reemplazó al Di bromuro de etileno y es el más usado en todo el mundo desde entonces. Esto se debe a sus propiedades como fumigante. Es altamente efectivo contra un gran grupo de insectos que atacan un amplio grupo de plantas, es relativamente poco fitotóxico y no combustible. Requiere relativamente corto tiempo de exposición para ser efectivo y es fácilmente aplicable para un gran grupo de productos. Además puede ser usado a bajas temperaturas.

Luego de casi 50 años de uso intenso se ha probado desafortunadamente que el bromuro es una de las sustancias químicas que degradan la capa de ozono. Por tal razón a partir del 2000 se determinó disminuir las emisiones de sustancias nocivas sobre el globo, como el Bromuro de metilo y el nivel de uso deberá limitarse gradualmente siguiendo restricciones adicionales en su empleo, como, recuperar el gas liberado, o el uso de equipos de detoxificación, hasta tanto surja una alternativa.

Una de las alternativas al bromuro de metilo es el fosforo de aluminio medianamente usado para la fumigación de insectos de granos almacenados. Este se formula en una tableta como polvo. El ingrediente activo es el fosforo de hidrógeno (PH_3 - Fosfina) que es lentamente generado por reacción con la mezcla de gas atmosférico que lo rodea.

Otro fumigante empleado para la desinfección es el dióxido de carbono, gas efectivamente letal sobre un grupo específico de insectos como cochinillas, trips y áfidos, usado principalmente sobre productos perecederos como frutas, vegetales y flores de corte, etc. No genera residuos en los productos tratados. También es efectivo contra un grupo de insectos plagas de granos con un tiempo de exposición

relativamente corto. Una desventaja de este fumigante es que requiere una gran cantidad de dosis y no es completamente efectivo contra el estadio de pupa de los gorgojos.

Todos estos fumigantes pueden tratar una gran cantidad de productos por vez. Una desventaja común es que la mayoría de ellos generan residuos tóxicos en los productos tratados.

Las fumigaciones cuarentenarias son siempre conducidas de acuerdo con procedimientos estándares, que han sido fijados previamente a través del desarrollo de pruebas. Estas pruebas se realizan para insectos específicos y plantas o productos en varias combinaciones de tiempo y temperatura.

Para proponer el uso de un fumigante, se tienen en cuenta las propiedades básicas del mismo, como: peso molecular, densidad, punto de ebullición, límite de explosión, etc. Y otras características tales como: rango de plantas o productos sobre los que se puede aplicar, susceptibilidad de los insectos, grado de difusión, penetración y sorción, etc.

Además de conocer la efectividad de los procedimientos desarrollados sobre la plaga y las especies de plantas a ser tratadas es necesario conocer acerca de la estructura de las instalaciones de fumigación, aparatos necesarios para operar la dosificación, medición de la concentración de gas, medidas de seguridad y prevención, viabilidad económica de la instalación, etc.

Entre otros métodos de tratamientos cuarentenarios, están las pulverizaciones químicas, revestimientos químicos y la inmersión. En estos casos los biocidas o plaguicidas son usados frecuentemente para la desinfección de patógenos. La validación de estos químicos para tratamientos cuarentenarios es bastante acotada porque sus efectos son generalmente específicos solamente para un limitado grupo de especies de microorganismos patógenos.

Criterio del efecto de las fumigaciones cuarentenarias

Las fumigaciones cuarentenarias como un medio para evitar la dispersión de las plagas dentro de nuevos territorios deben ser completamente efectivas (100%) contra insectos o patógenos. La susceptibilidad de los insectos a la acción letal del tratamiento difiere de una especie a otra. Frecuentemente es difícil obtener un esquema de fumigación con un efecto del 100% de mortalidad

sobre todos los estadios de desarrollo del insecto. Por lo tanto la significancia cuarentenaria de una especie plaga deberá ser valorada antes por un análisis de riesgo de plagas para determinar el o los estadios que afectan el producto.

Modo de acción de un fumigante

El modo de acción, se refiere a la forma en que el producto (fumigante) ejerce su aptitud mortal sobre un organismo.

En el caso de los fumigantes, el gas penetra en los insectos, cualquier estadio de desarrollo, principalmente por el aparato respiratorio. En este caso está representado por los espiráculos (orificios respiratorios). Estos se sitúan en los laterales del cuerpo (en larvas pupas y adultos), en el caso de los huevos de insectos, los gases difunden a través de la membrana o corion.

En el caso del bromuro de metilo interfiere en la reacción de las enzimas respiratorias, bloqueando la misma y produciendo la muerte por asfixia.

Es conveniente aclarar que luego de un tiempo determinado si el insecto sigue con vida puede ingerir el producto, en otras formas, como residuos orgánicos al haberse dado reacciones químicas dentro del fruto, esta situación genera mortalidad por ingesta.

Esta última posibilidad representa una ventaja, durante un corto tiempo, de los fumigantes sobre los otros tipos de tratamientos, ya que el efecto del tratamiento no está limitado al momento de su aplicación.

Toxicidad

La mortalidad del insecto plaga varía de acuerdo al estadio de desarrollo del mismo, y a su nivel metabólico.

Existe una relación directa entre el metabolismo respiratorio de los insectos y su susceptibilidad a los fumigantes.

A partir de experiencias realizadas ya en el año 1932 por R. T. Cotton se sabe que la susceptibilidad de un insecto a un fumigante es influenciada por todo factor que afecte el grado metabólico del insecto.

Cualquier factor que incremente el grado metabólico, incrementa la susceptibilidad del insecto a la acción de un fumigante y viceversa.

Se conocen los factores que incrementan la susceptibilidad de los insectos a un fumigante, los tres más importantes son: un incremento en la temperatura, un incremento en el contenido de dióxido de carbono de la cámara de fumigación y una mezcla de ambos.

Cada estadio de desarrollo de un insecto tiene su grado metabólico específico. Esto se debe considerar para el desarrollo de un tratamiento. El estadio con menor grado metabólico es el menos susceptible a un fumigante.

Se han realizado muchos estudios acerca de la susceptibilidad en diferentes especies al Bromuro de metilo. En la Tabla 1 se muestran algunos ejemplos.

También con Fosfina se han realizado pruebas de

Tabla 1. Resultados de pruebas de susceptibilidad al Bromuro de Metilo.

Tratamiento	Fruto	Especie plaga	Estadio menos tolerante	Estadio mas tolerante
40 g/m ³ - 2 hs- 21 °C	Duraznos Ciruelas Pelones	<i>Rhagoletis completa</i> (Diptera)	Larvas del 1er y 2do estadio	Larvas del 3er estadio
40 g/m ³ - 2 hs- 15 °C	Cítricos	<i>Anastrepha fraterculus</i> (Diptera)	Larvas del 1er estadio	Huevos de 48 hs de edad
40 g/m ³ - 2 hs- 15 °C	Cítricos	<i>Ceratitis capitata</i> (Diptera)	Larvas del 1er estadio	Huevos de 24 hs de edad
48 g/m ³ - 2 hs- 21 a 26 °C	frutales	<i>Maconellicoccus hirsutus</i> (Homoptera)	Protoninfa	Huevos
32 g/m ³ - 2 hs- 15 °C	Pimientos	<i>Anastrepha fraterculus</i> (Diptera)	Larvas del 1er estadio	Huevos de 48 hs de edad
48 g/m ³ - 2 hs- + de 21 °C	Duraznos Ciruelas	<i>Cydia pomonella</i> (Lepidoptera)	Larvas inmaduras	Huevos
32 g/m ³ - 2 hs- 23 °C	Manzana ceraza	<i>Laspeiresia pomonella</i> (Lepidoptera)	Larvas	Huevos

susceptibilidad. En la Tabla 2 se muestran algunas experiencias.

Balok en 1951, estudió la sensibilidad de los estadios de huevo y larva del tercer estadio de la “mosca oriental de los frutos” *Bactrocera dorsalis*. Se sometieron a prueba 53 fumigantes. El estadio de huevo de la mosca resultó ser el más tolerante a 26 tipos diferentes de fumigantes. Para 13 fumigantes la susceptibilidad de huevos y larvas resultó igual. Mientras que el tercer estadio larval se comportó como el más tolerante para el resto de los fumigantes.

Además evaluó la susceptibilidad de huevos de diferentes edades. En este caso los huevos de menor edad resultaron ser más tolerantes al Bromuro de metilo y al di-cloruro de etileno, mientras que para otros 5 fumigantes el huevo de más edad resultó ser el más tolerante.

Si bien existe una cierta generalidad en todas estas experiencias, es necesario realizar las pruebas de susceptibilidad para el desarrollo de un tratamiento cuarentenario con fumigantes.

Las pruebas de susceptibilidad plantean las exigencias básicas que tiene el estadio más tolerante de un insecto, referidas a: dosis de fumigante, tiempo de exposición y temperatura a la que se realiza el tratamiento.

Además de tener en cuenta la temperatura de fumigación, que se explicó tiene incidencia en la actividad metabólica del insecto, se consideran otros factores tales como:

Tamaño del fruto, este factor afecta la velocidad de penetración del fumigante en el interior del mismo, es decir incide en el tiempo de inicio de contacto con el organismo. En este sentido se realizan pruebas con

el estadio más tolerante para determinar si existen diferencias entre la mortalidad obtenida en frutos de diferentes tamaños. En el año 2001 M. Mizobuchi et. al. Realizaron evaluaciones en manzanas de diferente tamaño infestadas con la polilla *Carposina sasakii*, determinaron que la mortalidad de los huevos de la polilla resultaba inversamente proporcional al tamaño del fruto. Esta respuesta se observó a partir de un determinado tamaño de fruto.

Factores que afectan el proceso de fumigación

En el proceso de fumigación intervienen factores que afectan el efecto insecticida del fumigante, los cuales pueden actuar de modo independiente o interactuar. Dichos factores son:

- **Concentración del gas:** es directamente proporcional al efecto insecticida. En este punto cabe hacer una aclaración, cada estadio posee una CL (Concentración letal) es decir la medida justa que produce mortalidad, exagerar esta medida solo genera daños en el fruto.
- **Tiempo de exposición:** el tiempo de exposición hace referencia al tiempo de contacto del fumigante con la superficie del producto. El efecto insecticida de un fumigante aumenta con el incremento del tiempo de exposición. Exceder el tiempo de exposición aumenta el tiempo de contacto del fumigante con el producto y esto trae como consecuencia daños en la calidad. La mayoría de los tratamientos se inician con un tiempo mínimo de 2 horas.

Referido a esta variable existe un producto utilizado como medida del efecto mortal en el desarrollo de un tratamiento y es $C \times t$ (concentración por tiempo) estas dos variables combinadas se utilizan para establecer la intensidad mortal de un tratamiento. Los valores más usados de este producto están entre 80 y 120 g.h. /m³.

Tabla 2. Resultados de pruebas de susceptibilidad a la Fosfina.

Tratamiento	Fruto	Especie plaga	Estadio menos tolerante	Estadio mas tolerante
0,125- 0,25 g/m ³ - de 2 a 4 días	Pomelo	<i>Anastrepha ludens</i> (Diptera)	Larvas	Huevos y pupas
60 g/ 28,3 m ³ - 7 días- 17°C	Alfalfa, Sorgo, Cebollín	<i>Mayetiola destructor</i>	-	Pupas
0,5 g/m ³ - 14 días	Granos	<i>Sitophilus granarius</i>	-	Pupas
2 g/m ³ - 16 a 24 hs- 15°C	Fruta fresca	Lepidópteros	-	Huevos
2.800 ppm- 24 hs- 20°C	Naranjas Pomelos	<i>Ceratitis capitata</i>	Larvas inmaduras	Huevos

Su expresión matemática es $C \cdot t = K$

Donde:

C = Concentración

T = Tiempo de exposición

K = Constante (para cada esp

Donde:

C = Concentración (g/m³)

T = Tiempo de exposición

t = temperatura (°C)

K, n = Constante (para cada especie de insecto y fumigante)

• **Temperatura:** el efecto insecticida como ya dijimos aumenta con el incremento de la temperatura. Este efecto se cumple cuando el insecto está metabólicamente activo a esa temperatura. La inercia de la temperatura dura aproximadamente 24 horas, por lo que si el tratamiento se lleva a cabo a 21° C y en las horas previas al tratamiento su temperatura era de 12° C, por inercia el insecto responderá con un metabolismo correspondiente a los 12° C. Por esta razón en el diseño de un tratamiento se tendrá en cuenta la época de comercialización del producto.

• **Susceptibilidad del insecto plaga al fumigante:** la susceptibilidad de las plagas al fumigante varía considerablemente entre las especies de insectos difiere entre los distintos estadios de desarrollo de una especie plaga.

Existe una escala de tolerancia a los fumigantes como el Bromuro de metilo cuyos niveles son:
Susceptible: curculionidos (coleópteros), polillas del harina (lepidópteros)

Media: escarabajos de granos, gorgojos
Tolerante: escarabajo de la harina roja

En la Tabla 3 se muestra un ejemplo de la variación de la tolerancia en diferentes estadios de una especie de insecto.

Tabla 3. Valores de tolerancia al Bromuro de Metilo de diferentes estadios de insectos.

Especie de insecto	Adulto	Pupa	Larva	Huevo
Gorgojo de los granos	1	2.1	1.0	1.0
Escarabajo del harina	1	2.0	1.4	0.6
Gorgojo de la soja	1	-	-	0.9

Comparado con el estadio adulto como estándar el estadio de huevo es igual o menos susceptible que

este. Mientras que el estadio de pupa es hasta 2 veces más tolerante que el adulto.

• **Difusión:** Los gases existen en concentraciones diferentes en el espacio, se mueven desde lugares de mayor concentración a menor concentración. El gas depositado en un espacio cerrado se mueve en forma de masas de gas, este movimiento se produce en todas direcciones buscando igualar las concentraciones. La capacidad de difusión de un gas depende de: tipo de gas, diferencias de concentraciones, espacio disponible, presencia de otros gases, temperatura, grado de convección, etc. En los primeros momentos de una fumigación la difusión tiene valores altos mientras que a medida que la diferencia entre los gases existentes en el interior de la cámara es menor, la difusión se torna leve.

La difusión es rápida en condiciones similares al vacío, a altas temperaturas y en el espacio sin obstáculos, lo que permite el movimiento activo de las moléculas del gas.

La densidad del fumigante afecta la difusión. Algunos gases son menos densos que el aire y por lo tanto tienden a ocupar los espacios más altos de la cámara.

Con el fin de lograr la mayor homogeneidad del gas fumigante en la cámara es necesario el empleo de equipos (ventiladores) que movilicen las masas de gas.

• **Penetración:** es la capacidad del gas de introducirse en un espacio. En este caso sería el pasaje o introducción del gas en el producto tratado. La velocidad de penetración es afectada por el espacio existente entre las partículas del producto fumigado.

El bromuro de metilo tiene un gran poder de penetración por lo que el tiempo de exposición requerido es corto comparado con otros fumigantes.

• **Sorción y Desorción:** Adsorción: es la retención de líquidos o gases en la superficie de cuerpos sólidos, debido a una atracción entre las moléculas de la superficie del adsorbente y el fluido. Mientras que la Absorción: es la fijación de gases o humedad mediante líquidos o materias sólidas a través de reacciones químicas.

La suma de estos dos fenómenos adsorción y absorción se incluyen en el término sorción. La adsorción se lleva a cabo en tiempos relativamente

cortos, mientras que la absorción implica más tiempo.

Los productos adsorbentes son aquellos con superficies de polvos. Y los productos absorbentes son aquellos que tienen ingredientes que reaccionan con el fumigante, como productos ricos en proteínas, aceites, grasas y lípidos.

Existen otros factores que afectan el nivel de sorción, en la Tabla 4 se muestran algunos y sus efectos.

Tabla 4. Factores que afectan el nivel de sorción.

Factor	Principio
Tipo de fumigante	La sorción aumenta con el punto de ebullición.
Producto a fumigar	La sorción aumenta cuando el producto es rico en proteínas y grasas.
Humedad contenida en el producto	La sorción aumenta en igual proporción con el aumento en la cantidad de agua del producto.
Temperatura	La adsorción aumenta a bajas temperaturas y la absorción aumenta a altas temperaturas.
Concentración del gas	La sorción aumenta con altas concentraciones del gas fumigante.
Tiempo de exposición	La sorción aumenta con largos tiempos de exposición.
Presencia de otros gases	La sorción disminuye con la presencia de otros gases.

La desorción es el fenómeno inverso a la sorción. Se refiere a la salida del gas del interior del producto cuando se rompe el equilibrio de las concentraciones dentro y fuera del mismo.

• **Fugas:** las pérdidas del gas fumigante afectan la concentración del mismo en el interior de la cámara y disminuyen el efecto de la fumigación sobre la plaga.

Otros requisitos que se deben cumplir para llevar a cabo un proceso de fumigación con seguridad.

1- Hermeticidad: El recinto debe ser construido con un material impermeable e inalterable por el fumigante. Además debe ser capaz de resistir altas presiones interiores generadas por el gas fumigante durante su inyección. El cierre debe ser hermético y no permitir la fuga del gas.

2- Sistema de circulación interna: como ya se mencionó es necesario para asegurar la homogeneidad de gases en el interior un equipo de ventiladores que generen circulación y mezcla.

3- Sistema de inyección: para introducir el gas dentro de la cámara debe existir un dispositivo, seguro y preciso para la dosificación e inyección del gas.

4- Sistema de medición de la concentración del fumigante en el interior del recinto: es necesario tener un sistema de toma de muestras de la concentración del gas en diferentes áreas de la cámara, para verificar la homogeneidad de la misma.

5- Sistema de expulsión del fumigante: debe existir un equipamiento suficiente y capaz de expulsar fuera de la cámara el gas en la medida permitida de mezcla aire – fumigante.

6- Cumplir con los requisitos de seguridad: entre otras cosas la instalación debe tener: generador de energía eléctrica, sistema de iluminación interna, luz de advertencia, máscaras con circuito de aire abierto y cerrado, carteles y cintas de prevención, aislamiento del recinto, manómetro en U para medir la presión interna de la cámara.

7- Condiciones de fácil operatividad.

Daño por fumigación

El daño que aparece en un producto luego de la aplicación de una fumigación debe ser estudiado como se mencionó antes durante el diseño del tratamiento.

El tratamiento, más allá de cumplir efectivamente con la eliminación de un organismo nocivo, no debe alterar la calidad del producto y si así fuera, las alteraciones no deberán afectar la comercialización del producto.

Los factores que intervienen en la generación de daño en una fumigación son:

Dosis: cuando la dosis aplicada es superior a la

necesaria para generar el 100% de mortalidad, genera un exceso indeseado del fumigante en contacto con el producto.

Temperatura: Cuando la temperatura de fumigación difiere ampliamente de la temperatura a la que se transporta el producto, los cambios bruscos de la misma generan daño (frecuentemente por calentamiento). Otra posible causa de daño aparece en casos en los que la temperatura del tratamiento no se ha definido en un intervalo concreto y se tienen condiciones como “+ de 21° C”.

Tiempo de exposición: Cuando el tiempo de exposición es sobrestimado, o no se cumple con lo pactado, genera una exposición exagerada y no evaluada del producto al fumigante.

Ventilación del producto: Una vez extraído el producto de la cámara debe permanecer como mínimo durante una hora ventilándose para dar lugar al proceso de desorción. Si esto no ocurre el gas queda atrapado en el embalaje o carpa y el contacto del fumigante con el producto continúa.

Grado de sorción: Cuando el grado de sorción es muy alto ocurren reacciones químicas que dan lugar a la formación de compuestos estables que permanecen dentro del producto como residuos y a su vez generan cambios en sabor y textura, también considerados daño.

Variedades susceptibles: existen variedades y especies de frutos que son susceptibles a los fumigantes. Esto depende de la composición química del producto, de su estructura, etc.

Bromuro de Metilo

El B.M. es un fungicida, herbicida, insecticida altamente tóxico y el más usado en el mundo. Se emplea como fumigante de suelos en la producción de cultivos de “alto valor” tales como tomate, pimiento, frutillas, tabaco, flores, destinados al consumo interno y a la exportación. Se utiliza también para proteger granos almacenados y en cuarentenas agrícolas. Este fumigante combate eficazmente una amplia gama de plagas incluidos los insectos,

malezas y microorganismos patógenos. Sin embargo el bromuro de metilo tiene repercusiones serias sobre el ambiente.

Si bien el Bromuro de metilo es una sustancia que dura menos que los clorofluorocarbonados (CFC s), destruye las moléculas de ozono a un ritmo 50 veces superior que los CFC s.

Por esta razón se incluyó al B.M. dentro de una lista de sustancias controladas por el Protocolo de Montreal recién en 1992, en la llamada Enmienda de Copenhague. En 1995 los países industrializados dejaron fijada su disposición de interrumpir la producción y el consumo de B. M. para el año 2005. Las naciones en desarrollo no se comprometieron con este calendario de eliminación debido a la importancia de esta sustancia química para sus economías agrícolas. Sin embargo, en 1997 se acordó la eliminación total de B. M. para el año 2015.

En este marco la Argentina ha decidido no permitir su uso para desinfección de suelos más allá del 2007.

Tabla 5. Propiedades del bromuro de metilo

Propiedades	
Nombre químico	Bromuro de metilo, Bromometano, Bromometilo
Formula química	CH ₃ Br
Peso molecular	94,95 g.
Densidad relativa del gas	3,3 (0°C) (Presión at= 1)
Punto de ebullición	3,6 °C
Punto de fusión	- 93 °C
Temperatura de ignición	535 °C
Solubilidad en agua	13.4 g/l. Fácilmente soluble en alcohol, éter, cloroformo, etc.
Aspecto general	gas incoloro, con leve olor a cloroformo

Características del Bromuro de Metilo como fumigante

- Relativamente alta acción insecticida a bajas temperaturas.
- Bajo punto de ebullición, esto lo hace utilizable a bajas temperaturas.
- Alto poder de penetración.
- Poco inflamable y no explosivo.
- Gas no corrosivo de metales. En forma líquida

reacciona con el aluminio.

- Relativamente poco fitotóxico.
- Alta toxicidad para los mamíferos.

Efectos de una fumigación con bromuro de metilo

Las fumigaciones en granos y madera están prácticamente libres de daños químicos. Sin embargo en productos frescos como frutas, vegetales y plantas ornamentales se pueden encontrar daños por reacciones químicas.

La aparición de daños por fumigación difiere con las distintas especies de plantas, con las partes de ellas, pero generalmente se observan los siguientes tipos de síntomas:

En frutas frescas: decoloración del tegumento, aparición de arrugas o pliegues, manchado y puntuaciones, oscurecimiento de la pulpa, pudrición, pobre maduración, ablandamiento, disminución de la acidez, olor y sabor anormal.

En el caso de la decoloración, en general a medida que avanza la maduración de un fruto, se pueden reconocer escalas de colores. Cuando existe un daño por B.M. la escala de cambios de coloración es interrumpida con la aparición de colores amorronados, o decoloraciones opalinas. En cuanto al sabor se sabe que en el caso de los cítricos existe una pérdida de la acidez, muy notoria cuando las concentraciones de B.M. son elevadas.

En vegetales: decoloración, manchado, marchitamiento, ablandamiento, pudrición, mal sabor y olor anormal.

Las frutas y vegetales usualmente exhiben los síntomas entre uno y tres días después de la fumigación. En casos muy severos aparece el daño inmediatamente después de la fumigación.

Según la tolerancia de algunos productos al bromuro de metilo se han establecido las siguientes categorías:

1- Susceptibles: chirimoya, lima, banana, mango, papaya, lechuga, palta, pimienta y espinaca.

2- Variables: pomelo, kiwi, nectarinos, limón, naranja, manzana, melón, tomate, soja.

3- Tolerantes: cereza, frambuesa, nuez.

Ventajas y desventajas del Bromuro de metilo

Ventajas:

- Amplio rango de control de plagas.
- Amplio rango de productos tolerantes.
- Cortos tiempos de exposición.
- Fácil manejo.
- Bajo costo de implementación.

Desventajas:

- Degrada la capa de ozono
- Tóxico para humanos y animales
- Genera residuos tóxicos

Tratamientos desarrollados con Bromuro de metilo

Existen numerosas experiencias de tratamientos desarrollados en todo el mundo sobre fumigaciones con bromuro de metilo.

A continuación se muestran en la Tabla VI algunos ejemplos de tratamientos desarrollados y aprobados por países para, exportación o comercialización interna.

La EEAOC ha trabajado intensamente en el desarrollo de tratamientos con bromuro de metilo a diferentes temperaturas para productos frutihortícolas de interés regional. A continuación se citan los tratamientos desarrollados por la EEAOC y aprobados por SENASA, vigentes a la fecha.

Tabla 6. Tratamiento con bromuro de metilo, desarrollado por la EEAOC y aprobado por SENASA.

Especies	Temperatura	Dosis	Tiempo de exposición
Pomelo			
Mandarina	15°C o más	48 gr /m³	4 horas
Naranja dulce			
Pomelo			
Mandarina	15° C o más	56 gr /m³	3 horas
Naranja dulce			
Naranja agria	16°C o más	48 gr /m³	4 horas
Naranja agria	16°C o más	56 gr /m³	3 horas
Membrillo	16°C o más	48 gr /m³	4 horas
Membrillo	16°C o más	56 gr /m³	3 horas
Pimienta	16°C o más	32 gr /m³	2 horas
Arándanos	15,6°C o más	32 gr /m³	3,5 horas

En el último decenio, la producción de arándanos del país y de Tucumán en especial se incrementó de manera notoria. El principal destino de esa producción es la exportación a Estados Unidos de América (EUA) como fruta fresca. Debido a la presencia de moscas de los frutos (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha fraterculus*) en nuestras regiones, dicho país exige tratamientos cuarentenarios con frío o fumigaciones con bromuro de metilo. Este último tratamiento debía realizarse a temperaturas iguales o superiores a los 21°C., lo que impactaba negativamente en la calidad comercial de la fruta. Ante esta situación, la sección Zoología Agrícola de la EEAOC inició los estudios tendientes a modificar la temperatura del tratamiento.

Luego de dos años de investigaciones y previa auditoria de técnicos de APHIS, se logró desarrollar un nuevo tratamiento que disminuyó un 25% la temperatura inicial del tratamiento, manteniendo constantes los parámetros de dosis y tiempo de exposición.

En un primer momento, dicho tratamiento fue aprobado por APHIS para arándanos provenientes de Argentina y Uruguay. En la actualidad es válido para arándanos de cualquier de país.

Parámetros	Temperatura	Dosis	Exposición
Tratamiento antiguo	21°C o más	32 gr/m ³	3,5 hs
Tratamiento vigente	15,6°C o más	32 gr/m ³	3,5 hs

Treatment Schedules T100 - Schedules for Fruit, Nuts, and Vegetables
T101—Methyl Bromide Fumigation

T101-i-1-2

Blueberry



Lobesia botrana (European grapevine moth) has been added to this treatment schedule as the result of an emergency action required by PPQ in order to mitigate the pest risk. The emergency action is an interim measure and is pending final regulatory approval. (Federal Order DA-2013-56)

Pest: *Ceratitis capitata* (Mediterranean fruit fly), *Anastrepha fraterculus* (South American fruit fly), and *Lobesia botrana* (European grapevine moth)

Treatment: T101-i-1-2 MB at NAP—chamber

Temperature	Dosage Rate (lb/1000 ft ³)	Exposure Period
60 °F or above	2.0 lbs	3.5

Bibliografía recomendada

Anónimo. 1996. Textbook of Plant Quarantine Treatments. Plant Protection Division. Agricultural Production Bureau. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. 178pp.

Anónimo. 1998. Theory & Practice of Plant Quarantine Treatments. Japan Plant Quarantine Association. 190pp.

Anónimo. 2001. Manual para la Habilitación de Directores Técnicos y Operadores de Cámaras de

Fumigación con Bromuro de metilo. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria- (SENASA), Fundación Barrera Zootosanitaria Patagónica- (FUNBAPA), Instituto de Sanidad y Calidad Agropecuaria de Mendoza- (ISCAMEN), Dirección de Sanidad Vegetal- Provincia de San Juan. 122pp.

Anthon, E. W. ;H. R. Moffitt ; H. M. Couey & L. O. Smith. 1975. Control of Codling Moth in Harvested Sweet Cherries with Methyl Bromide and

Effects upon Quality and Taste of Trated Fruit. J. Econ. Entomol. 68(4): 524- 526.

Armstrong, J. W. & H. M. Couey. 1984. Methyl Bromide Fumigation at 30°C for California Stone fruits Infested with The Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 77(5): 1220- 1232.

Armstrong, J. W. & D. L. Garcia. 1985. Methyl Bromide Quarantine Fumigations for Hawaii- grown

Cucumbers Infested with Melon Fly and Oriental Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 78(6): 1308- 1310.

Balock, J. W..1951. Toxicity of Various Compound as Fumigants to Eggs and Larvae of the Oriental Fruit Fly. J. Econ. Entomol. 44(5): 657- 659.

Benschoter, C. A. 1979. Fumigation of Grapefruit with Methyl Bromide for Control of *Anastrepha suspensa*. J. Econ. Entomol. 72(3): 401- 402.

Bond, E. J. 1975. Control of Insects with Fumigants at Low Temperatures: Response to Methyl Bromide Over the Range 25°C to -6.7°C. Econ. Entomol. 68(4): 539- 542.

Cotton, R. T. 1932. The relation of Respiratory Metabolism of Insects to Their Susceptibility to Fumigants. J. Econ. Entomol. 25: 1088- 1103.

Cowley, J. M.; R. T. Baker; K. G. Englberger & T. G. Langi. 1991. Methyl Bromide Fumigation of Tongan Watermelons Against *Bactrocera xanthodes* (Diptera: Tephritidae) and Analysis of Quarantine Security. J. Econ. Entomol. 84(6): 1763- 1767.

Gaunce, A. P.; H. F. Madsen & R. D. McMullen. 1981. Fumigation with Methyl bromide to Kill Larvae and Eggs of Codling Moth in Lamber Cherries. J. Econ. Entomol. 74(2): 154- 157.

Katayama, M.; K. Mizutani; H. Kishino; S. Yabuta; H. Matsuura & I. Tomita. 2001. Mortality Tests for Kanzawa Spider Mite, Six Spotted Mite, Tropical Citrus Aphid and Citrus Psylla on *Satsuma Mandarins* by Methyl Bromide Fumigation. Res. Bull. Pl. Prot. Japan N° 37: 27- 33.

Leesch, J. G.; J.S. Tebbets; D. M. Obenland; P. V. Vail & J. C. Tebbets. 1999. Dose- Mortality and Large-scale Studies for Controlling Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae) Eggs on d' Agen Plums by using Methyl Bromide. J. Econ. Entomol. 92(4): 988- 993.

Maindonald, J. H. B. C. Waddell & D. B. Birtles. 1992. Response to Methyl Bromide Fumigation of Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae) Eggs on Cherries. J. Econ. Entomol. 85(4): 1222- 1230.

Mizobuchi, M.; Y. Tsuchiya, T. Dohino, T. Misumi, H. Naito, T. Takano, M. Tanno, Y. Soma, N. Matsumoto, M. Sayito, M. Hisakata, T. Imamura & F. Kawakami. 2001. Reliability of CT Products in Varieties of Perishable Commodities Fumigated with Methyl bromide. Res. Bull. Pl. Prot. Japan N° 37: 1- 7.

Moffitt, H. R.; J. B. Fountain; P. L. Hartsell & D. J. Albano. 1983. Western Cherry Fruit fly (Diptera: Tephritidae): Fumigation with

Methyl Bromide at Selectes fruit Temperatures. J. Econ. Entomol. 76(1): 135- 138.

Servicio Nacional de Sanidad Agroalimnetaria (SENASA). 2014. Resolución de Presidencia de SENASA N° 472/14

Soma, Y.; T. Akagawa; T. Misumi & F. Kawakami. 2001. Control of Western Flower Thrips in Strawberry Nurseries with Methyl Bromide. Res. Bull. Pl. Prot. Japan N° 37: 35- 38.

Tebbets, J. S., P. L. Hartsell & D. Nelson & J. C. Tebbets. 1983. Methyl bromide Fumigation of Mediterranean Fruit Fly: Concentrations, Sorption, and Residues. J. Agric. Food. Chem. 31(2): 247- 249.

Yokoyama, V. Y. G. T. Miller; P. L. Hartsell & J. G. Leesch. 2000. Large- Scale, On- Site Confirmatory, and Varietal Testing of Methyl Bromide Quarantine Treatment to Control Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae) in nectarines Exported to Japan. J. Econ. Entomol. 93(3): 1025- 1030.

Zettler, J. L. ; P. A. Follett & R. F. Gill. 2002. Susceptibility of *Maconellicoccus hirsutus* (Homoptera: Pseudococcidae) to Methyl Bromide. J. Econ. Entomol. 95(6): 1169- 1173.

Fosfina, un fumigante seguro y eficaz

Ing. Agr. M.Sc. Carlos A. Orlando

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

La demanda mundial de alimentos por parte de las distintas economías regionales y globales, requieren a diario el envío de cantidades crecientes de alimentos y/o productos secos, frescos, o procesados a distintos países, con la condición excluyente de que los mismos,

- No contengan plagas ni enfermedades propias de sus lugares de origen.
- No presenten residuos tóxicos, mas allá de los LMR (límites máximos de residuos) permitidos
- Cuyos procesos productivos, minimicen el riesgo de contaminación ambiental.

Tal circunstancia, no solo involucra a aquellos productos llamados primarios como cereales, oleaginosas, y sus productos o subproductos derivados, sino también, importantes volúmenes de frutas frescas, hortalizas y flores de corte.

Estos productos, además de satisfacer nuestras necesidades alimentarias, también forman parte de la dieta de muchos insectos plagas que los atacan sistemáticamente, ocasionando cuantiosas pérdidas y daños, no solo durante su ciclo de cultivo a campo, sino también durante la poscosecha, el almacenaje o el transporte de los mismos.

Tanto los depósitos de almacenamiento de productos alimenticios, plantas de empaque y/o procesamiento de frutas o vegetales, molinos harineros, y fábricas de pastas, son ambientes aptos para el desarrollo y la reproducción de insectos, los que pueden propagarse rápidamente, al adaptarse a las mas diversas condiciones, ambientales, climáticas y alimenticias.

No observar la presencia de insectos adultos vivos sobre un determinado producto vegetal destinado a la exportación, no constituye en absoluto una garantía de la sanidad del mismo, ya que en condiciones favorables, aún unos pocos individuos que estuvieran presentes en el estado de huevo, pueden multiplicarse rápidamente en muy cortos períodos de tiempo.

Afortunadamente hoy, existen tratamientos químicos que pueden ser usados para el control de estos insectos y dentro de ellos, los más efectivos e inocuos, son los tratamientos con gases fumigantes.

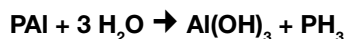
Los gases fumigantes, son los únicos capaces de penetrar y eliminar todos los estadios de desarrollo de una plaga, de una manera eficaz, sin dejar residuos tóxicos que puedan ser objetables, ni modificar las propiedades organolépticas de los productos fumigados.

La FOSFINA es el fumigante que cumple actualmente en forma satisfactoria con todas las exigencias mundiales de Inocuidad y Ausencia de Residuos Tóxicos sobre todos los productos fumigados.

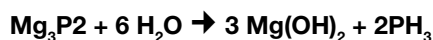
Qué es la Fosfina

La Fosfina, (PH₃) Fosfuro de hidrógeno, Trihidruro de fósforo o fosfamina, es un gas inorgánico muy venenoso, algo más pesado que el aire (densidad = 1,21 g/m³), que puede ser generado a temperatura ambiente, por hidrólisis del fosfuro de Aluminio o del fosfuro de Magnesio (Fosfuros Metálicos) al ser expuestos a la humedad del aire atmosférico, según se indica en las siguientes reacciones químicas:

Ecuación de hidrólisis del fosfuro de aluminio



Ecuación de hidrólisis de fosfuro de magnesio



Propiedades físicas

- Punto de ebullición: - 87,4 ° C.
- Solubilidad: insoluble en agua y casi insoluble en grasas
- Color: incoloro
- Olor: sin olor en estado puro, o de olor alíaceo, o similar al carburo de calcio en las formulaciones comerciales.

Propiedades químicas

- La fosfina, posee un elevado coeficiente de miscibilidad en el aire, propiedad que le confiere un gran poder de difusión y penetración sobre los distintos productos fumigados, mezclándose rápidamente con el aire de la atmosfera circundante.
- No produce cambios en la apariencia externa, ni reacciona químicamente con los productos tratados, y no altera en ningún caso, las propiedades organolépticas de los mismos, ni el poder germinativo de las semillas fumigadas destinadas a futuras siembras.

- Reacciona en altas concentraciones con metales nobles como el oro la plata y también con el cobre o sus aleaciones, razón por la cual, durante la fumigación de recintos vacíos, deben aislarse preventivamente, las instalaciones eléctricas y retirarse todos los equipos electrónicos allí ubicados.

- No reacciona con el aluminio metálico y por esta razón, se comercializa el producto comercial en envases de aluminio.

Los Fosfuros Comerciales

Los Fosfuros metálicos, Fosfuro de Aluminio o de Magnesio, se presentan comercialmente en forma de:

- Pastillas de 3 gramos → liberan 1 gramo de fosfina cada una.
- Pastillones de 3 gramos → liberan 1 gramo de fosfina cada uno.
- Comprimidos de 0,6 gramos → liberan 0,2 gramos de fosfina cada uno (5 comprimidos equivalen a 1 pastilla o pastillón).
- Placas de 117 gramos → liberan 33 gramos de fosfina cada una.

Mientras el producto fumigante se mantenga dentro de su envase original, no existe ningún riesgo de alteración en su composición química, ni de generación de gas, conservando la calidad y pureza de sus componentes originales de fabricación.

Las pastillas o pastillones a temperaturas ambientes mayores a 5°C y en contacto con la humedad del aire, comienzan a disgregarse lentamente, liberando inicialmente dióxido de carbono y amoníaco a partir del carbamato de amonio, presente en la formulación y cuyo propósito, es diluir la fosfina generada y absorber el calor de la reacción de hidrólisis, que es fuertemente exotérmica.

El amoníaco liberado actúa además, como gas de alarma, dando cuenta al personal operativo afectado, sobre el inicio de la descomposición del fosfuro metálico y sobre la generación de fosfina.

Las pastillas fumigantes, modifican su aspecto exterior a medida que se descomponen; cambiando de un color gris-verdoso, brillante, a un color verde mate, de aspecto rugoso, y más tarde blanquecino. La textura se vuelve quebradiza, aumentando

el volumen original y quedando al final de la descomposición como único residuo, un polvillo gris (hidróxido de aluminio) sustancia totalmente inerte.

La generación del gas, comienza recién al cabo de las primeras 2 horas durante dicho lapso, las pastillas o comprimidos permanecen fríos, merced a que el calor producido por la hidrólisis del fosfuro metálico (reacción exotérmica), es absorbido por la descomposición del carbamato de amonio (reacción endotérmica).

El fosfuro de aluminio, de uso muy generalizado, en granos y mercaderías almacenadas, cuando es expuesto al aire y según la temperatura y humedad reinante, tarda entre 48 y 72 horas en descomponerse.

El fosfuro de magnesio, al ser una molécula mas reactiva, se hidroliza mucho más rápidamente, y en 48 horas la liberación es total.

En condiciones normales (20 °C y 60 % de humedad relativa), el fosfuro de aluminio desde el inicio de la reacción, libera aproximadamente un 40% de la fosfina total contenida, durante las primeras 24 horas, en cambio el fosfuro de magnesio, libera un 75% del contenido total, en el mismo lapso

Mercaderías que son fumigadas con fosfina

Existen actualmente algo más de 400 productos y subproductos, tanto de origen vegetal, como animal, que son efectivamente fumigados con fosfina, entre los que se pueden citar:

- Productos a granel: Cereales (trigo, cebada, centeno, avena, maíz, sorgo, arroz), leguminosas (porotos, maní, arvejas, lentejas, etc.), girasol, mijo lino, malta, cacao en bruto, pellets, maderas, fibras de algodón, etc.

Estos productos pueden ser fumigados en instalaciones fijas y medios de transportes terrestres o marítimos, siempre y cuando se respeten las normativas y restricciones vigentes, para las fumigaciones en tránsito.

- Productos embolsados: harina, sémola, frutas y vegetales secos, hierbas aromáticas, especias, chocolate, nueces, cacao, café, pastas alimenticias, tabaco en fardos y otros productos elaborados (quesos, jamones).

Los envases contenedores, deberán ser permeables

al gas, (films plásticos con menos de 100 micrones de espesor). Se puede aplicar estos tratamientos tanto en depósitos herméticos como bajo carpas plásticas, siempre que estas sean de más de 100 micrones de espesor.

- Locales vacíos debidamente hermetizados, como depósitos de tabacos procesados, molinos harineros, fábricas de productos alimenticios, etc.

- Celdas y silos de almacenaje de granos tanto vacíos como llenos, bodegas de barcos, etc.

Aspectos a considerar para lograr una buena fumigación

Para obtener óptimos resultados en una fumigación, se deben tener en cuenta algunos aspectos teóricos fundamentales como son

1. Dosis o concentración
2. Tiempo de exposición
3. Capacitación del Personal Operativo

1. Dosis o concentración:

Dependen de los siguientes factores:

- Forma de almacenaje (tipo y estructura de almacenamiento)
- Plaga a controlar
- Temperatura

El conocimiento y la evaluación del tipo de estructura de almacenamiento a fumigar resultan fundamentales para establecer el grado de hermeticidad que esta posee, al momento de determinar la dosis de fumigante a utilizar.

Cuando se fumigan mercaderías a granel, las dosis se calculan por tonelada, en cambio cuando son mercaderías estibadas o locales vacíos, las dosis se calculan por metro cúbico de espacio.

Generalmente, los silos y celdas de hormigón, por sus características constructivas, son mucho más herméticos que los silos metálicos.

Para acondicionar y mejorar el sellado y la hermeticidad, de las instalaciones a fumigar, se pueden utilizar distintos materiales disponibles en el mercado como ser, películas de polietileno, cintas adhesivas de papel impermeables a los gases, siliconas acéticas y espumas de poliuretano expandibles

Algunas Plagas de Post-cosecha de granos controladas con fosfina.

Nombre común	Nombre científico	Granos y subproductos atacados
Gorgojo de los granos	<i>Sitophilus granarius</i> *	trigo, cebada, maíz, sorgo, arroz, harinas
Gorgojo grande del cultivo	<i>Sitophilus zeamais</i> *	trigo, cebada, maíz
Gorgojo del arroz	<i>Sitophilus oryzae</i> *	trigo, cebada, maíz, sorgo, arroz, harinas
Gorgojo del café	<i>Araecerus fasciculatus</i> *	maíz, girasol, café
Gorgojo del poroto	<i>Acanthoscelides obtectus</i> *	poroto, arveja
Carcoma dentada	<i>Oryzaephilus surinamensis</i> **	trigo, cebada, maíz, sorgo, arroz
Carcoma grande	<i>Tenebroides mauritanicus</i> **	trigo, cebada, maíz, arroz, harina, galletas
Carcoma achatada	<i>Laemophloeus minutus</i> **	trigo, cebada, maíz, sorgo, arroz, harinas
Carcoma del tabaco	<i>Lasioderma serricorne</i> **	tabaco, poroto, harinas
Taladrillo de los granos	<i>Ryzopertha dominica</i> *	trigo, cebada, maíz, sorgo, arroz, harinas
Tribolio castaño	<i>Tribolium castaneum</i> **	trigo, cebada, maíz, sorgo, arroz, girasol, poroto, arveja, lenteja, harinas
Tribolio confuso	<i>Tribolium confusum</i> **	trigo, cebada, maíz, sorgo, arroz, girasol, poroto, arveja, lenteja, harinas
Palomita de los cereales	<i>Sitotroga cerealella</i> *	trigo, cebada, maíz, sorgo, arroz
Polilla de la harina	<i>Ephestia kuehniella</i> **	trigo, cebada, maíz, sorgo, arroz
Polilla de la fruta seca	<i>Plodia interpunctella</i> **	trigo, cebada, maíz, harinas, galletitas, frutas secas
Ácaro de la harina	<i>Acarus siro</i>	trigo, cebada, maíz, girasol, harinas
Ácaro	<i>Glyciphagus domesticus</i>	trigo, cebada, harinas
Ácaro	<i>Tyroglyphus grioti</i>	trigo, cebada, girasol

* Insectos de Infestación Primaria

** Insectos de Infestación Secundaria

Para la fumigación de camiones o vagones de ferrocarril, donde generalmente se dispone de poco tiempo y la hermeticidad no está asegurada, se recomienda el uso de comprimidos de fosfuro de aluminio o fosfuro de magnesio (de liberación más rápida), cubriendo siempre la mercadería con carpas de lona o films de polietileno.

El tipo de plaga presente es importante, no sólo por la clase primaria o secundaria sino por el grado de infestación. Así, insectos como la Palomita de los cereales son menos resistentes que la Trogoderma del grano.

Respecto a los ácaros, es una plaga que en condiciones adversas entra en un estado de hipopus muy resistente, por lo que se recomienda aumentar un 20% la dosis y en 10 días el tiempo de exposición, a fin de que abandone dicho estado y pueda ser controlado en su fase migratoria.

Para temperaturas superiores a 25 °C en el interior de la mercadería, las dosis pueden disminuir; en cambio por debajo de 5 °C, no es recomendable realizar fumigaciones.

Dosis:

Cantidad de producto (pastillas, comprimidos, etc.) por tonelada o metro cúbico.

Concentración:

Cantidad de gas (Fosfina) expresados en gramos por metro cúbico en la totalidad del recinto a fumigar o PPM del gas presentes en un metro cúbico de aire.

En condiciones de laboratorio, 1 gramo de fosfuro de aluminio o de magnesio puede liberar 700 ppm de fosfina pura (= 0,7 g/m³); sin embargo, en condiciones reales de uso, durante una fumigación, solo alcanzará unas 400 ppm, debido a las fallas de hermeticidad y a la descomposición ocasionada por la luz solar.

La concentración mínima requerida para lograr la total mortandad de todos los estadios de las plagas de insectos debe ser de 100 ppm durante un tiempo no menor a las 120 de exposición.

2. Tiempo de exposición:

Es la cantidad de horas en la que la mercadería o espacio a tratar, esta expuesto a la totalidad del gas y depende de los siguientes factores:

- Temperatura y humedad relativa ambiente

- Clase de mercadería
- Plaga a controlar

Cuanto más elevada sea la temperatura y humedad, más rápido se produce la liberación del gas.

El tiempo de exposición teórico varía según la temperatura, de la siguiente manera:

- A más de 25 °C → 3 días como mínimo
- de 25 a 16 °C → 3-4 días
- de 15 a 10 °C → 5 días
- de 9 a 5 °C → 10 días
- menos de 5 °C → no se deben realizar fumigaciones

Un tiempo de exposición superior al recomendado es más beneficioso para el tratamiento, no así uno inferior.

Un aumento en las dosis de uso recomendadas, no puede ser considerado bajo ningún aspecto, como una forma de reducir los tiempos de exposición necesarios para lograr el efectivo control de los insectos presentes.

En toda fumigación, se procura lograr y mantener una alta concentración del gas durante un tiempo de exposición mínimo y suficiente.

3. Capacitación del Personal Operativo:

Es fundamental realizar la capacitación de los operarios afectados a estas operaciones, en forma permanente y periódica a fin de lograr un óptimo resultado en las fumigaciones.

El personal operativo, debe aprender y manejar a la perfección parámetros tales como: dosis de uso, concentraciones, aspectos técnicos inherentes a la distribución o aplicación del producto, identificación de los tipos y clases de insectos presentes, uso correcto de los elementos de protección personal y normas internacionales para el manejo seguro del producto.

Normas de Seguridad

La fosfina, por su extremada toxicidad, debe ser empleada por personal técnico debidamente capacitado, el que deberá tener presente todas las precauciones y recomendaciones de seguridad para el manejo de sustancias tóxicas.

Los envenenamientos pueden presentarse por dos causas típicas

- inhalación involuntaria de los gases de Fosfina generados

- ingestión voluntaria del fosforo de Aluminio o de Magnesio,

La fosfina actúa como veneno neurotóxico bloqueando importantes sistemas enzimáticos dentro de las células del organismo. Sin embargo, prácticamente no es absorbido a través de la piel.

En seres humanos y mamíferos no se han observado envenenamientos crónicos.

La utilización de productos fitosanitarios debe hacerse bajo estrictas normas de seguridad.

El manipuleo seguro no es difícil, pero se debe cumplir con ciertos aspectos y tener responsabilidad y criterio para prevenir y reducir la sobre exposición de seres humanos y animales.

Almacenar el producto en lugares seguros, frescos, ventilados, cerrados bajo llave, alejados de fuentes de calor y humedad excesiva y fuera del alcance de los niños y personas inexpertas.

No comer, beber ni fumar durante el manipuleo y aplicación del producto. Leer íntegramente la etiqueta antes de utilizar el producto. Luego del trabajo, lavarse con abundante agua y jabón, todas las partes del cuerpo expuesta al contacto del producto.

Solicite asesoramiento técnico a un Ingeniero Agrónomo para su adquisición. Los envases deben ser originales y estar debidamente etiquetados según las reglamentaciones vigentes y no se deben fraccionar.

Los operarios previamente a la fumigación deben desalojar el recinto donde se realizará el trabajo y aquellos colindantes, verificar la hermeticidad de los sellados y procurarse de máscara y filtro específico, que si bien la demora en la liberación da suficiente tiempo para la aplicación sin esos elementos, siempre son necesarios por cualquier urgencia.

En el momento de la fumigación, los operarios deben estar de a dos como mínimo, sin perder contacto visual en ningún momento.

En los lugares a fumigar, deben colocarse carteles visibles de aviso y advertencia, para evitar el ingreso de personas no habilitadas. Los trabajos de aplicación del producto deben iniciarse desde el

lugar más alejado de la salida y con la cantidad de operarios necesaria para finalizar las tareas dentro del período de seguridad del producto.

El producto debe ser distribuido de tal manera que el aire pueda circular libremente entre las pastillas o comprimidos, a fin de que la descomposición sea completa.

En caso de aplicar en estibas de bolsas bajo cubierta plástica, es recomendable colocar el producto sobre bandejas planas de papel o cartón, bien distribuidas bajo las estibas, sin que se toquen unas a otras y sin que toquen la cubierta plástica.

Si se debe aplicar con lancetas sobre mercaderías a granel, es recomendable distribuirlas clavando la lanceta a diferentes alturas, evitando la aglomeración de pastillas. En el caso de silos, distribuir el producto en la vena del cereal, a medida que ingresa al silo, según dosis y rendimiento de carga.

La ventilación se realiza abriendo todas las aberturas del recinto o por ventilación forzada, ingresando al lugar equipado con máscara full-face o panorámica y filtro específico para Fosfina, siempre y cuando la concentración del gas sea inferior a 15 ppm. Si es superior, se debe ingresar con equipo autónomo.

No reocupar el lugar fumigado antes que la concentración de Fosfina haya descendido por debajo de 0,1 ppm (valor MAC = concentración máxima en el lugar de trabajo); se puede verificar la concentración con los tubos detectores de Fosfina, que miden por rangos de por ejemplo 0,1 a 100 ppm (Baja) y de 50 a 2000 ppm (Alta).

En el caso de haber colocado el producto sobre bandejas, el polvillo resultante de la descomposición debe ser desactivado, debido a que quedan retenidos cristales de fosforo de aluminio (1%) o Fosforo de magnesio (0,1-0,2%). La metodología es simple y sencilla.

Se debe preparar una solución desactivante con agua y detergente al 2% (4 tazas de detergente por cada 120 litros de agua) en un recipiente adecuado, hasta unas pulgadas del borde.

Luego se debe verter lentamente el polvillo, revolviendo hasta mojarlo completamente. Se debe dejar reposar 24 horas y se elimina en un vertedero de basura u otro sitio habilitado por la autoridad sanitaria.

El líquido de desactivación no es contaminante y este

procedimiento hay que realizarlo en lugares abiertos con la respectiva protección respiratoria.

El Fosfuro de aluminio o magnesio parcialmente descompuesto, es considerado peligroso ya que continúa liberando activamente fosfina.

En estos casos deben colocarse en un lugar abierto al aire libre y dejar que complete la descomposición para posteriormente desactivar el residuo.

Con los envases vacíos se procede al triple lavado y se eliminan en un basurero sanitario habilitado o se deriva a empresas habilitadas para su destrucción por incineración controlada.

La Fosfina, un Fumigante Seguro

La fosfina es considerada como un fumigante seguro por las siguientes características y propiedades particulares que se detallan a continuación.

- Ofrece seguridad al usuario, ya que se conoce el tiempo que debe transcurrir para que se inicie la descomposición del fosfuro y la generación de fosfina y, además, el olor característico del amoníaco sirve como gas de alarma.

Sin embargo, resulta necesario el uso de los elementos de protección respiratoria (máscaras y filtros específicos) una vez iniciada la reacción.

- No es inflamable, debido a que, una equilibrada composición de la fórmula química, cuya calidad y pureza son garantizadas por estrictas normas internacionales de fabricación, permiten que el carbamato de amonio presente en la mezcla, utilice el calor generado por la reacción química, para liberar amoníaco y dióxido de carbono que actúan in situ, como gases inertes que evitan la inflamación espontánea de la fosfina.
- No produce, ni durante, ni en forma posterior a la fumigación, ningún proceso de transformación química sobre los productos fumigados ni afecta a los consumidores de los mismos, ya que no deja residuos tóxicos, ni olores extraños en la mercaderías tratadas.
- No altera las propiedades organolépticas de los productos fumigados.
- No afecta el poder germinativo de las semillas destinadas a siembra, incluso las mejora.

- No altera la estructura ni la composición química de las vitaminas presentes en los productos fumigados

- No afecta la capa de ozono

Nuevos usos de la fosfina. Situación actual y perspectivas futuras

1. Antecedentes:

Tradicionalmente, la fosfina se ha utilizado en el control de insectos en granos almacenados. Sin embargo, ha comenzado a tener nuevos usos en frutas frescas, madera y flores. Es así como durante el 2005, se aprobó el Protocolo Chile-México, el cual valida el tratamiento de fosfina en frutas de carozo y pomáceas para el control de “chanchito blanco” – *Pseudococcus viburni*–.

Los nuevos usos, van de la mano con el cuestionamiento que está teniendo el bromuro de metilo.

Específicamente, derivado del Protocolo de Montreal, se estableció un programa de reducción de uso en las aplicaciones al suelo, no así en las fumigaciones cuarentenarias con bromuro de metilo 100%. Sin embargo, su cuestionamiento se mantiene y esto abre oportunidades para desarrollo de nuevas alternativas de tratamientos cuarentenarios.

Para poder ofrecer tratamientos alternativos en base a fosfina, sobre otros productos vegetales, ha sido necesario el desarrollo de nuevas tecnologías de generación y aplicación del fumigante, de manera de lograr reducir al máximo, el excesivo tiempo necesario para la hidrólisis de los fosfuros.

Es así como nacen las siguientes tecnologías de aplicación:

- Generador de Fosfina Degesch (GFD): permite la inyección de fosfina pura, en la concentración deseada, en el tiempo cero.
- Speed Box: permite la inyección de fosfina pura, en la concentración deseada, al cabo de 5 horas.

Además, fue necesario el desarrollo de nuevas formulaciones, libres de carbamato de amonio, que evitaban el efecto fitotóxico de éste componente.

Degesch de Chile Ltda., en su interés por aportar soluciones alternativas a la problemática de las exportaciones de productos, ha determinado las siguientes áreas con necesidad de investigación y desarrollo:

- Frutas frescas: pomáceas, carozos, uva de mesa, cítricos, paltas y frutas tropicales.
- Maderas: tanto en bruto como procesadas.
- Flores de corte: rosas, claveles, crisantemos y otras.

A continuación se presenta una recopilación de antecedentes de la situación actual y perspectivas futuras en dichos nichos. En el sentido de poder concretar y validar Protocolos de Fumigación, que sean reconocidos internacionalmente y, en especial, por los países donde se distribuyen nuestros productos. Además, se presenta la forma bajo la cual se han aprobado Protocolos en Chile; lo que puede servir de guía para el resto de los países.

Degesch de Chile Ltda. Cuenta actualmente con modernos equipos para la medición continúa de las concentraciones fosfina logradas, los que han sido desarrollados y construidos acordes a las necesidades específicas de uso de la mencionada empresa y capaces de monitorear las concentraciones, durante todo el tiempo que dure la fumigación.

De esta manera, es posible proporcionar a los organismos fiscalizadores en forma instantánea los registros cronológicos de las concentraciones logradas durante la fumigación. Razón por la cual las perspectivas futuras de nuevos usos de fosfina son más que alentadoras.

2. Situación actual de la fumigación de frutas:

Uno de los principales problemas que plantea la fumigación de frutas frescas con fosfina, es la temperatura a la cual se debe efectuar el tratamiento. Usualmente, ésta debe estar en torno a los 0° C. y como es sabido, el metabolismo de los insectos a esa temperatura es sumamente bajo, lo que podría dificultar el control de: huevos y estados juveniles o adultos de insectos.

Adicionalmente, se deben cumplir tiempos mínimos de exposición relativamente largos de 72 hrs a concentraciones de 300 ppm.

Si se compara con un tratamiento de Bromuro de Metilo, que puede llegar a las 8 horas como máximo, vemos que es casi imposible competir con éste último fumigante.

A modo de ejemplo a continuación se presentan

los antecedentes cronológicos que permitieron al país vecino de Chile, aprobar un protocolo de la fumigación de frutas de carozo y pomáceas con fosfina, para el control de la plaga cuarentenaria, del chanchito blanco *Pseudococcus viburni*.

En el año 2003

- Chile comienza a tener sucesivos rechazos de embarques de frutas de carozo y pomáceas por presencia del chanchito blanco. *Pseudococcus viburni*.
- Los tratamientos con bromuro de metilo mostraron que se afectaba severamente la post cosecha de las frutas fumigadas.
- México plantea la posibilidad de un manejo integrado de la plaga, el cual no evita la presencia de insecto, sólo se logra disminuir su incidencia.

En el año 2004

- La Asociación de Exportadores de Chile, ASOEX, comienza a realizar pruebas de efectividad de las fumigaciones con fosfina.
- Se concluye que es factible la fumigación de las frutas mencionadas en plazos razonables de tiempo.
- La ASOEX presenta los resultados experimentales a la DGSV de México y al SAG de Chile. Ambas entidades son las encargadas de velar por la fitosanidad de los productos importados y exportados a sus respectivos países.
- Se valida y se establece la vigencia del Protocolo fitosanitario entre Chile y México para el control de *Pseudococcus viburni* con fumigaciones en base a fosfina en frutas de carozo y pomáceas destinados a exportación.

3. Perspectivas futuras:

Ya que se demostró que la fosfina controla todos los estados de desarrollo de *Pseudococcus viburni*, a 0°C durante 24 horas, sin afectar la calidad, ni la conservación del producto durante la poscosecha, ni en su vida en góndola ahora para poder ampliar sus usos futuros sólo se deben buscar nuevos hospederos que tengan a éste insecto como plaga. Y que, además, en el país de destino sean una plaga cuarentenaria.

Por otro lado, este tratamiento alternativo permite aprovechar la misma infraestructura de cámaras que se utilizan para las fumigaciones con bromuro de

metilo; sólo se deben instalar ductos suplementarios para realizar la inyección del gas. Por lo que, no se requiere de ningún cambio especial.

Actualmente se están realizando fumigaciones para controlar *Pseudococcus viburni* en las siguientes frutas:

- Cítricos
- Paltas
- Caquis
- Uva de mesa
- Peras y manzana

Se ha validado un Protocolo específico para la exportación a México de peras y manzanas, y se están realizando estudios para el control de:

- *Cydia molesta*,
- *Panonychus ulmi*
- *Proeulia auraria*
- *Proeulia chrysopteris*.

Los antecedentes indican que actualmente existen altas probabilidades para que se aprueben nuevos Protocolos de fumigación considerando que, además, no existen tratamientos alternativos, podemos darnos cuenta de que se abren nuevas oportunidades de uso.

Los desafíos actuales para los Centros de Investigación que son referentes mundiales en temas cuarentenarios, pasan por lograr:

Desarrollar y validar nuevos protocolos de fumigación con fosfina, ante las respectivas entidades de control fitosanitario, de manera de que, los mismos sean aceptados por los respectivos países, tanto de origen como de destino, de cada uno de los productos exportables considerados

4. Situación de la fumigación de maderas:

La exportación de productos forestales de Chile, actualmente representan unos 3.000 millones de dólares por año, lo que hace de esta actividad económica sea una de las más importantes para ese país, después del cobre.

Uno de los pilares del éxito ha sido el reconocimiento de la condición fitosanitaria del país, por los más

diversos consumidores del mundo, lo cual le ha permitido posicionarse cada vez mejor dentro del Contexto Internacional del Comercio de Productos Forestales.

En este sentido, se hace importante realizar una eficiente labor de Certificación Fitosanitaria de los productos forestales a exportar, tendiente al fortalecimiento del estatus de Chile como país exportador de Productos Forestales de alta calidad fitosanitaria, ya que cuenta con una serie de normativas específicas que regulan la exportación de maderas

- Regulaciones sobre embalajes de madera.
- Requisitos fitosanitarios productos forestales de exportación.
- Manual de procedimientos: para la certificación fitosanitaria de productos forestales de exportación.

5. Situación actual de la fumigación de flores de corte:

Desde el mismo momento en que una flor es cortada, comienza una etapa acelerada de deshidratación, es por esto que, rápidamente deben ser acondicionadas en baldes de agua a bajas temperaturas.

Por otro lado, resulta necesario, llegar lo más rápido posible a los mercados del país de destino, para lograr el mayor tiempo posible en la vida comercial de las mismas y donde el aspecto fitosanitario es muy importante para evitar el rechazo de los envíos aunque las fumigaciones cuarentenarias con bromuro de metilo, afectan seriamente la calidad de la flor cortada y su post cosecha, acortando rápidamente su vida comercial

En la actualidad, no existe ningún Protocolo internacional, que haya sido validado para la fumigación de flores con fosfina, no obstante, ya que se han resuelto los aspectos técnicos mas limitante para su uso, como era el "tiempo necesario para lograr la hidrólisis" del fosfuro de magnesio, mediante el desarrollo del Generador de Fosfina Degesch y del Speed Box.

Hoy resulta necesario validar nuevos Protocolos de uso de la fosfina; sobre todo considerando los efectos negativos que producen sobre productos vegetales frescos, las fumigaciones con bromuro de metilo.

Principales plagas presentes en las flores de corte

- Trips
- Chanchito Blanco
- Hormigas

Considerando la característica natural de las flores, existe el riesgo de que dichos insectos coloquen sus huevos en el interior de las mismas, y luego estos eclosionen poco tiempo después. Por lo tanto, la eliminación de todos los estadios de desarrollo, resulta fundamental para que el tratamiento sea exitoso.

Se debe tener en cuenta que, la fosfina controlará eficazmente todos los estados de desarrollo de la plaga, pero también se debe considerar que una exportación de flores, según las normativas vigentes, puede ser rechazada por la sola presencia del insecto, independientemente de si el mismo se encuentra vivo o muerto.

Por lo tanto, se debe tener muy en cuenta que una fumigación con fosfina si bien puede lograr controlar todos los estadios de las plagas consideradas, el insecto igualmente quedará allí.

Las perspectivas futuras de la fumigación de flores con fosfina, dependen exclusivamente de los

desarrollos experimentales que se hagan a futuro, dado que no existen antecedentes bibliográficos que hagan mención a algún Protocolo de uso.

Si se consideran las tecnologías actuales que están disponibles para la generación y la inyección, de fosfina, que permiten lograr las concentraciones deseadas en forma instantánea, veremos la necesidad de comenzar las investigaciones y ensayos experimentales de uso, los que posteriormente puedan ser reconocidos y aceptados por los respectivos organismos de control.

El hecho de que, las fumigaciones cuarentenarias con bromuro de metilo 100%, afecten seriamente la post cosecha, la calidad y la conservación en góndola de frutas y/o de flores de corte fumigadas cuarentenariamente, con dicho producto, abre actualmente nuevas posibilidades de uso a la fosfina, en sus distintas presentaciones comerciales.

Tal circunstancia, determina que los organismos de fiscalización fitosanitaria nacionales e internacionales trabajen en forma conjunta con las instituciones de investigación internacionalmente aceptadas (EEAOC) en el desarrollo de nuevos protocolos de fumigación, para productos frutihortícolas destinados a la exportación.

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

D3

Atmósfera controlada

**M^a Guillermina Socías
y M^a Cecilia Gramajo**

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOMBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

El objetivo del uso de Atmósferas controladas-modificadas es alargar la vida útil de los productos sin detrimento de sus cualidades organolépticas, es decir, la conservación de frutas y hortalizas con los mejores atributos de calidad (Color, textura, sabor, aroma, contenido nutricional y microbiológico).

Las investigaciones basadas en tratamientos con atmósfera controlada han sido enfocadas para el control de plagas de almacenamiento, sobre todo frutos secos y granos. Asimismo, todas las investigaciones derivadas son válidas para aplicaciones cuarentenarias.

Concepto y características generales

La conservación de productos en Atmósferas controladas-modificadas consiste en el mantenimiento de los productos bajo refrigeración en una atmósfera de composición distinta de la del aire normal (78.08% N_2 , 21% O_2 y 0.003% CO_2), esencialmente empobrecida de oxígeno y enriquecida en dióxido de carbono. Ambas técnicas suponen un cambio en la atmósfera que rodea a los alimentos.

Hay que diferenciar entre Atmósfera controlada y Atmósfera modificada. Con la primera técnica, la composición de la atmósfera se controla a través de la vida de almacenamiento de los productos mediante la elección adecuada de las propiedades de permeabilidad del material usado para envasar. En el caso de las atmósferas modificadas, la atmósfera se modifica o altera en el punto de envasado y ya no se realizan otros intentos para controlar su composición.

Estas dos técnicas frigoríficas de conservación actúan modificando la composición gaseosa de la atmósfera en una cámara de frigoconservación, en la que se realiza un control de regulación de las variables físicas del ambiente (Temperatura, Humedad y Circulación del aire). La conservación de un producto frutihortícola se realiza, de este modo, en una atmósfera pobre en O_2 y rica en CO_2 . La composición del aire se ajusta en forma precisa a los requerimientos del producto envasado, manteniéndose constante durante todo el proceso. Dicha técnica, acentúa el efecto de la refrigeración sobre la actividad vital de los tejidos, evitando ciertos problemas fisiológicos y disminuyendo las pérdidas por podredumbres. La acción de la atmósfera sobre la respiración del fruto es mucho más importante que la acción de las bajas temperaturas. Esta atmósfera modificada ralentiza

las reacciones bioquímicas provocando una mayor lentitud en la respiración, retrasando la maduración, estando el fruto en condiciones latentes, con la posibilidad de una reactivación vegetativa una vez puesto el mismo en condiciones atmosféricas normales.

Fundamentos Básicos del accionar de la técnica de Atmósfera controlada

La tecnología de Atmósfera controlada trabaja por reducción de la respiración, demorando la producción de etileno, inhibiendo la reproducción de patógenos y matando insectos. El gran impacto sobre los insectos es alcanzado por el mantenimiento de bajas concentraciones de O_2 en un período extenso de tiempo, el cual conduce a una privación de O_2 en los tejidos de los insectos.

La bibliografía referida al control de insectos con atmósferas controladas es extensa y ha merecido importantes revisiones (Annis, 1986). Estos trabajos se basan en la modificación de la atmósfera a través de la adición de gases (N_2 , CO_2) para eliminar el oxígeno y crear un ambiente desfavorable al desarrollo de insectos y hongos. La bibliografía establece que concentraciones de CO_2 y O_2 , tiempo de exposición, especie de insecto, estado de desarrollo (Huevo-larva-pupa-adulto), temperatura y humedad relativa son los principales factores que influyen en la mortalidad de los insectos en los tratamientos cuarentenarios.

Los estudios de control de insectos con atmósferas controladas o modificadas se pueden separar en: atmósferas con bajas concentraciones de O_2 y atmósferas enriquecidas con CO_2 .

• Atmósferas con bajas concentraciones de O_2

La mayoría de los trabajos se refieren a atmósferas con concentraciones de O_2 menores a 1%. Estas atmósferas se logran agregando N_2 , CO_2 o cualquier otro gas. La mayoría de las especies estudiadas mostraron una mortalidad de 95 % o más durante 10 días de exposición, tanto en atmósferas con 0.1 ó 1 % de O_2 (Annis, 1986).

• Atmósferas enriquecidas con CO_2 :

El CO_2 es un gas altamente soluble en agua y con propiedades bacteriostáticas, lo que retarda el crecimiento de hongos y bacterias aeróbicas. El CO_2 actúa alargando la fase vegetativa del crecimiento microbiano. El CO_2 no es totalmente inerte y puede influir sobre el color, la consistencia y otros atributos de la calidad de las frutas y

hortalizas. Las concentraciones de CO₂ han de estar comprendidas entre el 20 y el 60%, siendo más efectivo su accionar a bajas temperaturas. Cuando la concentración de O₂ es menor a 5 % se observa un incremento en la mortalidad. Los datos de eficacia de control de insectos con atmósferas con menos de 20 % de CO₂ son confusos. (Annis, 1986).

Fleurat-Lessard (1990) revisó los efectos del elevado nivel de CO₂ y niveles reducidos de O₂ en insectos. Él sugiere que los niveles tóxicos de O₂ están entre 0.9-5 %, con variaciones según las especies, estadio de vida, temperatura y humedad relativa.

Algunas especies de insectos son tolerantes a altos niveles de CO₂; generalmente las pupas son las tolerantes, sugiriendo que pueden permitir o generar resistencia a niveles altos de CO₂ en su desarrollo (Paton & Creffield, 1987).

La literatura muestra que el control de insectos con CO₂ a bajas dosis es igualmente efectivo. White & Jayas (1993), lograron un control completo de *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) con 29% de CO₂ durante dos semanas de exposición y con temperaturas declinando de 25 a 20° C, mientras que a una concentración aun más baja (20%) y a una temperatura ligeramente mas alta (25° C), se necesitaron de 4 a 6 semanas (White *et al.*, 1990).

Equipamiento y Planta Piloto

La planta piloto de atmósferas modificadas es una herramienta fundamental para la investigación, el desarrollo y la innovación de este tipo de tecnologías. El uso de plantas pilotos permite la determinación de las condiciones de los tratamientos, seleccionando la temperatura, tiempo de exposición, humedad relativa y concentración de gases idóneas para cada producto. De este modo permite el desarrollo de tratamientos cuarentenarios en atmósferas modificadas para cualquier tipo de frutas y hortalizas.

El sistema de planta piloto permite el análisis, control y medición de temperatura, humedad relativa y concentraciones gaseosas de anhídrido carbónico (CO₂), oxígeno (O₂), etileno (C₂H₄) y nitrógeno (N₂) en el interior de cabinas de metacrilato de medidas 75x75x80 cm de cierre hermético. La composición gaseosa es monitoreada y regulada a través de un sistema informático y con un programa interactivo para visualización, programación y actuación sobre todos los parámetros mencionados y con sistema de

seguridad por alarmas programables para cada uno de ellos.

El equipo se compone esencialmente de los elementos propios de medida y control como son las sondas higrostáticas para medición de humedad relativa, los termopares para la medición y control de la temperatura, los analizadores para la medición de gases y elementos propios de control, tales como electroválvulas, relés y actuadores. Las conducciones y las conexiones de los diferentes elementos se centralizan mediante sifón para cada una de las cabinas herméticas de metacrilato de tal forma que se garantiza su hermeticidad. El equipo consta también de un sistema de control informático que es el elemento de interfase entre el usuario y la máquina y es, además, el encargado de dirigir, al equipo de control central, las órdenes que el usuario ejerza desde la computadora.

Ventajas e Inconvenientes de la Técnica de Atmósfera Controlada

1. Ventajas

- Prolongación del período óptimo de la conservación entre un 40 y 60 %, respecto de la conservación en atmósfera normal.
- Reducción de alteraciones y podredumbres típicas del frío, de la conservación frigorífica a 0° C, ya que permite elevar las temperaturas.
- Reducción de las mermas por peso.
- Reducción de fisiopatías.
- Mayor resistencia del producto después de la conservación en cuanto al reinicio del metabolismo.
- Permite el empleo de temperaturas elevadas, necesitando menos frigorías respecto al frío normal.
- Efecto fungicida debido a la elevada concentración de CO₂.
- Se reduce el calor de respiración del fruto como consecuencia de la mínima intensidad respiratoria debido al bajo contenido en O₂ y la elevada concentración de CO₂.
- Retrasa la maduración y el ablandamiento del fruto.
- Frena el ataque fúngico.

- Facilita el transporte de productos perecederos por vía terrestre donde antes se requería transporte aéreo, y así se reducen los costos.

- Es una alternativa al tratamiento con Bromuro de Metilo que, con frecuencia daña o disminuye la vida útil de los productos a la vez que causa un deterioro ambiental severo.

2. Inconvenientes

- Inversión inicial elevada.
- Mantener la adecuada composición de la atmósfera.
- Necesidad de un instrumental tecnológico elevado para su control.
- Limitaciones de apertura de la cámara.
- Nuevas fisiopatías y desórdenes propios de las Atmósferas controladas.

Costos-Beneficios

Si bien la tecnología de Atmósfera controlada requiere inversiones de capital iniciales elevadas para la instalación de cámaras de tratamientos y modificación de los containers de transporte, las experiencias

demuestran que los beneficios son numerosos y superan por lejos los costos de instalación.

La técnica de Atmósfera controlada permite el transporte de productos ultramar y con ello:

- Se obtienen excelentes resultados con este medio de transporte porque permite reducir o eliminar el daño por insectos y patógenos a la vez que mantiene por más tiempo la calidad de los productos frescos.

Consideraciones Finales

La desinfección con Atmósfera controlada para cumplir con los requerimientos cuarentenarios ha sido demostrada efectivamente para Tortricidae, Curculionidae y Tephritidae. Asimismo, existe un amplio rango de plagas donde el control por medio de Atmósferas controladas ha sido una opción positiva como tratamiento cuarentenario; pero dada la importancia de dichas plagas, los datos sobre sus efectos resultan escasos e insuficientes.

Las investigaciones más recientes, tanto del sector público como privado apuntan a proveer de información sólida para la aceptación y el uso de la técnica de Atmósfera Controlada como un tratamiento cuarentenario que cumple con las regulaciones internacionales.

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

D4

Tratamientos
combinados

Ing. Agr. Analía Ruth Salvatore

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

Cuando los tratamientos cuarentenarios individuales no demuestran por sí mismos una eficiencia en la mortalidad de la plaga o la dosis o tiempo de exposición es tan alto que afecta la calidad de los frutos; se buscó la combinación de tratamientos para evitar los problemas mencionados.

Los tratamientos combinados deben basarse en el principio de que cada tratamiento sea aditivo y/o sinérgico, reduciendo la supervivencia de la plaga. El sentido de los tratamientos combinados es reducir tiempo de exposición, daños en los frutos y costos.

Daño en frutos

Lesiones deletéreas pueden aparecer en los frutos tratados en tratamientos combinados como: pérdida anormal de peso, ablandamiento del tejido de la pulpa, descoloramiento de los frutos, y escaldadura de cáscara, lesiones (pitting) del tejido en la superficie, mal sabor en el jugo, cambio de textura en la pulpa y aumento de la descomposición del mismo en el almacenamiento.

Una de las ventajas de este método es que al usar dos tratamientos en forma continua y ambos con dosis o tiempo de exposición muy bajos se evitan los daños en la fruta.

Combinación de Tratamientos

Tratamientos combinados de frío y bromuro de metilo

En Japón se desarrollaron estudios para exportar manzanas a Estados Unidos, las cuales están atacadas por polillas, *Carposina niponensi* y *Conogethes punctiferalis*, plagas que también atacan a otros frutos como durazneros y ciruelas.

Se realizaron estudios sobre el estadio más susceptible de las dos plagas con fumigaciones con Bromuro de Metilo (BM) (2h a 15°C), encontrando que los huevos de dos días eran más resistentes que las larvas. Se comprobó que la dosis necesaria para eliminar el 100% de los huevos de 2 días era de 50 g/m³ con 2 horas a 15 °C, dosis con la que se producían daños químicos en las manzanas, por lo que la fumigación no permitía desarrollar un tratamiento cuarentenario.

Los estudios de susceptibilidad a las bajas temperaturas mostraron que los estadios larvales

eran los más resistentes. La larva invernante del 5° estadio sometida a 1,5 °C por 45 días, no era totalmente eliminada (98,7% mortalidad), comprobándose que era necesario más de 150 días de tratamiento para eliminar el 100%, lo que era impracticable. Por esta razón se pensó en un tratamiento combinado con frío con lo que se mataban los huevos. Con Temperatura de 0,5 °C por 40 días en el primer paso del tratamiento y luego se fumigaba con BM a 38 g/m³ por 2 horas a 15 °C con lo que se eliminaba la larva invernante del 5° estadio. Con este tratamiento se conserva la calidad de las manzanas, lo que no se conseguía en los tratamientos individuales

- Uno de los primeros informes de tratamientos combinados fue el realizado por Moffitt (1971) para la desinfección de la polilla de las manzanas de las variedades Red Delicious y Golden Delicious. Se observaron daños muy severos en frutos cuando se fumigaron con una dosis de bromuro de metilo de 48 y 64 g/m³, produciendo escaldaduras, acentuación de magulladuras, y aceleraron la descomposición en el almacenamiento en los frutos por lo que no era un tratamiento aceptable. Por ello estudiaron fumigaciones con 32 g/m³ de bromuro de metilo por 2 horas a una temperatura entre 23,9 – 25,6 °C seguido por un periodo de almacenamiento mínimo de 60 días a 0,6 °C, tratamiento con el cual se logró eliminar la polilla del manzano sin efectar en la calidad de los frutos.

- Tratamiento combinado de bromuro de metilo y tratamiento con frío, para *Anastrepha suspensa* (Loew) en California para duraznos, pelones y ciruelas. El tratamiento consiste en fumigar a una temperatura de 20 °C con Br.M con una dosis de 48 g/m³ durante 2 horas. También se pueden realizar estos tratamientos con temperaturas superiores, y menores tiempos de exposición. Posteriormente el tratamientos en cámaras de frío completa el control de las larvas a – 0,56 °C durante 8,3 días (C. A. Benschoter, 1998).

Tratamientos combinados de inmersión con agua caliente y frío.

- Se infestaron paltas de la variedad Hass artificialmente con estados inmaduros de la mosca de la fruta de Queensland, *Bactrocera tryoni* syn *Dacus tryoni* (Froggatt). El tratamiento consiste en sumergir las paltas durante 3 minutos en agua caliente a una temperatura de 46 °C con 500 ppm de benomyl, luego se procede al secado de la fruta, y se guarda en cámaras de frío a una temperatura de 1,0

$^{\circ}\text{C} \pm 0,2$ $^{\circ}\text{C}$ durante 15,63 días. Con este tratamiento ninguna larva del tercer estadio de $> 200,000$ frutos de palta variedad Hass sobrevivieron hasta la pupación con este tratamiento (A. Jessup, 1994).

- Este mismo método se usó para el control de los huevos de la mosca de la fruta de la papaya, con un tratamiento combinado de inmersión con agua caliente seguido por un tratamiento en frío (Couey et al., 1984) y para el control de estados inmaduros de la mosca del Caribe en pomelos (Gould, 1988).

Tratamientos combinados de aire caliente y frío.

- Los tratamientos combinados de calor y almacenamiento con frío tienen un potencial control para el quinto estadio de la polilla del manzano, *Cydia pomonella* (L.). Se sugiere para el control del quinto estadio larval trabajar con temperaturas de 43, 44, o 45 $^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos, seguido por un almacenamiento en cámaras de frío a una temperatura de 0 a 5 $^{\circ}\text{C}$ durante 28 días. Con la combinación de estos tratamientos aumentó la mortalidad larval comparada con cualquier otro tratamiento realizado en forma separada. La mortalidad aumentó con el incremento de calor y duración de almacenamiento en frío. Los tratamientos de combinados podrían ser eficaces en frutos, como las manzanas y peras que pueden soportar periodo cortos de calor y prolongado almacenamiento en frío.

- Tratamientos cuarentenarios combinados se usan contra la mosca del Caribe, *Anastrepha suspensa* (Loew) exponiendo el producto al agua o aire caliente a una temperatura mayor de 43 $^{\circ}\text{C}$ y luego exponerlos a frío (0 – 2,22 $^{\circ}\text{C}$) (Neven, 1994).

Tratamientos combinados de inmersión con agua fría y aire frío.

- A causa de la mosca del Caribe, *Anastrepha suspensa* (Loew), plaga de la carambola, *Averrhoa carambola* L., o de la Florida son sometidas a un tratamiento cuarentenario de almacenaje en frío antes de ser enviadas a lugares donde esa mosca existe pero tendría posibilidades de sobrevivir. En este estudio, el enfriamiento rápido en agua incrementó la mortalidad de las larvas de la mosca del Caribe en comparación con el enfriamiento pasivo mediante aire frío. La carambolas tratadas con aire frío requirieron un mínimo de 24 h para alcanzar la temperatura de tratamiento de 1,1 $^{\circ}\text{C}$, mientras que las enfriadas con agua requirieron solamente cerca de 45 minutos. La

mortalidad de las larvas en las frutas tratadas con agua fría llegó al Probit 9 en 8 días, cerca de 2/3 del tiempo (13 días) requerido por el mismo nivel de mortalidad de las larvas en las frutas tratadas con aire frío. Esta diferencia de mortalidad es probablemente debida a la rapidez del enfriamiento (Gould y Hennessey, 1997).

Tratamientos combinados de irradiación – frío.

- Se realizaron estudios de frutos de pomelo Marsh infestadas con huevos y larvas de la mosca del caribe, *Anastrepha suspensa* (Loew) fueron sometidas a irradiación de ionización a varias dosificaciones bajas, seguidas por almacenaje frío (1,1 $^{\circ}\text{C}$) por periodos de 0 a 8 días. Los análisis de los datos indicaron que una dosificación de irradiación de 50 gray seguida por 5 días de almacenaje en frío produjo un nivel en exceso de probit 9 (99,9968%) de seguridad cuarentenaria (Von Winderguth y Gould, 1990).

Tratamientos combinados de compresión - fumigaciones de fosfuro de hidrógeno.

- Este tratamiento combinado se realizó para tener la seguridad cuarentenaria en Japón sobre la mosca *Mayetiola destructor* (say) en 6 especies de heno. El tratamiento consiste en colocar el heno en un compresor comercial de 72 a 80 Kg/ cm² durante 7 días, causando una mortalidad del 93 al 97 % en el producto enfardado. Para aumentar esa mayor mortalidad se procedió a fumigar con fosfuro de hidrógeno incrementando la mortalidad de las pupas que sobrevivían a la compresión.

Tratamientos Combinados de fumigación y frío en Argentina

En Argentina se aceptan varios tratamientos combinados de fumigación seguido por frío.

El tiempo que transcurre entre la fumigación y el inicio de la refrigeración no debe exceder las 24 horas; y en el traslado de la fruta deberán tomarse recaudos para evitar la reinfestación. Estos tratamientos están indicados para fruta fresca en: manzana, palta, damasco, cereza, cidra, uva, Kiwi, peló, durazno, pera, ciruela, mandarina y mineola, para moscas de los frutos (*Ceratitis capitata* y *Anastrepha* spp.).

Se consideraron los siguientes tratamientos combinados.

Fumigación			Frío	
Temp °C	Dosis g/m ³	Tiempo hs.	Temp °C	Tiempo Exposición (días)
21	32	2	0,55 a 0,7 ó 3,33 °C – 8,3	4 11
21	32	2,5	1,11– 4,44 ó 5,0– 8,33 ó 8,88– 13,33	4 6 10
21	32	3	6,11– 8,33 ó 8,88– 13,33	3 6

▼ Bibliografía recomendada

Benschoter C. A. 1988. Methyl Bromide Fumigation and Cold Storage as Treatments for California Stone Fruits and Pears Infested with the Caribbean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). J.Econ. Entomol.81(6): 1665-1667

Gould W. (et al. 1997). Mortality of *Anastrepha suspense* (Diptera: Tephritidae) in Carambolas treated with cold water precooling and cold storage. Florida Entomologist 80(1): 79-84

Jessup A. 1994. Quarantine Disinfestation of “Hass” Avocados Against *Bactrocera tryoni* (Diptera: Tephritidae) with a Hot Fungicide Dip Followed by Cold Storage. J.Econ. Entomol.87(1): 127-130

Neven L. G. 1994. Combined Heat Treatments and Cold Storage Effects on Mortality of Fifth-Instar Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae) J.Econ.Entomol.87(5): 1262-1265

Sharp F. (et al.1994). Control of Caribbean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) in Grapefruit by Forced Hot Air and Hydrocooling. J.Econ. Entomol.87(1): 131-133

Sharp F. and Hallman G. Quarantine Treatments for Pests of Food Plan. Westview Press, Inc. 1994. pps 290

Manual de Sistemas
Cuarentenarios para
Plagas Agrícolas
2016

E1

Métodos estadísticos para el análisis probabilístico en procesos cuarentenarios

Luis Manuel Argañaraz

El contenido de este capítulo ha sido provisto por el o los autores arriba mencionado/s. La EEAOC no es responsable de las opiniones aquí vertidas.



ESTACIÓN EXPERIMENTAL
AGROINDUSTRIAL
OBISPO COLOBRES
Tucumán | Argentina

Universidad Nacional de Tucumán
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA
SECRETARÍA DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



Introducción

Uno de los problemas más comunes que se presentan en el desarrollo de un proceso cuarentenario es el análisis de datos para poder inferir si el proceso es lo suficientemente seguro para garantizar la no introducción de plagas cuarentenarias.

Normalmente el análisis de seguridad cuarentenaria se realiza a partir de una muestra la cual es sometida al proceso cuarentenario (ej. tratamientos simples o combinados). La efectividad del proceso debe ser tal que asegure que el nivel de plagas que sobrevive al mismo es muy bajo garantizando, de esta manera, que el riesgo de introducción de plagas sea virtualmente nulo.

El requerimiento de efectividad de un proceso es establecido por el país importador y en la actualidad el nivel de seguridad requerido por la mayoría de los países es el equivalente al Probit 9, es decir, el proceso debe tener una efectividad del 99,9968% en el control de la plaga. Otros países tales como Japón, Australia y Nueva Zelanda son menos exigentes requiriendo un nivel de efectividad del 99,99% para los tratamientos.

En esta sección se expone una recapitulación de algunos de los más importantes métodos de análisis para procedimientos cuarentenarios, destinados a evaluar el riesgo de introducción de plagas a partir de variables tales como el nivel de infestación de las frutas en el área de producción, eficiencia de los tratamientos cuarentenarios y eficiencia de los métodos de inspección de muestras como medida para asegurar bajos niveles de infestación.

Nivel de Seguridad Cuarentenaria: Probit 9

Los procesos cuarentenarios son inherentemente conservadores desde el punto de vista de los riesgos tomados. La mayoría de los países importadores libres de determinadas plagas establecen de facto un nivel de seguridad equivalente al Probit 9, es decir, que en promedio no más de 32 plagas por millón deben sobrevivir después de un proceso o tratamiento cuarentenario (eficacia del 99,9968%). Numerosos autores asumen el nivel Probit 9 como un nivel mínimo necesario para proteger los commodities (Baker, 1939; Couey y Chew, 1986; Cannon, 1998). Suponiendo que el nivel de infestación de la plaga en el país de origen es bajo (debido a las medidas de control) este nivel aseguraría que el riesgo de introducción accidental de una plaga no debería existir.

Fue recomendado inicialmente para frutas tropicales infestadas con moscas de los frutos (Baker, 1939), pero fue adoptado por muchos países para numerosos productos y plagas, numerosos autores afirman que puede establecer en muchos casos niveles de sobreprotección y en otros casos puede no alcanzar los niveles necesarios de protección (Baker *et al.*, 1990; Cannon, 1998; Follett y McQuate, 2001; Powell 2003; Schortmeyer *et al.*, 2011).

Para cumplir con el nivel Probit 9 de seguridad cuarentenaria Couey y Chew (1986) establecen que aproximadamente 93.615 individuos deben ser tratados o sometidos al proceso sin encontrar ningún sobreviviente. Follett y McQuate (2001) difieren de este criterio justificando que número de individuos dependerá del nivel de infestación inicial entre otros factores.

Numerosos autores cuestionan el uso indiscriminado del Probit 9 como nivel de seguridad cuarentenario (Robertson *et al.*, 1992; Landolt *et al.*, 1984; Follett y McQuate, 2001; Follett y Neven, 2005; Powell, 2002; Schortmeyer *et al.*, 2011).

Algunos países (Japón, Australia y Nueva Zelanda) establecen otro nivel de seguridad cuarentenaria, aceptando tratamientos o procedimientos cuarentenarios con eficacia del 99,99%. Para cumplir con este nivel de seguridad estos países exigen pruebas con 30.000 individuos en tres o cuatro repeticiones sin sobrevivientes (Sproul, 1976).

Curvas Dosis-Respuesta: Origen del Probit 9

El aspecto más importante en toxicología es la estimación de la relación entre el estímulo (químico, físico, etc.) al cual se expone un organismo y el consecuente efecto que le produce. Esta relación se conoce como relación dosis-respuesta y constituye una base para la evaluación de riesgos.

En un tratamiento cuarentenario el efecto buscado es la mortalidad del organismo a controlar, las respuestas a este tipo de tratamientos se denominan "binarias" por tener dos posibles resultados (ej. vivo o muerto – éxito o fracaso).

Como proceso natural se observa que en cada sujeto existe un nivel de intensidad por debajo del cual no se produce la respuesta (no muere) y por encima del cual, ocurre (muere), por lo tanto, ese nivel de intensidad es la tolerancia. Si se conociera la tolerancia de cada individuo, se podría construir una distribución de tolerancias en la cual se podría

calcular la proporción de individuos que responde con éxito (muerte) a cada nivel de dosis, usando la probabilidad acumulada correspondiente. Como sólo se dispone de información una fracción de la población, denominada muestra, se puede estimar la relación entre la dosis y las proporciones de éxitos a través de los datos muestrales. Esta relación estímulo (dosis)- mortalidad (respuesta) en general es de tipo sigmoidal.

Las curvas dosis-respuestas fueron usadas por primera vez para el análisis de datos binarios en los llamados bioensayos para la determinación de dosis letales. Para el desarrollo de estas curvas los datos normalmente suelen presentarse como las proporciones o porcentajes de “éxitos” (ej. proporción de insectos muertos a distintas concentraciones de un fumigante).

La obtención de curvas dosis-respuesta se realiza con Modelos Lineales Generalizados, los cuales se caracterizan por transformar una relación dosis-respuesta de tipo no-lineal en una relación lineal a partir de distintas “funciones enlaces”. El objetivo de estos modelos es describir la probabilidad de “éxito”, p_s , como una función de la dosis, x , empleando una función de enlace, g , como se detalla a continuación:

$$g(p_s) = \beta_1 + \beta_2 x$$

En ciertos casos puede existir más de un estímulo (ej. concentración y tiempo de exposición o temperatura y tiempo de exposición) siendo la ecuación general para estos modelos

$$g(p_s) = \beta_1 + \beta_2 x_1 + \beta_3 x_2 + \dots + \beta_n x_{n-1}$$

Los modelos más comunes empleados en los bioensayos son los modelos normit o probit (“probability unit”), logit (o logístico) y complemento log-log (Dobson 1990).

En este modelo probeta la distribución normal es empleada como la distribución de tolerancias de los individuos (Figura 1) y la probabilidad de éxito está dada por la distribución normal acumulada.

La función de enlace en este modelo, conocida como normit, está dada por

$$\text{Probit}(p_s) = \phi(p_s) = \beta_1 + \beta_2 x$$

Donde ϕ es la inversa de la acumulada de la distribución normal estándar $N(0,1)$ para una dada

proporción de éxitos p_s y x representa el nivel de estímulo o dosis.



Figura 1. Distribución de las tolerancias en el modelo probit.

No existe fórmula que pueda ser empleada para calcular el normit de una proporción dada, sino que se obtiene a partir de transformaciones que pueden realizarse con programas estadísticos o empleando la tabla de la distribución normal acumulada, en donde el normit es el valor de z para una determinada proporción o probabilidad. A continuación se detalla algunos ejemplos de la transformación:

proporción (p)	0,01	0,05	0,50	0,975	0,99	0,999968
normit (z)	-2,33	-1,64	0,00	1,96	2,33	4

En la práctica se adiciona una constante 5 al valor de z (normit) para evitar trabajar con valores negativos y se conoce como “probit”, por lo tanto el probit 5 (corresponde a un valor de $z=0$) es aquel con el cual se consigue un 50% de probabilidad de control (se conoce como Dosis Letal 50) y el probit 9 ($z=4$) es el valor con probabilidad 99,9968% de control.

En el caso del modelo logit, la distribución de tolerancias sigue una distribución logística, parecida a la normal pero de colas más pesadas (Figura 2).

La distribución de tolerancias está dada por la función de densidad.

$$f(s) = \frac{\beta_2 \exp(\beta_1 + \beta_2 s)}{[1 + \exp(\beta_1 + \beta_2 s)]^2}$$

La relación entre variables necesaria para estimar la proporción de éxitos para una determinada dosis es

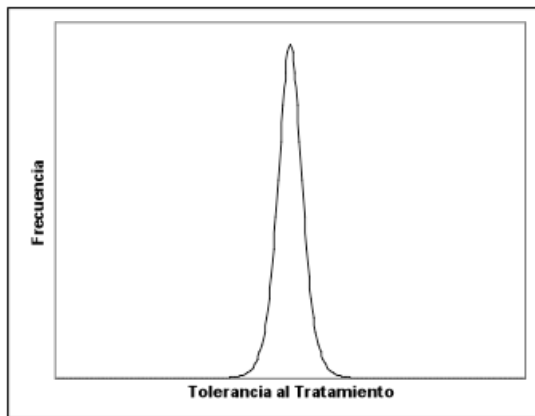


Figura 2. Distribución de las tolerancias en el modelo logit.

La función que linealiza el modelo en los parámetros, conocida como función de enlace es

$$p_s = \frac{\exp(\beta_1 + \beta_2 x)}{1 + \exp(\beta_1 + \beta_2 x)}$$

En el caso del modelo complemento log-log, también conocido como modelo de Gompertz, la distribución de tolerancias sigue una distribución de valor extremo (asimétrica) como se muestra en la figura 3.

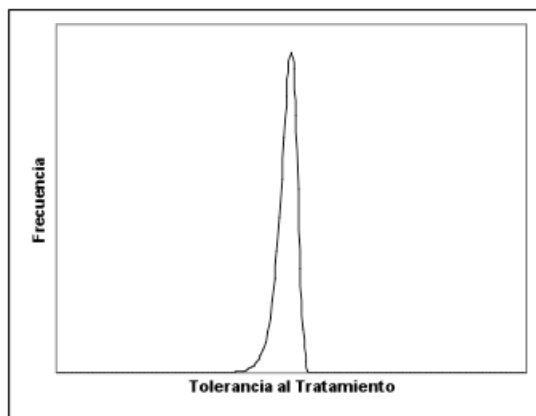


Figura 2. Distribución de las tolerancias en el modelo de Gompertz

La distribución de tolerancias está dada por la función de densidad

$$f(s) = \beta_2 \exp[(\beta_1 + \beta_2 s) - \exp(\beta_1 + \beta_2 s)]$$

La relación entre variables necesaria para estimar la proporción de éxitos para una determinada dosis es

$$p_s = 1 - \exp[-\exp(\beta_1 + \beta_2 x)]$$

La función de enlace que linealiza el modelo en los parámetros es

$$\ln[-\ln(1 - p_s)] = \beta_1 + \beta_2 x$$

Actualmente la estimación de los parámetros puede realizarse empleando alguno de los numerosos programas estadísticos disponibles en el mercado, los cuales se caracterizan por estimar los parámetros por métodos de máxima verosimilitud ("maximum likelihood") o, en programas más convencionales, por métodos de mínimos errores (métodos de X^2 -chi cuadrado- o mínimos cuadrados).

La selección del modelo debe estar en función del modelo que mejor se ajusta a los datos, para ello se emplea en los modelos lineales generalizados distintos estadísticos de bondad ajuste tales como X^2 , R^2 ajustado, $-2\log(\text{lik})$ (menos dos veces el logaritmo de la verosimilitud maximizada), y a través de métodos derivados de teoría de la información, donde el más popular es AIC (Akaike's An Information Criterion) y también se emplea el BIC (Bayesian Information Criterion). El modelo con menor AIC o BIC es el elegido.

AIC = $-2 \log$ (máxima verosimilitud) + $2p$

BIC = $-2 \log$ (máxima verosimilitud) + $\log(n) * p$

Donde

p = número de parámetros estimados.

n = medida adecuada del tamaño de muestra o número de casos.

Baker (1939) fue el primer autor en introducir el concepto del Probit 9 como seguridad requerida para los tratamientos recomendados para productos donde las moscas de los frutos están involucradas, aunque no proporcionó información racional sobre la selección de este nivel como criterio de eficacia más que "asegurar la no sobrevivencia de huevos o larvas (de moscas de los frutos) en los productos tratados". Si bien se estableció para moscas de los frutos sobre frutas tropicales, este nivel de seguridad requerido rápidamente se difundió para otros productos y plagas.

A partir de datos de Mason y McBride (1934) del laboratorio del Departamento en Honolulu, Baker realizó un análisis probit con la finalidad de establecer la duración de tratamientos de frío y calor (con vapor de agua) para asegurar el cumplimiento del nivel de seguridad establecido. Debido a la escasa metodología para el análisis de modelos no lineales en el momento de la realización del trabajo, Baker utilizó una metodología muy simple

en la cual los valores de mortalidad registrados para cada observación fueron transformados a probit y graficados en función del logaritmo de la temperatura, y una línea de regresión fue trazada para seis niveles de temperatura (32°F, 33°F, 34°F, 35°F, 36°F y 110°F). Dicha línea fue empleada para determinar la duración del tratamiento en cada nivel de temperatura en forma independiente, recomendando las siguientes duraciones:

Temp. °F (°C)	Días	Plaga
32 (0.0)	12	<i>C. capitata</i>
33 (0.6)	13	<i>C. capitata</i>
34 (1.1)	14	<i>C. capitata</i>
35 (1.6)	15	<i>C. capitata</i>
35 (1.6)	15	<i>B. cucurbitae</i>
36 (2.2)	16	<i>C. capitata</i>
110 (43.3)	8 horas	<i>C. capitata</i>

Powell (2003) empleó los datos proporcionados por Back y Pemberton (1916) para el desarrollo de un modelo de superficie de respuesta para estimar la sobrevivencia larvas de *C. capitata* bajo tratamiento de frío, considerando seis niveles de temperatura y duraciones variables de tiempo. Para ello empleó tres funciones vínculos de los modelos lineales generalizados: logit, probit y complemento log-log. Cada una fue ajustada con y sin una transformación logarítmica del tiempo y temperatura. Entre los modelos considerados, el modelo basado en los datos no transformados y función de enlace logit fue seleccionado en base a un criterio de bondad de ajuste (mínimo valor de $-2\log(\text{lik})$). La figura 4 presenta el modelo de superficie de respuesta.

Se observa que aunque la temperatura fue encontrada estadísticamente significativa, el modelo

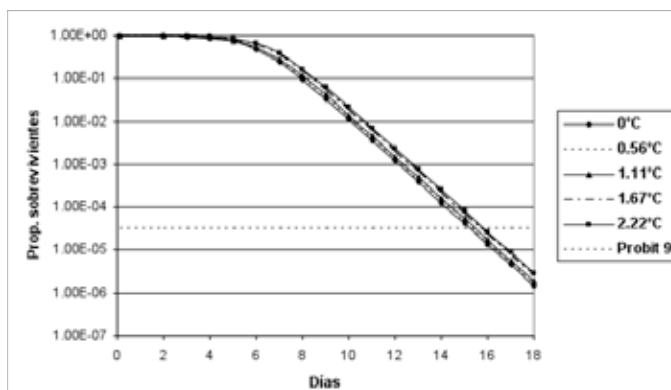


Figura 4. Superficie de respuesta del modelo desarrollado por Powell (2003). La proporción de sobrevivientes se muestra en escala logarítmica.

sugiere que dentro de la gama de las condiciones de almacenaje en frío consideradas, un día adicional de conservación en cámara fría puede producir substancialmente más protección que bajando la temperatura del almacenaje en 1°F (0,56°C).

El modelo desarrollado fue contrastado con ensayos de frío desarrollados en diferentes lugares para diferentes frutas para comprobar su consistencia.

A partir de estos resultados, el autor concluye que “para períodos de tratamiento de frío menores a 16 días, los resultados tienden a apoyar la conclusión que el anterior tratamiento programado T107-a alcanza típicamente menos que el nivel probit 9 de seguridad fitosanitaria ($p_s = 3.2 \times 10^{-5}$), así como la conclusión que la duración del tratamiento de frío necesitaría ser aumentada si este nivel de la seguridad debe ser alcanzado (APHIS 2002a)”, estableciendo también que para tratamientos de baja temperatura – corta duración la incertidumbre sobre la seguridad de los tratamientos es más grande sugiriendo que las investigaciones futuras deben centrarse en ellos.

Schortmeyer *et al.* (2011) evaluaron la extrapolación de la relación dosis-respuesta como alternativa a mega-ensayos con gran número de individuos. Si bien reconocen que numerosos autores (Osbrink *et al.* 1987; Su *et al.*, 1989; Barak *et al.* 2005, 2006; Lester *et al.*, 2000; Ren *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2008; Myers *et al.*, 2009; Hoover *et al.* 2010) aplicaron un análisis Probit para evaluar la eficacia de diferentes tratamientos, donde las dosis o niveles de tratamientos para alcanzar eficacia Probit 9 fueron extrapolados de pruebas usando pequeños números de individuos, consideran que este análisis generalmente no conduce a confiar en los reportes finales en las investigaciones publicadas.

Algunos problemas típicos al estimar la mortalidad en las investigaciones publicadas son los siguientes:

1. Falta de evidencia de pruebas pilotos antes de las investigaciones publicadas. Pruebas pilotos son normalmente necesarias para determinar el estadio de vida más tolerante de la plaga objetivo, como también para proporcionar un indicio de los niveles de dosis necesarios para alcanzar efectos interpretables.
2. No existe discusión de como se seleccionó el número de organismos o número de tratamientos, así como también el

posicionamiento de los niveles de dosis.

3. Ninguna discusión de la mortalidad en los controles y como esto afecta el modelado.

4. Ninguna discusión del tipo de distribución seleccionada para el modelado, y de cuán bien los datos obtenidos se ajustan al modelo.

5. Los límites de confianza son reportados a menudo, pero sus implicaciones son pocas veces discutidas en la recomendación de dosis.

6. No existe discusión de cuanto más allá puede ser extrapolado en sentido completo más allá del rango de datos en el conjunto de datos analizados.

En la mayoría de los casos existen niveles de mortalidad de 100% en una o más dosis experimentales generando un uso ineficiente de recursos, ya que mortalidades del 0% o 100% no proveen información útil para los modelos dosis-respuesta.

También informan que a partir de los análisis publicados sobre las relaciones dosis-respuestas, en numerosas veces los intervalos de confianza obtenidos, en torno a la estimación Probit 9, resultan tan grandes como el valor predicho. Esto es resultado de los datos disponibles, pobre ajuste de los datos al modelo, o pequeño rango de dosis acompañado de extrapolaciones distantes.

Tamaño de Muestra

Tradicionalmente la efectividad de un proceso cuarentenario es probada a partir de una muestra sometida a dicho proceso. El tamaño de esta muestra nos permitirá estimar, con cierta confianza, la efectividad alcanzada por el tratamiento ó, desde otro punto de vista, se podrá estimar el nivel o grado de confianza con el cual se alcanza la efectividad requerida para que el tratamiento sea aceptado por el país importador. Mientras mayor sea el tamaño de muestra, mayor será la confianza de que el tratamiento alcance el nivel de seguridad deseado.

Couey y Chew (1986) y Kuno (1991) relacionan el tamaño de muestra con la confianza de que el tratamiento alcance el nivel de seguridad deseado.

Couey y Chew proponen una metodología simple, empleando fórmulas y tablas, con el objeto de estimar el límite superior para la proporción real de sobrevivientes (p), es decir, la máxima proporción de

sobrevivientes esperada, basándose en el número de sobrevivientes (s) y el tamaño de muestra (n) en experimentos cuarentenarios. De la misma manera proponen una fórmula para calcular el nivel confianza (C) de que el tratamiento cumple con el nivel de seguridad requerido (Ej. Probit 9) y el tamaño de muestra necesario si s sobrevivientes son encontrados en el experimento.

En una investigación cuarentenaria el objetivo es garantizar, con alto valor de confianza (C), que la proporción real máxima de sobrevivientes (p) de una cierta población (n) sometida a un tratamiento cuarentenario es pequeña, siendo igual o inferior al nivel de seguridad requerida (Ej. \leq Probit 9). La fórmula general propuesta por dichos autores que conecta n , s , C y p es la siguiente:

$$\sum \frac{n!}{s!(n-s)!} p^s (1-p)^{n-s} = 1 - C \quad (1)$$

Esta ecuación se presenta difícil de resolver excepto en el caso para $s = 0$, en donde la ecuación se simplifica a lo siguiente:

$$C = 1 - (1 - p)^n \quad (2)$$

La cual puede ser reescrita en términos para calcular n y p :

$$n = \frac{\log(1 - C)}{\log(1 - p)} \quad (2a)$$

$$p = 1 - (1 - C)^{1/n} \quad (2b)$$

La ecuación 2 puede ser empleada fácilmente cuando no se encuentran sobrevivientes en un determinado tratamiento cuarentenario. En el caso de la Ecuación 2a, la misma puede ser empleada para determinar el tamaño de muestra (número de individuos) que deben ser sometidos a un tratamiento sin encontrar sobrevivientes para que el mismo cumpla con una proporción máxima de sobrevivientes p , a un nivel de confianza C ; mientras que la ecuación 2b nos permite determinar cual es la proporción máxima de sobrevivientes esperada para un determinado nivel de confianza C en un tratamiento cuarentenario en el cual no se observó ningún sobreviviente en n insectos sometidos a tal tratamiento. Veamos el siguiente ejemplo:

El protocolo de tratamiento de frío para moscas de los frutos aceptado por Japón establece que 30.000 larvas del estadio más resistente deben ser

tratadas a una determinada temperatura y durante un tiempo establecido para que el mismo sea aprobado como tratamiento regulador. Si $n=30.000$ larvas son tratadas sin encontrarse sobrevivientes, ¿cual es la proporción real máxima de sobrevivientes esperada? De la ecuación 2b tenemos que el límite superior de la proporción real de sobrevivientes (proporción máxima de sobrevivientes), para una confianza de 95% ($C=0,95$) es la siguiente:

$$p = 1 - (1 - 0,95)^{1/30.000} = 0,00009986$$

$$p \approx 0,0001$$

La proporción real de sobrevivientes esperada como máximo a partir del tamaño de muestra establecido es aproximadamente 0,0001 o 0,01%. Con esto podemos determinar que la eficiencia requerida por Japón en los tratamientos de frío es de un 99,99% de mortandad.

¿Qué confianza se tiene de que este protocolo cumple con un Nivel de Seguridad Probit 9 ($p=0,000032$)? De la ecuación 2:

$$C = 1 - (1 - 0,000032)^{30000} = 0,6171$$

Se puede concluir sólo con una confianza de 61,71% que este tratamiento cumple con el nivel de seguridad Probit 9. Para poder aumentar la confianza se necesita aumentar el tamaño de muestra, ¿Cuánto sería un aumento suficiente? De la ecuación 2a:

$$n = \frac{\log(1 - 0,95)}{\log(1 - 0,000032)} = 93.615,13$$

$$n \approx 93.615$$

Para poder cumplir con el nivel de seguridad Probit 9 con un 95% de confianza, 93.615 insectos deberían ser tratados sin encontrar ningún sobreviviente, entonces debemos tratar un adicional de 63.615 insectos sin encontrar sobrevivientes con el objetivo de aumentar la confianza de 61,71% a 95% para la afirmación " $p \leq 0.000032$ (Probit 9)".

Para el caso de $s > 0$ (existen sobrevivientes en el tratamiento) en la ecuación 1 se presentan difíciles cálculos matemáticos, por lo que Couey y Chew proponen un método más simple basado en el uso de una tabla de donde se obtiene un valor de $m (=np)$ a partir de los valores de C y s . Dada tres variables de

C , s , n y p , la Tabla 1 puede ser usada para obtener la cuarta variable.

Por ejemplo: suponiendo que se encuentra $s = 1$ sobreviviente en $n = 70.000$ insectos tratados ¿Cuál es la proporción real máxima de sobrevivientes esperada (p)? Para una confianza de 95% ($C = 0,95$) y $s = 1$ el valor de m extraído de tabla es 4,74 entonces:

$$m = np \rightarrow p = \frac{m}{n} = \frac{4,74}{70.000}$$

$$p = 0,000068$$

Tabla 1. Valores de $m (=np)^*$

	Nivel de Confianza (C)									
S	0.25	0.50	0.75	0.900	0.950	0.975	0.990	0.995	0.999	
0	0.29	0.69	1.39	2.30	3.00	3.69	4.61	5.30	6.91	
1	0.96	1.68	2.69	3.89	4.74	5.57	6.64	7.43	9.23	
2	1.73	2.67	3.92	5.32	6.30	7.22	8.41	9.27	11.23	
3	2.54	3.67	5.11	6.68	7.75	8.77	10.05	10.08	13.06	
4	3.37	4.67	6.27	7.99	9.15	10.24	11.60	12.59	14.79	
5	4.22	5.67	7.42	9.27	10.51	11.67	13.11	14.15	16.45	
6	5.08	6.67	8.56	10.53	11.84	13.06	14.57	15.66	18.06	
7	5.96	7.67	9.68	11.77	13.15	14.42	16.00	17.13	19.63	
8	6.84	8.67	10.80	12.99	14.43	15.76	17.40	18.58	21.16	
9	7.73	9.67	11.91	14.21	15.71	17.08	18.78	20.00	22.66	
10	8.62	10.67	13.02	15.41	16.96	18.39	20.14	21.40	24.13	
11	9.52	11.67	14.12	16.60	18.21	19.68	21.49	22.78	25.59	
12	10.42	12.67	15.22	17.78	19.44	20.96	22.82	24.14	27.03	
13	11.33	13.67	16.31	18.96	20.67	22.23	24.14	25.50	28.45	
14	12.24	14.67	17.40	20.13	21.89	23.49	25.45	26.84	29.85	
15	13.15	15.67	18.49	21.29	23.10	24.74	26.74	28.16	31.24	
16	14.07	16.67	19.57	22.45	24.30	25.98	28.03	29.48	32.62	
17	14.99	17.67	20.65	23.61	25.50	27.22	29.31	30.79	33.99	
18	15.91	18.67	21.73	24.76	26.69	28.45	30.58	32.09	35.05	
19	16.83	19.67	22.81	25.90	27.88	29.67	31.85	33.38	36.70	
20	17.76	20.67	23.88	27.05	29.06	30.89	33.10	34.67	38.04	

*El trabajo original muestra una tabla con valores de s hasta 50.

También se puede obtener con el uso de esta tabla los valores de C para determinados valores de p obteniendo el valor de m e interpolando en caso de ser necesario. Por ejemplo, ¿que confianza se tiene que en el caso anterior se cumple con $p \leq 0,000032$?

$$m = 70.000 \times 0,000032 = 2,24$$

Para $s = 1$ el valor de $m = 2,24$ en tabla se encuentra entre los valores de 0,50 y 0,75 de C , por interpolación $C = 0,6386$ (este valor es aproximativo, por desarrollo de la ecuación 1 se obtiene $C = 0,6551$).

Powell (2003) muestra la relación entre el nivel de confianza alcanzado para una seguridad Probit 9, en

El nivel de confianza normalmente requerido es de 0,95 o 95%

función del tamaño de muestra del ensayo cuando no se registran sobrevivientes (Figura 5). Este autor propone métodos estadísticos Bayesianos para el análisis de los ensayos de frío, los cuales pueden ser una herramienta alternativa a la realización de mega-ensayos (que resultan ser una limitante para la iniciación de investigaciones correspondientes).

Figura 5. Relación entre tamaño de la muestra y confianza del probit 9

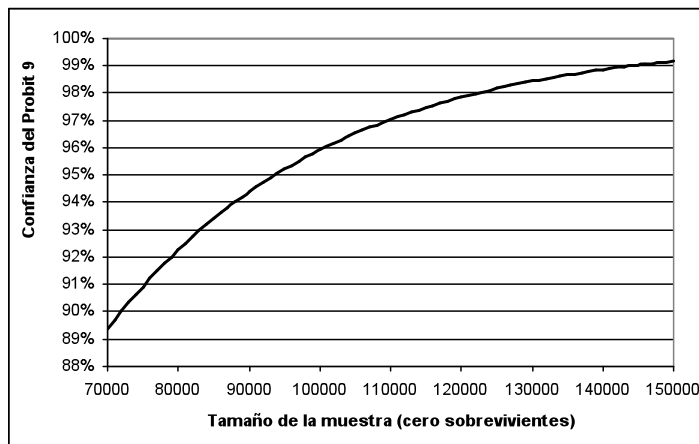


Figura 5. Relación entre tamaño de la muestra y confianza del probit 9.

Kuno (1991) propone un método de cálculo del tamaño de muestra para una prueba secuencial basada en la sucesión de muestras libres de plagas para verificar cero-infestación en control de plagas, el cual se adapta perfectamente a tratamientos cuarentenarios. Asigna el término n_0 al tamaño de muestra crítico o longitud crítica en la cual no debe encontrarse muestras infestadas o, en este caso, insectos sobrevivientes para aceptar la hipótesis que la población o los sobrevivientes son virtualmente cero (o más precisamente p es más bajo que cierto nivel muy bajo p_0).

Así, el tamaño crítico n_0 necesario para aceptar la hipótesis $p \leq p_0$ con probabilidad de error α ($= 1 - C$) esta dado por la ecuación:

$$n_0 = \frac{\log \alpha}{\log (1 - p_0)} \quad (3)$$

A partir de la ecuación (3) para niveles de sobrevivencia de 0,000032 (Probit 9) y 0,0001 (Nivel requerido por Japón) y $\alpha = 0,05$ ($C = 0,95$), se obtienen tamaños requeridos de 93.615 y 29.956 respectivamente. Con este procedimiento se obtiene los mismos resultados que con la ecuación 2 propuesta por Couey y Chew.

Couey y Chew también consideran la posibilidad de la aplicación de dos tratamientos T_1 y T_2 . Se supone que p_1 y p_2 sean las proporciones reales de sobrevivencia desconocidas con p_{1U} y p_{2U} como los límites superiores con $(100.C_1)\%$ y $(100.C_2)\%$, respectivamente. Si se aplican ambos tratamientos la proporción de sobrevivencia general es $p = p_1 \times p_2$ suponiendo la independencia estadística. Esta

suposición implica que un insecto que ha sobrevivido el tratamiento T_1 , tiene la misma probabilidad de sobrevivir el tratamiento T_2 , como un insecto que no ha recibido el pre-tratamiento (T_1). Si el primer tratamiento elimina los insectos débiles (o debilita los insectos sobrevivientes a causa de las condiciones adversas impuestas), entonces un sobreviviente del T_1 tendrá una posibilidad más grande (o más pequeña) de sobrevivir el T_2 que un insecto que no ha sido pre-tratado y lo que sigue no puede ser sostenido.

El límite superior de confianza $(100.C)\%$ para $p = p_1 \times p_2$ se obtiene de la siguiente manera. Ya que $p_1 \leq p_{1U}$ y $p_2 \leq p_{2U}$ implica que $p_1 p_2 \leq p_{1U} p_{2U}$ (pero no inversamente),

$$\begin{aligned} \text{Prob. } (p_1 p_2 \leq p_{1U} p_{2U}) &\geq \text{Prob. } (p_1 \leq p_{1U}) \times \\ \text{Prob. } (p_2 \leq p_{2U}) &\geq C_1 C_2. \end{aligned} \quad (4)$$

La ecuación 4 muestra que el producto de los límites superiores es el límite superior de la proporción de sobrevivencia general de los dos tratamientos independientes con un nivel de confianza $(100.C)\%$ en donde C supera $C_1 C_2$ (en una magnitud desconocida). Este resultado se extiende a tres o más tratamientos independientes.

Por ejemplo, supongamos que en un experimento, el índice de sobrevivencia para el T_1 es $s_1 = 1$ en $n = 1.000$ insectos y para el T_2 el índice de sobrevivencia es $s_2 = 2$ en $n = 1.000$ insectos. De la tabla 1 con $C_1 = C_2 = 0,975$, los límites superiores con 97,5% de confianza para los índices de sobrevivencia reales de los tratamientos T_1 y T_2 son $p_{1U} = m/n = 5,57/1.000 = 0,005570$ y $p_{2U} = 7,22/1.000 = 0,007220$, respectivamente. De la ecuación 8, el nivel de confianza C es más alto que $C_1 \times C_2 = 0,975 \times 0,975 = 0,95$ para el índice general de sobrevivencia $p \leq p_{1U} \times p_{2U} = 0,005570 \times 0,007220 = 0,000040$.

Cuando es necesario determinar el límite de confianza general de una secuencia de operaciones o tratamientos independientes, la tabla 1 y la ecuación 8 proveen una manera fácil de combinar niveles de

confianza y límites superiores. Sin embargo, Buehler (1957) mostró que los límites obtenidos por este método son innecesariamente amplios. Publicó tablas para $C = 0,90$ y $C = 0,95$, la última se reproduce en la tabla 2. Ésta tabla es simétrica en s_1 y s_2 , por lo que los valores observados de s_1 y s_2 pueden ser intercambiados. Para el ejemplo previo con 1 y 2 sobrevivientes con $n_1 = n_2 = 1.000$ insectos cada uno, la tabla 2 provee un límite superior de 95% de confiabilidad para el índice de sobrevivencia real de los tratamientos combinados con $p_U = 15,9/(1.000) (1.000) = 0,000016$. El uso previo de la tabla 1 y la ecuación 8 muestra que el índice de sobrevivencia general es menor que 40 por millón pero a un nivel de confianza más alto que 95%.

Tabla 2. Valores de $(n_1 n_2 p_U)$, donde p_U es el límite superior con 95% C para $p = p_1 \times p_2$

Nº de sobrevivientes para $T_2 (s_2)$	Nº de sobrevivientes para $T_1 (s_1)$					
	0	1	2	3	4	5
0	2.24					
1	2.63	9.92				
2	8.10	15.9	22.1			
3	11.5	20.1	28.4	36.6		
4	12.7	24.5	34.4	44.7	54.7	
5	16.7	30.0	40.3	51.2	63.4	73.7
6	17.1	31.4	46.8	59.4	71.6	85.7
7	22.3	37.4	52.9	67.0	79.6	
8	24.6	40.9	56.0	75.6		
9	24.7	47.2	64.4	81.3		
10	30.0	47.5	67.7			
11	31.4	54.8	75.8			
12	36.6	59.5	81.6			
13	37.5	63.5				
14	40.3	67.0				
15	44.7	73.7				
16	47.2	76.1				
17	47.2	81.3				
18	54.7					
19	54.7					
20	54.8					
21	59.5					
22	63.4					
23	67.0					
24	67.0					
25	73.7					
26	75.6					
27	75.8					
28	79.6					
29	85.7					

Alternativas al uso del Probit 9: Límite Máximo de Plaga

Landolt *et al.* (1984) consideran que el riesgo de introducción de una plaga varía con la infestación inicial. Situaciones de alto riesgo pueden ocurrir con altos niveles de infestación, e innecesarios altos costos de tratamiento pueden producirse con baja infestación pretratamiento.

Un punto más práctico para evaluar el riesgo de una introducción es la probabilidad de que una pareja reproductiva potencial (macho y hembra sexualmente activos y no estériles emergiendo en el mismo lugar durante un tiempo tal que la cópula sea posible) o una hembra grávida consigan atravesar la cuarentena. Los problemas adicionales de supervivencia, alimentación, dispersión, cópula exitosa, y hallazgo de un hospedero son desconocidos pero agregan un alto grado de seguridad fuera de la probabilidad de ocurrencia de una pareja reproductiva.

La probabilidad de que una a más parejas reproductivas potenciales estén presentes en un cargamento depende de la tasa de infestación y el tamaño de cargamento, tal que puede expresarse como

$$P(\text{una o más parejas}) = \sum_{X=1}^{X=\infty} \frac{e^{-NR} \cdot (NR)^X}{X!} \cdot (1 - 0,5^{X-1}) \quad (5)$$

Donde N es el total de frutas en un cargamento y R es la tasa de infestación (promedio de larvas por fruta), asumiendo que la distribución de las larvas por frutos puede expresarse mediante un distribución Poisson. Así, por ejemplo, con un cargamento de $N = 36.000$ frutas y una tasa de infestación de una larva cada 10.000 frutas ($R = 0,0001$), la ecuación (5) resulta en 0,697; mientras que con tasas de infestación de 1 larva por cada 100.000 frutas ($R = 0,00001$) y 1 larva por cada 1.000.000 ($R = 0,000001$) la probabilidad de que una más parejas reproductivas estén presentes en un cargamento se reduce a 0,027 y 0,0003 respectivamente.

Vail *et al.* (1993) reducen la ecuación (5) para estimar la probabilidad de introducción de una pareja reproductora (considerando que una sola pareja es suficiente para la introducción) sobreviviente a un cargamento, expresando la misma como

$$P = (1 - e^{-NR/2})^2 \quad (6)$$

Donde N es el número de frutas por cargamento y R surge del producto de la probabilidad de infestación

por fruta (número de frutas infestadas en el total de frutas), el promedio de larvas por fruta infestada y la eficiencia del tratamiento.

Baker *et al.* (1990) propusieron otra alternativa al empleo indiscriminado del Probit 9 introduciendo el concepto de “Límite Máximo de Plaga” (MPL = Maximun Pest Limit) al cual definieron como “el número máximo de moscas de los frutos inmaduras que pueden estar presente en cargamentos importados durante un tiempo especificado y una localidad especificada”. El concepto de MPL puede emplearse en cualquier plaga. El MPL es, básicamente, es una extensión del trabajo de Landolt *et al.* (1984) con la adición de los conceptos de tamaño de cargamento, prevalencia de la plaga y eficacia del tratamiento para el cálculo de seguridad cuarentenaria. También se incorpora la consideración de los factores de mortalidad natural de una plaga al momento de fijar el número de individuos que pueden sobrevivir un proceso cuarentenario.

En un ejemplo puntual de empleo del MPL, los autores establecen que una larva de mosca de los frutos debe vivir al menos 2-3 semanas antes de emerger como adulto, y para el caso de *Bactrocera tryoni* se observó una tasa de mortalidad natural del 20% por semana para sus estados inmaduros. Asumiendo que esa es la tasa de mortalidad natural para todas las moscas de los frutos indican que, en la situación donde una fruta infestada con tres larvas vivas es apartada a un sitio adecuado, factores de mortalidad natural (predadores, enfermedades, microclimas adversos) deben asegurar que menos de dos individuos emerjan después de tres semanas, asumiendo bajo ciertos supuestos que un Límite Máximo de Plagas de tres larvas por día llegando a puerto deberían garantizar el no establecimiento. Yamamura y Katsumata (1999) consideran que estos argumentos no son exactamente correctos. Otros autores proponen el uso de valores inferiores de límite máximo de plaga para la valoración de riesgos (Mangan *et al.*, 1997; Cannon, 1998). Schortmeyer *et al.* (2011) consideran que el enfoque del Límite Máximo de Plaga provee una vía efectiva de conectar la biología de una plaga con el desarrollo de tratamientos cuarentenarios.

Asumiendo que el número promedio de larvas por fruta infestada (μ) y la eficiencia del tratamiento poscosecha (ϕ) son conocidos, el máximo nivel de infestación pretratamiento (p) debe ser determinado tal que m plagas en un cargamento de N frutas no deben ser excedidas con probabilidad $\sqrt{\alpha}$. Esto es, se requiere p tal que

$$\sum_{r=0}^m \frac{(\mu \cdot \phi \cdot N \cdot p)^r}{r!} e^{(-\mu \cdot \phi \cdot N \cdot p)} = \sqrt{\alpha} \quad (7)$$

A partir de la ecuación 7 se puede determinar p tal que el número máximo de plaga (por ej. $m=3$) no sea excedido con una confianza α (generalmente 0,95 o 95%) para un determinado número N de frutas hospederas arribando al puerto durante un tiempo determinado tal que la cópula sea posible (Baker *et al.* asumen este período de tiempo como un día). Para este caso ($m=3$; $\alpha=0.95$) la ecuación derivada de (7) resulta

$$e^{(-\mu \cdot \phi \cdot N \cdot p)} + \mu \cdot \phi \cdot N \cdot p \cdot e^{(-\mu \cdot \phi \cdot N \cdot p)} + \frac{(\mu \cdot \phi \cdot N \cdot p)^2}{2} e^{(-\mu \cdot \phi \cdot N \cdot p)} + \frac{(\mu \cdot \phi \cdot N \cdot p)^3}{6} e^{(-\mu \cdot \phi \cdot N \cdot p)} = \sqrt{0,95} \quad (8)$$

A partir de (8), fijados los valores de μ , ϕ y N (se obtiene de registros) puede estimarse p , ya sea por métodos iterativos o actualmente puede emplearse programas matemáticos.

Una vez determinado el máximo nivel de infestación p tal que no se exceda m , el tamaño de muestra mínimo requerido para detectar niveles de infestación mayores que p con probabilidad $\sqrt{\alpha}$ deben determinarse para realizar el muestreo previo tratamiento. Si alguna fruta infestada es detectada, el máximo nivel de infestación ha sido excedido y el cargamento se rechaza, ya que esto indica que el número de plagas en el cargamento de N frutas resulta mayor que m , es decir, el límite máximo de plaga fue excedido. El tamaño mínimo requerido (n) se obtiene también a partir de la ecuación (7) y calcula como

$$1 - e^{(-n \cdot p)} = \sqrt{\alpha} \quad (9)$$

A partir de (9) despejando n se obtiene

$$n = \frac{-Ln(-\sqrt{\alpha} + 1)}{p} \quad (10)$$

Un ejemplo puede calcularse a partir de los datos proporcionados por Baker *et al.* para *Bactrocera tryoni* en donde $\mu = 12$ y el número máximo de hospederas arribando en un mismo día es 53.100 ($N = 53.100$). Si consideramos que se aplica un tratamiento con efectividad del probit 9 entonces a partir de 8 se obtiene un valor de $p = 0,0537$, es

decir, el máximo nivel de infestación pretratamiento tolerable es aproximadamente de 5,37%.

A partir de p , se obtiene el valor de n

$$n = \frac{-Ln \left(-\sqrt{0,95} + 1 \right)}{0,0537} = 67,7 \approx 68$$

Es decir, 68 frutas deberían ser revisadas antes del tratamiento sin encontrar infestación, de otra manera el cargamento es rechazado.

Mangan *et al.* (1997) proponen la misma metodología de análisis pero en este caso para estimar el nivel de eficiencia mínimo del tratamiento post-cosecha (ϕ) conociendo el nivel de infestación a campo (p) y el promedio de larvas por fruta infestada (μ) a partir de datos recolectados.

Para los casos abarcados en esta sección resulta importante definir que se considera como “cargamento”. Para cumplir con el nivel de seguridad cuarentenaria, tanto para el concepto de pareja reproductiva potencial (Landolt *et al.* (1984) y Vail *et al.* (1993)) como para el Límite Máximo de Plagas (Baker *et al.* (1990)), el tamaño del cargamento aporta un peso importante siendo exponencialmente proporcional al riesgo de introducción de una plaga. Considerando esto, dentro cualquier evaluación de riesgos, se torna importante definir este parámetro.

El tamaño del cargamento podría definirse en función de la cantidad de frutas, mercaderías (commodities) u otros hospederos que puedan arribar, en un período de tiempo definido, a un lugar o región establecida (por ejemplo un puerto, mercado o ciudad), tal que al arribar o emerger los individuos de la plaga en cuestión puedan encontrarse, aparearse y formar una nueva población.

Baker *et al.* (1990) establecen, indirectamente, que el tamaño del cargamento considerado debería ser el total de hospederos arribando a un puerto durante el mismo día. Si bien este criterio es fundado en el caso del peor escenario “todos los hospederos de la plaga en cuestión arribando al mismo lugar en el mismo día”, no contempla la realidad de que muchos de los hospederos arriban en contenedores cerrados (disminuyendo la probabilidad de encuentro entre individuos de diferentes contenedores), que muchos hospederos son rápidamente transportados a mercados de destino dentro del mismo día sin llegar a coexistir en puerto con otros hospederos que arriban en el mismo día, y que, a los fines de los

cálculos, no todos los hospederos presentan igual probabilidad de infestación ni la misma media de individuos por hospedero infestado.

Schortmeyer *et al.* (2011) se refieren al cálculo de un límite máximo de plaga, para el caso de peor escenario, como posible método para establecer la eficiencia requerida de un tratamiento para una plaga específica y establecen, a modo de ejemplo, que cada contenedor representa un cargamento diferente.

En todos estos casos, adicionalmente se debería analizar si el lugar de arribo de los cargamentos presenta condiciones ambientales y hospederos tales que permitan el establecimiento de la plaga. Esto puede contribuir a un incremento de la seguridad de no establecimiento/introducción de una plaga.

Estimación de la Probabilidad de Introducción de Plagas a través de Commodities Importados

Yamamura y Katsumata (1999) discuten estimar la probabilidad de introducir una plaga como medida de valoración del riesgo para garantizar la seguridad cuarentenaria.

Establecen que la probabilidad de una introducción exitosa depende de dos características biológicas de la plaga: el modo de reproducción y la distribución espacial del insecto en el hospedero. Plagas con reproducción bisexual son generalmente menos propensas a ser introducidas comparadas con plagas partenogénicas debido a que estas pueden no producir individuos reproductores si su densidad es demasiado baja como para encontrar parejas. Sin embargo, si la distribución de los adultos es gregaria, plagas bisexuales también se reproducen tan fácilmente como las plagas partenogénicas ya que estas pueden encontrar parejas fácilmente. La distribución espacial de los adultos es ampliamente influenciada por la distribución de las larvas en el hospedero. Larvas de plagas tales como las moscas de los frutos habitan gregariamente una fruta infestada (plagas gregarias). Larvas de otras plagas tales como la polilla de la manzana generalmente habitan en forma solitaria una fruta infestada (plagas solitarias).

Como la probabilidad de introducción es mayor en plagas gregarias que en plagas solitarias, se establece que es preferible discutir la probabilidad de introducción para cada una de las siguientes cuatro categorías: (1) plagas gregarias bisexuales; (2) plagas solitarias bisexuales; (3) plagas gregarias partenogénicas; y (4) plagas solitarias partenogénicas.

No obstante, se calcula únicamente la probabilidad de introducción para cada cargamento. Varios cargamentos están involucrados actualmente en cada comercio o transacción, y por lo tanto la probabilidad debe ser evaluada tal que incluya todos los cargamentos transitando por el puerto.

Dos prácticas cuarentenarias son actualmente empleadas para prevenir la invasión de plagas: una es el tratamiento de desinfestación antes de exportar y otra es la inspección de cargamentos por muestreos. Estas prácticas requieren considerables costos, y de aquí es que se debe estimar cuantitativamente su efectividad para determinar la intensidad óptima de las mismas.

Estos autores proveen ecuaciones para predecir el efecto de las prácticas de prevención y las mismas son aplicadas a los datos de la Mosca Mejicana de los Frutos, *Anastrepha ludens* proporcionados por Mangan *et al.* (1997).

Asunciones del Modelo

1. La proporción de frutas que contienen una o más larvas vivas (frutas infestadas) varía dependiendo del área de producción y el año. Una distribución Gamma puede describir aproximadamente la distribución de probabilidad de la proporción de frutas infestadas en el área de producción de un determinado cargamento.

2. El número de larvas vivas en una fruta infestada se puede describir aproximadamente por una distribución logarítmica que es independiente de la proporción de frutas infestadas.

3. La relación de sexos es constante.

4. Cada cargamento contiene frutas que son extraídas al azar desde la población infinita del área de producción.

5. Un tratamiento de desinfestación es realizado antes de exportar. Cada larva es aniquilada con una probabilidad constante.

6. Una inspección de una muestra es realizada antes del tratamiento de desinfestación. La muestra es extraída al azar de cada cargamento.

7. Si la muestra contiene una o más larvas vivas el cargamento es descartado. De otra forma, el cargamento es despachado.

8. Las larvas en el cargamento emergen como adultos durante el transporte.

9. Una hembra emergida siempre copula exitosamente si uno o más machos adultos existen en el mismo cargamento.

Considerando las asunciones del modelo, las ecuaciones para calcular la probabilidad de introducción de plagas que se derivan son las siguientes:

Plagas gregarias bisexuales

$$\Pr(H_i \geq 1) = \left(1 - \frac{an_i}{b} \ln\left(\frac{1-\beta}{1-(1-p)\beta}\right)\right)^{-a} + \left(1 - \frac{as_i}{b} \ln\left(\frac{1-\beta}{1-(1-p)\beta}\right)\right)^{-a} - \left(1 - \frac{an_i}{b} \ln\left(\frac{1-\beta}{1-(1-p)\beta}\right) + \frac{a(n_i - s_i)}{b} \ln\left(\frac{1-(1-p)(1-f)\beta}{1-(1-p)\beta}\right)\right)^{-a} - \left(1 - \frac{an_i}{b} \ln\left(\frac{1-\beta}{1-(1-p)\beta}\right) + \frac{a(n_i - s_i)}{b} \ln\left(\frac{1-(1-p)f\beta}{1-(1-p)\beta}\right)\right)^{-a}$$

Plagas solitarias bisexuales

$$\Pr(H_i \geq 1) = \left(1 + \frac{pn_i}{b}\right)^{-a} + \left(1 + \frac{ps_i}{b}\right)^{-a} - \left(1 + \frac{p(fn_i + s_i - fs)}{b}\right)^{-a} - \left(1 + \frac{p(n_i - fn_i + fs)}{b}\right)^{-a}$$

Plagas gregarias partenogénicas

$$\Pr(H_i \geq 1) = \left(1 - \frac{as_i}{b} \ln\left(\frac{1-\beta}{1-(1-p)\beta}\right)\right)^{-a} - \left(1 - \frac{an_i}{b} \ln\left(\frac{1-\beta}{1-(1-p)\beta}\right)\right)^{-a}$$

Plagas solitarias partenogénicas

$$\Pr(H_i \geq 1) = \left(1 + \frac{ps_i}{b}\right)^{-a} - \left(1 + \frac{pn_i}{b}\right)^{-a}$$

Donde:

H_i = número de hembras reproductivas en el i ésimo cargamento.

n_i = número de frutas en el i ésimo cargamento

p = la probabilidad de sobrevivir después de un tratamiento de desinfestación.

s_i = número de frutas muestreadas del i ésimo cargamento antes del tratamiento de desinfestación.

f = probabilidad de que un individuo sea hembra.

a = parámetro de forma de la distribución de probabilidad de la proporción de frutas infestadas (asumida como una distribución gamma).
 b = parámetro de escala de la distribución de probabilidad de la proporción de frutas infestadas (asumida como una distribución gamma).
 β = parámetro de la distribución de probabilidad del número de larvas vivas en una fruta infestada.

Para describir la distribución de probabilidad de la proporción de frutas infestadas una distribución beta es generalmente mas adecuada, debido a que es suficientemente flexible en describir varias formas de distribución aunque la estimación de sus parámetros puede ser muy difícil y trabajosa. Yamamura y Sugimoto (1995) sugieren que una distribución beta es aproximadamente descrita por una distribución gamma si la proporción de frutas infestadas es pequeña y proporcionan un apéndice que posee formulas para obtener las estimaciones de a y b a través de métodos de estimación por máxima verosimilitud y por momentos.

Se puede obtener la estimación por máxima verosimilitud de β derivado del hallazgo iterativamente de β que satisface la siguiente ecuación, considerando la probabilidad condicional de Q'_i para un dado U'_i

$$\frac{\sum Q'_i}{\sum U'_i} = - \frac{\beta}{(1 - \beta) \ln(1 - \beta)}$$

Como ejemplo Yamamura y Katsumata aplican estas ecuaciones a los datos recolectados por Mangan *et al.* (1997) (excepto para datos muy sesgados de pomelos recogidos del suelo), en donde entre otros parámetros biológicos, incluye la proporción de frutas infestadas y en número de individuos por fruta infestada bajo varios escenarios de manejos de plagas para mangos y cítricos en regiones de Méjico que se encuentran infestadas con mosca mejicana de los frutos. A partir de los datos se estima por métodos de máxima verosimilitud $a = 0,523$; $b = 5,42$ y $\beta = 0,924$.

Considerándose $f = 0,5$ y $n_i = 100.000$ para todos los cargamentos, para simplificar, y aplicando la ecuación propuesta para plagas gregarias bisexuales, y asumiendo que no se realiza inspección de muestras ($si = 0$), se obtiene la figura 6 la cual muestra la eficiencia del tratamiento de desinfestación

para mosca mejicana de los frutos, calculando la probabilidad de introducción por cargamento.

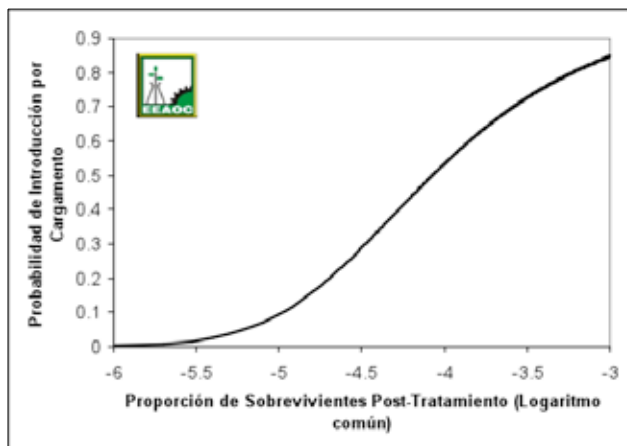


Figura 6. Reducción de la probabilidad de introducción por cargamento para tratamientos de desinfestación para mosca mejicana de los frutos. Log (Probit 9) = -4.5

La figura 7 indica la eficiencia de la inspección de muestras para disminuir la probabilidad de introducción de mosca mejicana de los frutos considerando que se aplicó un tratamiento de efectividad probit 9 ($p = 32 \times 10^{-6}$).

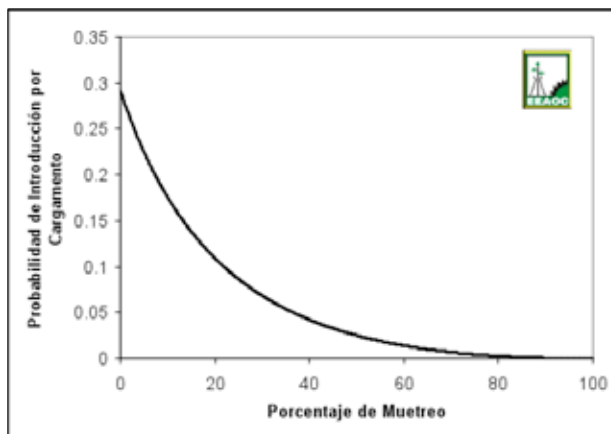


Figura 7. Reducción de la probabilidad de introducción por cargamento por inspecciones de muestras de la mosca mejicana de los frutos. Tratamiento de mortalidad probit 9 se considera aplicado.

Finalmente en la figura 8 se muestra la probabilidad de introducción en función de la intensidad de ambas prácticas cuarentenarias. Si el tamaño de los cargamentos se considera constante, se puede obtener la probabilidad de introducción multiplicando el valor de la curva por el número total de cargamentos importados. Por lo tanto, si se quiere mantener una probabilidad de introducción por debajo de 0,01 (10^{-2}), cuando el número total de cargamentos arribando es de 100 (10^2), por ejemplo,

se debe mantener la probabilidad de introducción por cargamento por debajo de $10^{-2}/10^2=10^{-4}$. La combinación del tratamiento de desinfestación y el muestreo de inspección para alcanzar esta probabilidad se puede obtener usando la curva de 10^{-4} en la figura 8.

La Figura 8 indica la existencia de efectos antagónicos entre el tratamiento de desinfestación y el subsiguiente muestreo de inspección, ya que por ejemplo, para mantener una probabilidad de introducción de 10^{-2} , si el tratamiento tiene una efectividad de 0.01 (10^{-2}) y esta se incrementa a 0.0001 (10^{-4}) el porcentaje de muestreo también debería incrementarse para mantener constante dicha probabilidad, sin embargo para mantener una probabilidad muy baja de introducción, por ejemplo 10^{-8} , este incremento de efectividad en el tratamiento no aumenta ni disminuye el la intensidad del muestreo.

Cannon (1998) señala la misma interacción para

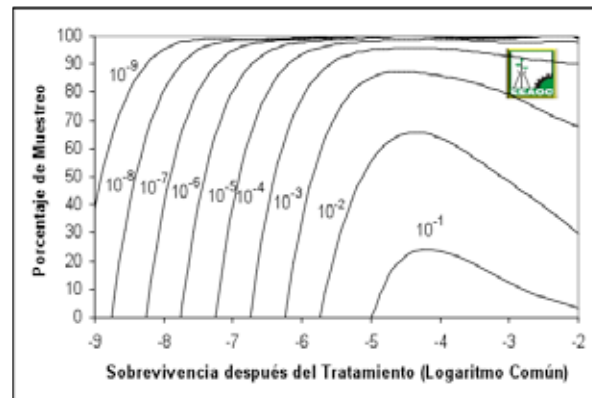


Figura 8. Contornos de la probabilidad de introducción por cargamento para mosca mejicana de los frutos expresada como función de la intensidad de muestreo y la efectividad del tratamiento. Los contornos indican la combinación del porcentaje de muestreo y la eficiencia del tratamiento para alcanzar una dada probabilidad de introducción.

muestreos dirigidos a determinar si la proporción de frutas infestadas es tal que no supera un determinado valor para que se cumpla el límite máximo de plaga.

Bibliografía recomendada

Back, E. A. and C. E. Pemberton. 1916. Effect of cold-storage temperatures upon the Mediterranean fruit fly. *Journal of Agricultural Research* 5: 657-666.

Baker, A.C. 1939. The basis for treatment of products where fruit flies are involved as a condition for entry into the United States. U.S. Dep. Agric., Cir. No. 551.

Cannon, R. M. 1998. Sampling to comply with a maximum pest limit. *Biometrics* 54: 847-858.

Couey, H.M., Chew V. 1986. Confidence limits and sample size in quarantine research. *J. Econ. Entomol.* 79:887-90.

Dobson, A. J. 1990. An Introduction to Generalized Linear Models. London: Chapman and Hall.

Follett, .P.A, Neven, L.G. 2006. Current trends in quarantine entomology. *Annu. Rev. Entomol.* 2006. 51:359-85.

Follett, .P.A, McQuate, G.T. 2001. Accelerated development of quarantine treatments for insects

on poor hosts. *J. Econ.Entomol.* 94:1005-11

Kuno, E. 1991. Verifying zero-infestation in pest control: a simple sequential test based on the succession of zero-samples. *Res. Popul. Ecol.* 33: 29-32.

Landolt, P.J., Chambers, D.L., Chew V. 1984. Alternative to the use of probit 9 mortality as a criterion for quarantine treatments of fruit fly (Diptera: Tephritidae) infested fruit. *J. Econ. Entomol.* 77: 285-87.

Mangan, R.L., Frampton E.R., Thomas, D.B., Moreno, D.S. (1997). Application of the maximum pest limits concept to quarantine security standards for the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) *J. Econ. Entomol.* 90: 1433-1440.

Mason, A. C., and O. C. McBride. 1934. Effect of low temperatures on the Mediterranean fruit fly in infested fruit. *J. Econ. Entomol.* 27: 897-902.

Powell, M.R. 2002. A model for probabilistic assessment of phytosanitary risk reduction measures. *Plant Dis.* 86: 552-557.

Powell, M.R. 2003. Modeling the response of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to cold treatment. *J. Econ. Entomol.* 96:300-10.

Schortemeyer, M., Thomas, K., Haack, R.A., Uzunovic, A., Hoover, K., Simpson, J., Grgurinovic, C.A. (2011) Appropriateness of Probit-9 in the development of quarantine treatments for timber and timber commodities. *J. Econ. Entomol.* 104(3): 717-731.

Sproul, A.N. 1976. Disinfestation of Western Australian Granny Smith apples by cold treatment against the egg and larval stages of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitiscapitata*(Wied.)). *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 16:280-85.

Yamamura, K., Katsumata ,H. (1999). Efficiency of export plant quarantine inspection by using injury marks. *J. Econ. Entomol.* 92: 974-980.

Yamamura, K., Sugimoto, T. (1995). Estimation of the pest prevention ability of the import plant quarantine in Japan. *Biometrics* 51:482- 490.