

MANIPULACION EN LAS APLICACIONES DEL VIRUS CpγV
CONTRA LA PALOMILLA DE LA MANZANA
Cydia pomonella L.

SANTOS ALBERTO ALTON MARTINEZ

TESIS

Presentada Como Requisito Parcial Para Obtener
El Grado de Maestro en Ciencias
En Parasitología Agrícola



UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo. Coahuila, México
Mayo de 2006

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

SUBDIRECCION DE POSGRADO

MANIPULACION EN LAS APLICACIONES DEL VIRUS CpgV
CONTRA LA PALOMILLA DE LA MANZANA
Cydia pomonella L.

TESIS

PRESENTADA POR:

SANTOS ALBERTO ALTON MARTINEZ

Elaborada bajo la supervisión del comité Particular de Asesoría y aprobada
Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRICOLA

COMITE PARTICULAR

Asesor principal

M. C. Víctor Manuel Sánchez Valdez

Asesor

Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez

Asesor

Dr. Gabriel Gallegos Morales

Asesor

Dr. Sergio René Sánchez Peña

Asesor

M. C. Félix de Jesús Sánchez Pérez

Dr. Jerónimo Landeros Flores
Subdirector de postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila; México Mayo del 2006.

AGRADECIMIENTOS

A MIS PADRES

Al Sr. Moisés Carlos Alton Barrios y a la Sra. Alba Nelly Martínez de Alton por su apoyo y confianza incondicional.

A LA UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Por haberme brindado la oportunidad de permanecer durante mi estancia como estudiante y vivir experiencias que siempre llevare presente.

AL COMITÉ DE ASESORES

Con un especial reconocimiento al M. C. Víctor Manuel Sánchez Valdez, Al Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez, Dr. Gabriel Gallegos Morales, Dr. Sergio Sánchez Peña, M. C. Félix de Jesús Sánchez Pérez por brindarme su confianza apoyo en la realización de esta investigación y la oportunidad de trabajar con ellos.

Al M. C. Víctor Manuel Sánchez Valdez por sus comentarios y apoyo tan valioso para la realización de este trabajo y el tiempo que dispuso durante el desarrollo del mismo.

Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez, por su amistad y tiempo que dispuso en este trabajo.

Al Dr. Gabriel Gallegos Morales por sus comentarios recomendaciones y tiempo invertidos en la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Sergio Sánchez Peña por su tiempo y paciencia en la elaboración de este trabajo.

Al M. C. Félix de Jesús Sánchez Pérez por el tiempo y paciencia que dispuso en la elaboración de este trabajo.

M. C. Ernesto Cerna Chávez por su apoyo incondicional en mi formación como profesionista.

DEDICATORIA

A MIS PARES

Moisés Carlos Alton y Alba Nelly por sus esfuerzos y paciencia que me ayudaron a terminar estas parte de mi formación

A MIS HERMANOS

Juan Carlos Alton Martínez y Miguel Ángel Alton Martínez con mucho cariño

Los problemas no se pueden resolver con el mismo nivel de entendimiento en que estos comenzaron ALBERT EISTEN

COMPENDIO

Manipulación en las aplicaciones del virus CpgV contra la palomilla de la manzana
Cydia pomonella L.

POR

SANTOS ALBERTO ALTON MARTINEZ

MAESTRIA

PARASITOLOGIA AGRICOLA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MAYO DE 2006

M.C. VICTOR MANUEL SANCHEZ VALDEZ

Palabras claves: palomilla de la manzana, virus de la granulosis, Virus CpgV

Resumen

Se realizaron evaluaciones del virus de la granulosis (CpgV) de larvas de *Cydia pomonella* en la región manzanera de Jame, Arteaga, Coahuila. En un primer estudio se evaluó el efecto de tres dosis del virus 150, 300, 600 mL / ha, en árboles de manzano con un testigo absoluto y un tratamiento biológico con *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). Se realizaron 3 aplicaciones consecutivas a intervalos de 10 días a la fronda y frutos, tomando como unidad experimental, un árbol. La primera aplicación se realizó a larvas del primer estadio, al acumular 120 unidades calor (UC), después del pico máximo de vuelos de adultos de *C. pomonella*. En un segundo experimento, se determinó el efecto del virus en mezclas con coadyuvantes (azúcar, nufilm, leche en polvo, aceite vegetal). Un tercer estudio consistió en determinar la frecuencia óptima de aplicaciones del CpgV en dos generaciones de *C. pomonella* con una dosis de 300 mL / ha. En cada estudio la eficiencia se estableció en relación al porcentaje de frutos sanos, observando 100 frutos al azar retirando los frutos dañados. En el primer experimento existió diferencia estadística significativa suficiente ($P \leq 0.05$) para separar los porcentajes de frutos sanos de los tratamientos con *Bt* y el testigo, mientras que en los aplicados con el virus de la granulosis no existe indicios suficientes ($P \leq 0.05$) para considerar como distintos. En el segundo experimento del virus con mezclas de protectores de rayos ultravioleta se observó diferencias marcadas ($P \leq 0.05$) entre el testigo absoluto y los tratamientos con coadyuvantes y el tratamiento químico Azinfos metil, En el tercer experimento existió diferencias estadísticas significativas suficientes ($P \leq 0.05$) para separar los tratamientos aplicados con virus del testigo absoluto.

ABSTRACT

Nanipulation in aplitation the viruses CpgV betuin colding moth *Cydia pomonella* L.

BY

SANTOS ALBERTO ALTON MARTINEZ

MASTER IN SCIENCE

AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MAY 2006

M.C. Vítor Manuel Sánchez Valdez –Advisor

Key words: colding moth, granulosis, viruses CpgV

Evaluation was made of the granulosis virus on *Cydia pomonella* larvae, from the apple growing area of Jame, Arteaga, Coahuila, Mexico. Trials consisted of applying three times, three different levels of the virus (150, 300, and 600 ml/ha) at seven day intervals using an absolute control plot as well as *Bacillus thuringiensis* (Bt) as a control plot. The spray of the virus was directed to the foliage and the fruit of the apple trees taking one tree as an experimental unit. The first application was made at the hatching of the first instar larvae, 120 heat units after the maximum peak flight of adults of *C. pomonella*. The second trial was designed to determine the effect of several mixtures of coadjuvants (sugar, nufilm, powdered milk and vegetable oil) as fixatives and protectors against ultraviolet rays. The applications were made in both experiments at the point of water run off using four replicates for each treatment in a complete random experimental design. In each experimental unit, 100 fruits were observed, and removing the mined fruits by *C. pomonella*, confirming the damage by the pest using a microscope. The information was expressed in percentage of healthy fruits. In the first experiment there was a significant statistical difference ($P = 0.05$) between the treatment with Bt and the control plot. Where the granulosis virus was used, there was no indication ($P = 0.05$) of any statistical difference. There was a remarkable statistical difference ($P = 0.05$) between the treatment with coadjuvants and the two control plots, one where Azinofosmetil was used and the other as an absolute check plot.

INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE CUADROS.....	xi
INDICE DE FIGURAS.....	xiii
INTRODUCCION.....	1
REVISION DE LITERARATURA.....	4
Generalidades del manzano	4
Origen del manzano	4
Descripción morfológica	4
Sistema radicular	4
Hojas	4
Flores	5
Fruto	5
Ciclo de vida del manzano	5
Generalidades de la palomilla de la manzana	6
Ubicación taxonómica	6
Origen	6
Descripción morfológica y hábitos	7
Adulto	7
Hábito del adulto	7
Huevecillos.....	7
Hábitos de oviposición	7

Larva inmaduros neonatos (L1)	8
Hábito larval	8
Desarrollo larval	8
Hábitos de las larvas	8
Larvas diapáusicas	9
Pupa	9
Hábitos de la pupa	9
Ciclo de vida	10
Tácticas de Control	10
Sistema de predicción	10
Disrupción de la cópula.....	12
Control biológico (<i>Trichogramma</i> spp.)	13
Generalidades de los virus	13
Control por baculovirus	13
Clasificación de los (baculovirus)	14
Descripción morfológica	14
Proceso de infección	15
Ciclo multiplicativo	16
Sintomatología de individuos enfermos	17
Propiedades biológicas.	17
El virus.....	18

Efectividad del Virus de la Granulosis en Mezclas con Coadyuvantes

para el Control de <i>Cydia pomonella</i> L: (Lepidoptera: Tortricidae)	20
Abstract.....	20
Resumen.....	21
Introducción.....	23
Materiales y Métodos.....	25
Monitoreo biológico.....	26
Aplicación del virus.....	27
Diseño Experimental.....	27
Resultados y Discusión.....	28
Eficiencia de insecticidas biológicos.....	28
Efecto de coadyuvantes en mezcla con el virus de la granulosis	30
Estudio de número de aplicaciones del granulovirus	33
Conclusiones.....	36
Literatura Citada.....	37
Conclusiones generales.....	40
Literatura Citada.....	41
Apéndice.....	44

INDICE DE CUADROS

CUADRO	PAGINA
2.1 Requerimientos térmicos de <i>Cydia pomonella</i> (García, 1980)....	12
A.1 Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004.....	45

CUADRO	PAGINA
A.2	Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004.....45
A.3	Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004.....46
A.4	Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004.....46
A.5	Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004.....47
A.6	Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004.....47
A.7	Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004.....48
A.8	Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004.....48
A.9	Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones.....49
A.10	Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones.....49
A.11	Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones.....50
A.12	Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones.....50

A.13	Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones.....	51
A.14	Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones.....	51
A.15	Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones.....	52
A.16	Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones.....	52
A.17	Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de <i>C. pomonella</i> L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones.....	53

INDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
2.1	Ciclo de vida del manzano en la Sierra de Arteaga.....	5
2.2	Eventos biológicos estacionales de <i>Cydia pomonella</i> L. y su relación con la fenología del manzano. (Tomado de Sánchez <i>et al.</i> , 2000).....	10

INTRODUCCION

El cultivo del manzano es una de las especies de frutas dulces de mayor distribución a escala mundial, esto es debido fundamentalmente a su facilidad de adaptación a diferentes suelos, por su valor alimenticio y terapéutico, la calidad y diversidad de productos que se obtienen en la industria transformada. Procede de climas templados por lo que es resistente a bajas temperaturas lo que ha permitido cultivarlo a gran escala en todos los países de clima relativamente frío. A nivel nacional el cultivo de la manzana ocupa el cuarto lugar de importancia siendo la principal fuente de trabajo en las áreas cultivadas (FAO, 2001). Los principales estados productores son Chihuahua, con la mayor contribución de fruta con un total de 26,412 ha plantadas, aportando en porcentaje del total nacional un 42, seguido por Durango con 10,870 ha aportando el 17.29, Puebla con 7,354 ha, y 11.7 de la producción nacional; Coahuila con 7,320 ha representando 11.64, Nuevo León con 2,085 ha y un 3.31 lo que en suma estos estados representan el 86 del total nacional en lo que se refiere a la superficie plantada y cosechada. En Coahuila la principal zona productora de manzana corresponde a la Sierra de Arteaga con un 97 % de la producción estatal. (SAGARPA, 2002; SIAP, 2003).

En la Sierra de Arteaga, Coahuila el control de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) se ha basado en la aplicación de químicos, junto con la utilización de un sistema de pronóstico con resultados satisfactorios en cuanto a su efectividad. El uso indiscriminado de insecticidas en aquellos huertos que no manejan un sistema de pronóstico ha repercutido notablemente en el abatimiento de la fauna benéfica en la región. En la actualidad se ha incrementado la demanda de productos orgánicos por lo que se ha originado la búsqueda de nuevas tácticas de control que presenten bajos riesgos para los trabajadores agrícolas y consumidores, y de bajo impacto ambiental: las feromonas y el virus de la granulosis.

La palomilla de la manzana *C. pomonella* es una de las plagas de mayor importancia económica a nivel mundial en el cultivo del manzano causando pérdidas importantes en la cosecha. A nivel regional en la Sierra de Arteaga, Coahuila, el daño en porcentaje varían entre 5 a 20 (Urbina, 1986); en huertos con descuido en sus estrategia de control. En huertos sin manejo, el daño puede alcanzar hasta un 70 % de frutos barrenados en las dos generaciones (Sánchez *et al.*, 2000).

El mercado mundial de los bioinsecticidas en la actualidad es relativamente pequeño, aunque esta creciendo y muchos países están desarrollando marcos legales para su registro y comercialización. En España y algunos países de América Latina han reconocido la importancia de su contribución potencial tanto en la agricultura convencional como en otras formas de agricultura ecológicamente más exigentes. Entre los métodos alternativos que han recibido mayor atención se encuentran el desarrollo de

insecticidas biológicos basados en microorganismos y virus entomopatógenos. Los baculovirus o virus patógenos de insectos, junto con las bacterias y algunos hongos representan a los tres grupos de entomopatógenos que mayor énfasis han recibido para su desarrollo como insecticidas. (Caballero *et al.*, 2001).

Los baculovirus son una parte integral de los ecosistemas y desempeñan un importante papel en la regulación de las poblaciones naturales de insectos, una de sus propiedades insecticidas más importantes es su elevada especificidad. A pesar de que las enfermedades que causan los baculovirus se registraron desde 1527, no fue hasta 1936 cuando se propuso como agente de control de plagas (Benz, 1986). Por lo anterior los objetivos del presente trabajo fueron:

Determinar la efectividad del virus de la granulosis en la palomilla de la manzana.

Estimar el efecto del virus de la granulosis en mezclas con coadyuvantes.

Determinar el número de aplicaciones del virus por generación de la palomilla de la manzana.

REVISION DE LITERATURA

Generalidades del manzano

Origen del manzano.- Los manzanos son sin duda los árboles frutales más antiguos y abundantes cultivados en las zonas templadas del globo. Existe una especie de manzano silvestre que crece en forma natural en las regiones montañosas de Asia Media, la cual podría ser de donde se originó hace 15,000 – 20,000 años las primeras especies cultivadas de manzano. Pertenece a la familia *Rosaceae* y la especie *Pyrus malus* L. (Fábregas, 1980).

Descripción morfológica.- La descripción de este árboles en atención a lo que cita (Sánchez *et al.*, 2000) alcanza como máximo 10 m de altura y tiene una copa globosa, tronco erecto que normalmente alcanza de 2 a 2,5 m de altura, con corteza cubierta de lenticelas, lisa, adherida, de color ceniciento verdoso sobre los ramas y escamosa y gris parda sobre las partes viejas del árbol. Tiene una vida de 60 a 80 años. Las ramas se insertan en ángulo abierto sobre el tallo, de color verde oscuro, a veces tendiendo a negruzco o violáceo. Los brotes jóvenes terminan con frecuencia en una espina

Sistema radicular.- Raíz superficial, menos ramificada que en el peral.

Hojas.- Ovais, cortamente acuminadas, aserradas, con dientes obtusos, blandas, con el haz verde claro y tomentosas, de doble longitud que el pecíolo, con 4 a 8 nervaduras alternados y bien desarrollados.

Flores.- Grandes, casi sentadas o cortamente pedunculadas, que se abren unos días antes que las hojas. Son hermafroditas, de color rosa pálido, a veces blanco y en número de 5 a 6 unidades en corimbo. La floración tiene lugar en primavera, generalmente por abril o mayo.

Fruto: Pomo globoso, con pedúnculo corto y numerosas semillas de color pardo brillante, las manzanas más precoces maduran en junio, aunque existen razas que mantienen el fruto durante la mayor parte del invierno e incluso se llegan a recoger en marzo o abril.

Ciclo de vida del manzano

Ciclo de vida de esta planta se representa en la figura 2.1 acorde a lo que señala (Sánchez *et al*, 2000).



Figura 2.1 Ciclo de vida del manzano en la Sierra de Arteaga

Generalidades de la palomilla de la manzana

Ubicación taxonómica

La posición taxonómica de la palomilla de la manzana según Metcalf y Flint (1982) es:

Reino.....Animal
 Phylum.....Artropoda
 Clase.....Insecta
 Orden.....Lepidoptera
 Suborden.....Frenatae
 Superfamilia.....Tortricoidea
 Familia.....Tortricidae
 Género.....*Cydia*
 Especie.....*pomonella* L.

Origen

El origen de *C. pomonella* del manzano está localizado en Asia y Europa. Esta plaga fue introducida de Europa a Norte América aproximadamente en el año de 1775, cuando fue observada en Nueva Inglaterra (Pfadt, 1978). La plaga ha viajado con el cultivo para constituirse como una plaga de distribución mundial por medio de la dispersión ocasionada por el hombre, ya que este insecto no es incapaz de movilizarse a grandes distancias o rebasar barreras geográficas por si mismo (Sánchez *et al.*, 2000).

Descripción morfológica y hábitos

Adulto.- Es una pequeña palomilla cuya longitud varía de 10 a 12 mm de envergadura y 10 mm de longitud. Las alas anteriores son de un gris cenizo, rayadas transversalmente de líneas sinuosas pardas oscuras presentando en sus extremidades una mancha de color marrón característico. Las alas posteriores son de color grisáceo. En esta etapa se tiene completamente desarrollados y funcionales los órganos reproductivos y estructuras relacionadas con el apareo y la oviposición (Porta *et al.*, 1969).

Hábito del adulto.- Durante el día permanece inmóvil sobre los troncos de los árboles o en cualquier lugar sombreado, comenzando su actividad al atardecer y por la noche (Alvarez, 1998).

Huevecillos.- Los huevecillos de la palomilla de la manzana tienen forma de escama, aplastados de un color aperlado blanco o translúcido su diámetro es de 1 mm y se alcanza a apreciar un punto negro, correspondiente a la cápsula cefálica de la larva. Dado su tamaño, color, forma, y su distribución en la fronda del árbol, resulta difícil detectarlos por lo que su presencia pasa desapercibida. (Sánchez *et al.*, 2000).

Hábitos de oviposición.- Cada hembra fecundada es capaz de ovipositar de 70 a 120 huevecillos en forma individual, que coloca cerca de un racimo de frutos, en el haz de las hojas, en ramillas o sobre un fruto. (Jackson, 1982; Newcomer, 1974).

Larva inmaduros neonatos (L1): tienen una longitud que no sobrepasa el 1 mm, su coloración generalmente es de color crema hialina o blanco marfil, presentado la cápsula cefálica un color marrón oscura o negra. Presentan escudo protorácico que también es negruzco. Carece de peine anal y las patas falsas abdominales van provistas de pequeños ganchos en números variable de 15 a 25.

Hábito larval.- Recién emergida la larva L1 inicia un proceso de búsqueda de frutos donde alimentarse, y al encontrarlo busca un punto por donde penetrar, esto puede ser por diferentes partes de la manzana como el cáliz de la manzana, o en áreas en el que dos frutos se tocan o en el que una hoja que está en contacto con el fruto; aunque, otras penetran por la parte descubierta del fruto. Durante este proceso la larva se ve obligada a vagar por la superficie foliar durante un periodo de 12 a 48 h en las cuales está completamente expuesta a enemigos naturales, radiación, lluvia, etc. Es precisamente este el momento oportuno para ejercer acciones de control.

Desarrollo larval. La larva completamente desarrollada es de 1 cm de longitud con un tono rosado, con la cápsula cefálica de color negro a café, con el cuerpo cilíndrico, patas torácicas y larvas patas abdominales (Metcalf y Flint, 1982).

Hábitos de las larvas. La larva es capaz de parasitar frutos que van desde 1 cm de diámetro, hasta frutos a punto de ser cosechados completando su desarrollo de (L1 a L5) dentro de la fruta. Una vez realizada la penetración de la fruta, forma una galería en dirección a las semillas, en el transcurso del túnel va retirando los excrementos y parte

de la pulpa hacia la parte exterior del fruto. Al exterior se forma un pequeño tapón de excretas observándose como una especie de grumos de color ladrillo a marrón parecido al aserrín, después de completar su desarrollo abandona el fruto dañado (Jackson, 1982).

Larvas diapáusicas.- Las larvas en desarrollo obedecen a un reloj biológico de 13 h luz y 11 h oscuridad (Fotoperiodo crítico), que les indica que los días se acortan (Fotofase) y que el invierno está próximo. El insecto es inducido a entrar en diapausa como estrategia adaptativa, lo que le permite sobrevivir bajo condiciones desfavorables de frío y ausencia de alimento. La diapausa sigue un curso predecible y sincronizado con el reposo invernal del manzano, por lo que la conclusión de ambos fenómenos ocurre al inicio de la primavera. Durante la primera quincena de marzo las larvas invernantes L5 cambian a pupa, evento conocido como rompimiento de la diapausa, el cual coincide con los estadios fenológicos de punta plateada y punta verde en las yemas del manzano e indica el arranque del ciclo biológico, una vez terminado el reposo invernal (Sánchez *et al.*, 2000)

Pupa.- La pupa mide de 10 a 13 mm de largo, siendo su coloración variable, de color café claro y se torna más oscura cuando está próxima a emerger como adulto. La pupa de color café oscuro, tipo exareta y en la cubierta del puparium se puede observar las placas alares y la segmentación del cuerpo (Pfadt, 1978).

Hábitos de la pupa.- Se mantiene dentro del capullo de seda y en su interior se genera una serie de cambios morfológicos para dar origen a una palomilla alada.

Ciclo de vida

A continuación en la figura 2.2 se presenta el esquema del ciclo de vida de este insecto con relación al ciclo de vida del manzano.

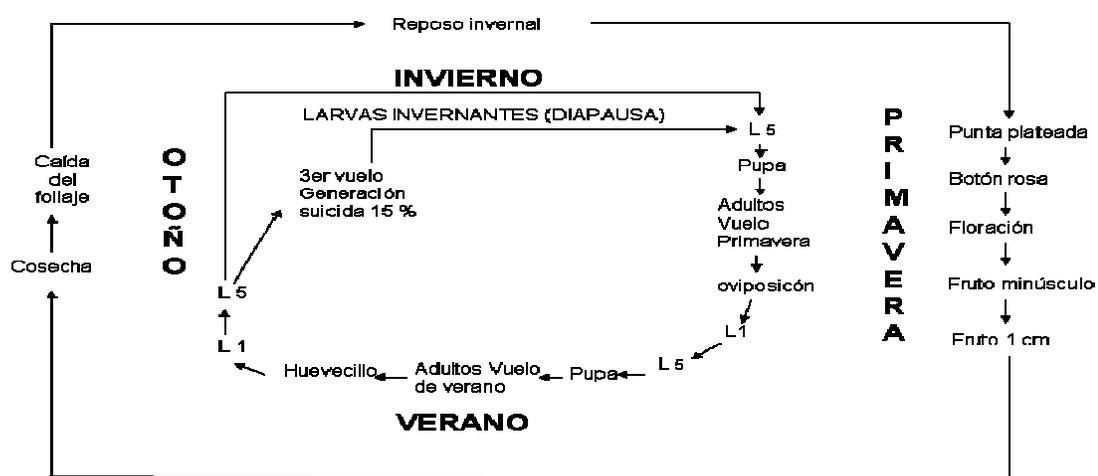


Figura 2.2 Eventos biológicos estacionales de *Cydia pomonella* L. y su relación con la fenología del manzano. (Tomado de Sánchez *et al.*, 2000)

Tácticas de Control

Sistema de predicción. Este modelo opera con los datos del monitoreo biológico y climático, para predecir el tiempo óptimo de aplicar medidas de control. El sistema de predicción pronostica la fecha en que nacerán al menos el 80 por ciento de las L1 la aspersión de insecticidas debe realizarse antes de que las larvas penetren al fruto, lo cual se alcanza a las 120 unidades calor (UC), después del vuelo pico (15 a 25 días). Para lograr este objetivo, se toma como referencia el vuelo pico de adultos (Biofix) en las

generaciones de primavera y verano por lo que es indispensable la instalación de trampas con feromona sexual (Monitoreo biológico). Además, este sistema incluye un monitoreo climático que consiste en registrar a diario la temperatura máxima y mínima, para luego transformarla a UC, lo cual permite establecer el avance del ciclo biológico en un tiempo dado. (Sánchez *et al.*, 2000) se entiende por UC cuando se acumula un grado centígrado por encima del umbral de temperatura inferior por un periodo de 24 h.

El periodo transcurrido entre la emergencia de adulto al inicio de la oviposición se puede predecir contabilizando 50 UC, a partir del vuelo pico de los adultos, el periodo de la oviposición hasta la eclosión de las larvas del primer estadio se puede pronosticar al obtener 70 UC. Una vez que el huevecillo ha sido incubado eclosiona como larva de primer estadio L1, este evento que es predecible al acumularse $(50 + 70) = 120$ UC, el desarrollo larval, esta etapa de la biología del insecto comprende desde que la larva del primer estadio encuentra un sitio de penetración hasta que completa su desarrollo y abandonar el fruto dañado (L1 a L5). Su duración es de 160 UC. El último estadio de desarrollo de la palomilla de la manzana consiste en la pupa que consiste de L5 a emergencia de adulto donde se puede ser observado a las 210 UC. Teniendo un ciclo completo de la palomilla de la manzana con 490 UC. (Cuadro 2.1)

Cuadro 2.1 Requerimientos térmicos de *Cydia pomonella* (García, 1980).

Etapa	Estadios Involucrados	Unidades
Calor		
Preoviposición	De emergencia del adulto al inicio de la oviposición	50 UC
Incubación	De la oviposición a eclosión de L1	70 UC
Desarrollo larval	De L1 a larvas desarrolladas L5	160 UC
Pupa	De L5 a emergencia de adulto	210 UC
Ciclo completo	De adulto a adulto	490 UC

Disrupción de la cópula.

Es un método novedoso en el control de la palomilla de la manzana que consiste en saturar el ambiente del huerto con numerosos rastros de feromonas sexuales sintéticas que interfieran la comunicación y encuentro entre el macho y la hembra al colocar 200 a 300 emisores de feromona por hectárea (Figura 3), los machos son atraídos en dirección de la fuente de feromona, pero en su trayecto encuentra nuevos rastros que los distraen y confunden en su búsqueda de la hembra. Dando el número de emisores colocados a la población de hembras, se establece un juego aleatorio, en el cual es más probable que el macho siga el rastro equivocado y tengan encuentros infructuosos con los dispensadores, finalmente el macho agota su energía, abandona la búsqueda y muere de 6 a 8 días después, la función de las trampas para la captura de adultos se requieren para comprobar el funcionamiento de las feromonas las cuales no deben de tener ninguna captura.

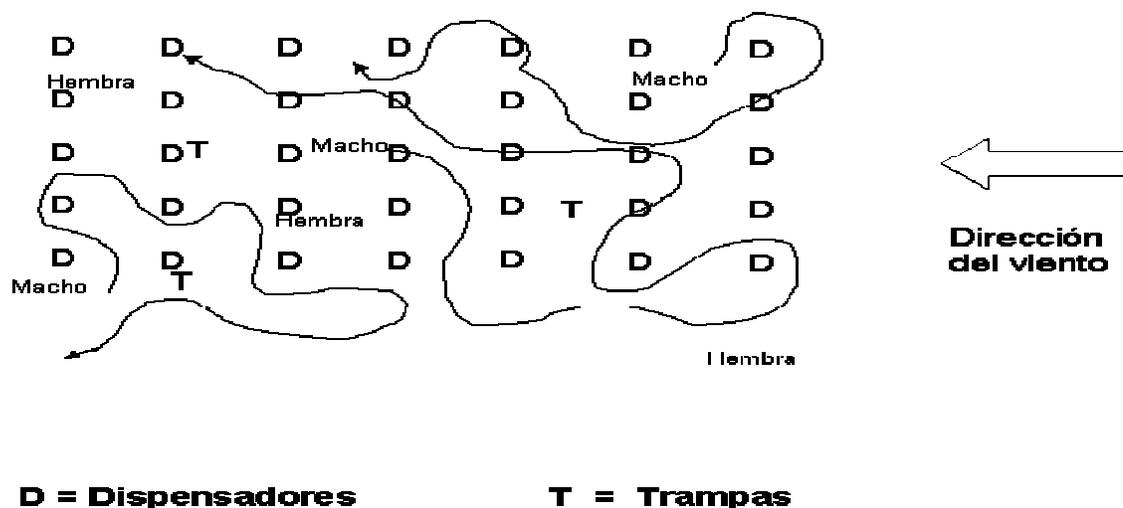


Figura 2.3 Representación esquemática del proceso de la confusión de la cópula en la palomilla de la manzana.

Control biológico (*Trichogramma* spp.)

Una de las herramientas que está tomando fuerza dentro de las estrategias de manejo integrado de la palomilla de la manzana es el control biológico, que consiste en la liberación de enemigos naturales durante cada generación de la plaga, para reducir sus poblaciones. Entre sus ventajas, el control biológico permite que la fauna benéfica nativa se restablezca e impide el desarrollo de plagas resistentes a insecticidas. Los enemigos naturales más utilizados en México son diversas especies de *Trichogramma* como; *Trichogramma minutum* Riley y *T. praetiosum* Riley. Son diminutas avispidas de 0.5 mm de longitud, de color amarillo y ojos rojos. Ovipositan dentro de los huevecillos de la palomilla de la manzana, donde se desarrolla su estado larval y pupa hasta emerger nuevamente como avispa. El parasitismo ocasiona que los huevecillos no cumplan su desarrollo, lo que evita el nacimiento de las larvas de primer estadio, y reduce a su vez

el daño en los frutos. Aunque el *Trichogramma* es diminuto, puede buscar plagas a distancias considerables. En cultivos muy infectados, puede buscar huevecillos en una extensión de 100 m². En áreas de poca infestación, puede extender su superficie de búsqueda a 800 m². (Sánchez *et al.*, 2000).

Generalidades de los virus

Control por baculovirus

Los baculovirus comparten muchas características deseables, que los colocan dentro de los entomopatógenos con mayor potencialidad como agente de control; sin embargo, también poseen algunas características que limitan su uso. El éxito y el fracaso de los baculovirus como agentes de control microbiano de plagas se basan en las ventajas y desventajas que éstos presentan. Dentro de las primeras destaca el hecho de que los miembros de la familia Baculoviridae sólo se han encontrado infectando a organismos del phylum Arthropoda, mayoritariamente a los de la clase insecta. Ninguna otra familia de virus presenta esta característica, lo que permite desarrollarlos con un menor número de restricciones de bioseguridad. (Gröner, 1986).

Clasificación de los (baculovirus).- Son un grupo de virus patógenos de artrópodos que deben su nombre a la forma de varilla o bastón (baculum = bastón) de sus viriones. La clasificación actual de la familia Baculoviridae incluye a todos aquellos virus cuyo viriones presentan una estructura en forma de báculo y que además, en un momento determinado del ciclo biológico, son incluidos en matrices de naturaleza proteica o cuerpos de inclusión (Blissard *et al.*, 2000). Esta familia está dividida en dos

géneros Nucleopolyhedrovirus (NPVs) y Granulovirus (GVs). Ambos géneros se diferencian por la morfología forma, tamaño, y estructura de sus cuerpos de inclusión y también en aspectos histopatológicos que son de interés taxonómico y fácil de observar al microscopio compuesto.

Descripción morfológica.- En el género granulovirus los cuerpos de inclusión de las distintas especies suelen ser de tamaño bastante homogéneo, oscilan entre 160 – 300 nm de ancho por 300 – 500 nm de largo y generalmente son de forma granular (icosaedritos). Cada cuerpo de inclusión contiene un solo virión de tipo simple aunque existen algunas excepciones. (Francki *et al.*, 1991).

Proceso de infección.- El ciclo de infección inicia cuando los cuerpos de inclusión son ingeridos por las larvas al alimentarse, continúa con la dispersión de la enfermedad dentro del insecto y finaliza tras la muerte del mismo con la liberación de nuevos cuerpos de inclusión que contienen partículas infectivas.

Durante este ciclo, se produce dos fenotipos de viriones con idéntico genotipo (Blissard y Rohrmann, 1990; Blissard, 1996). Uno de ellos es el responsable de la transmisión horizontal de la enfermedad y por ende, el causante de la infección primaria en el insecto. El otro fenotipo viral, disemina la enfermedad dentro del intestino del insecto, provocando la infección secundaria que dará como resultado final la generación de nuevos cuerpo de inclusión y eventualmente, la muerte de los individuos afectados. El primer fenotipo (occlusion derived virions ODV) lo constituyen los viriones

derivados de los cuerpos de inclusión. Estos cuerpos de inclusión contienen en su matriz una proteína mayoritaria: poliedrina para los NPVs o granulina para los GVs y son los encargados de permitir la persistencia del virus en la naturaleza, protegiéndolo de factores ambientales adversos. En los ODV la envoltura es generada durante el proceso de morfogénesis de los cuerpos de inclusión.

El segundo fenotipo (budded virions BV) o viriones brotados poseen en su envoltura ciertas estructuras y proteínas diferentes a las de los ODV, que juegan una función específica. La envoltura de los BV es adquirida cuando las nucleocápsidas sintetizadas brotan a través de la membrana citoplasmática de la célula infectada. Los viriones maduros poseen en uno de sus extremos estructurales en forma de clavo (Peplómeros) una glicoproteína mayoritaria denominada GP64 EFP, suspendida en ácido AcMNPV, encargada de mediar la unión con la superficie celular (Volkman *et al.*, 1984).

Ciclo multiplicativo

Las larvas ingieren los cuerpos de inclusión al alimentarse, los que pasan al intestino medio donde se disuelven los cuerpos de inclusión y se liberan los viriones, los cuales atraviesan la membrana peritrófica uniéndose por fusión a las microvellosidades del intestino. A partir de este estado, han sido descritas diferentes vías de infección dentro del hospedero donde las nucleocápsides pueden pasar directamente a través de las células atravesando la lámina basal y pasando hacia la hemolinfa. El ciclo inicial de

replicación ocurre en las células columnares del intestino medio y la progenie viral brota hacia los traqueoblastos diseminándose la enfermedad a través del sistema traqueal. Tras la replicación en el núcleo de las células del intestino, los viriones pasan hacia la hemolinfa y posteriormente pasan a la membrana basal de la matriz traqueal. Estos viriones causan la infección secundaria dentro del hospedero. Las partículas virales entran a las células de los tejidos susceptibles por endocitosis, las nucleocápsidas se dirigen hacia el núcleo y allí liberan el ADN, se inicia un nuevo ciclo de replicación que culmina en la formación de nuevos BV y de viriones que se incluyen en los cuerpos de inclusión. Estos se producen en la lisis nuclear y celular. Finalmente se rompe el tegumento larval y quedan liberados los cuerpos de inclusión en el ambiente, que al ser ingeridos por otras larvas al alimentarse iniciarán un nuevo ciclo de infección. (Caballero *et al.*, 2001).

Sintomatología de individuos enfermos.

Los signos y síntomas de infección producida por los granulovirus se hacen evidentes en los estados avanzados de la enfermedad. En general, se observa primeramente un cambio en la coloración de las larvas, debido a la acumulación de cuerpos de inclusión en los tejidos afectados. Estas sintomatologías son más notorias en aquellas especies que presentan una cutícula transparente o levemente pigmentada, tornándose las larvas de color blanquecino o amarillento. Los insectos, exhiben además, una menor movilidad, mayor flacidez, pérdida de apetito y retraso en el desarrollo. En el caso particular de los lepidopteros, se observa que las larvas tienden a alejarse de su

fuelle de alimentaci3n emigrando hacia partes superiores de la planta, d3nde mueren colg3ndose de sus patas posteriores. (Caballero *et al.*, 2001)

Propiedades biol3gicas.

Las distintas caracteristicas bioquimicas o geneticas de los virus, en muchas ocasiones tienen un claro reflejo en sus caracteristicas biol3gicas o de un modo m3s concreto en sus propiedades insecticidas. El conocimiento de tales caracteristicas biol3gicas sobrees todas las relativas a la patogenicidad, virulencia y espectro de hospederos de los aislados del virus es tambi3n una herramienta de gran utilidad para la identificaci3n y clasificaci3n de los baculovirus. (Caballero *et al.*, 2001)

El virus.

El granulovirus de la palomilla de la manzana (CpgV). Aislado en M3xico result3 ser uno de los m3s virulentos baculovirus conocidos, con una DL₅₀ de menos de 5 cuerpos de inclusi3n para larvas L1 y posiblemente tan bajo como 1.2 cuerpos de inclusi3n por larva (Tanada, 1964). El espectro de hu3spedes de este virus esta limitado a otras siete especies de tortr3cidos, aunque 3stas no son habitantes de huertos (Crook, 1991).

Un factor limitante en los trabajos experimentales es la disponibilidad de suficiente cantidad de virus. Las larvas de *C. pomonella* son pequeas y seg3n H3ber (1986) para tratar una huerta t3pica se requieren aproximadamente 10 mil larvas infectadas. En 1980

Sandoz Inc. inicio la producción de un producto experimental llamado SAN 406 I y a pesar de obtener resultados prometedores durante dos años en Europa y los Estados Unidos, esta compañía decidió abandonar todos sus programas de investigación con los virus de insectos; no obstante, la demanda por parte de los productores y el público preocupado por residuos químicos en los alimentos ha animado a diferentes empresas a producir el virus comercialmente, Actualmente en Polonia y Rusia se produce el virus bajo el nombre de Virin-GYaP[®], con una recomendación de una a tres aplicaciones de 9×10^{11} cuerpos de inclusión por hectárea al inicio y al final de la eclosión de los huevos de *C. pomonella* (Lipa, 1998).

Debido al corto intervalo entre eclosión y penetración de la fruta, se recomienda un programa de seguimiento de la presencia de adultos mediante trampas de luz o de feromonas. Realizando aplicaciones sincronizadas con el sistema de predicción através del Biofix han funcionado muy bien. Pruebas en los países bajos (Holanda) con Granusal[®], un producto Alemán producido por Hoecht, ahora llamado Granupom[®] de AgrEvo demostró que el control de esta plaga con el virus es comparable con el obtenido con insecticidas químicos. También fue posible integrar el uso de granulovirus con aplicaciones de fungicidas (Helsen *et al.*, 1992). Ensayos realizados en Italia han confirmados que Granupom[®] y un producto francés llamado Carpovirusine[®] (Calliope, Natural Plant Protection). Fueron tan eficientes como los insecticidas químicos (Pasqualini *et al.*, 1994). En Alemania, con cuatro aplicaciones de alto volumen de 7×10^9 cuerpos de inclusión por litro se obtuvo un 100 % de control (Hüber y Dicker, 1977).

Efectividad del Virus de la Granulosis en Mezclas con Coadyuvantes para el Control de *Cydia pomonella* L: (Lepidoptera: Tortricidae)

Efectivity of Granulosis Virus with Coadyuvantes Mix to Control of *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae)

S. Alberto Alton M, Víctor M. Sánchez Valdez, Eugenio Guerrero Rodríguez, Gabriel Gallegos Morales.

Departamento de Parasitología. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila México C.P. 25315

santosalton@hotmail.com

Félix J Sánchez Pérez

Departamento de estadística y cálculo. UAAAN Buenavista, Saltillo, Coahuila México C.P. 25315

Abstract

Evaluation were made of the granulosis virus on *Cydia pomonella* larvae, from the apple growing area of Jame, Arteaga, Coahuila. Mexico. Trials consisted of applying three times, three different levels of the virus (150, 300, and 600 ml/ha) at seven day intervals and using an absolute control plot as well as *Bacillus thuringiensis* (Bt) as a control plot. The spray of the virus was directed to the foliage and the fruit of the apple trees taking one tree as an experimental unit. The first application was made at the hatching of the first instar larvae. 120 heat units after the maximum peak flight of adults of *C. pomonella*. The second trial was designed to determine the effect of several mixtures of coadjuvants (sugar, nufilm, powdered milk and vegetable oil) as fixatives and protectors against ultraviolet rays. The application were made in both experiments at the point of water run off using four replicates for each treatment in a complete random experimental design. In each experimental unit, 100 fruits were observed, and

removing the mined fruits by *C. pomonella*, confirming the damage by the pest using a microscope. The information was expressed in percentage of healthy fruits. In the first experiment there was a significant statistical difference ($P = 0.05$) between the treatment with Bt and the control plot. Where the granulosis virus was used, there was no indication ($P = 0.05$) of any statistical there was a remarkable statistical difference ($P = 0.05$) between the treatment with coadyuvants and the two control plots, one were Azinofosmetil was used and the other as an absolute check plot.

Key work: *Pyrus malus*, granulosis, viruses CpgV

Resumen

Este se planteo con el objetivo de realizar la evaluación y comportamiento del virus CpgV en la Sierra de Arteaga se realizaron evaluaciones del virus de la granulosis (CpgV) de larvas de *Cydia pomonella* L. en la región manzanera de Jame, Arteaga, Coahuila. En un primer estudio se evaluó el efecto de tres dosis del virus 150, 300, 600 mL / ha, en árboles de manzano con un testigo absoluto y un tratamiento biológico con *Bacillus thuringiensis* (Bt). Se realizaron 3 aplicaciones consecutivas a intervalos de 10 días a la fronda y frutos, tomando como unidad experimental, un árbol. La primera aplicación se realizó a larvas del primer estadio, al acumular 120 unidades calor (UC), después del pico máximo de vuelos de adultos de *C. pomonella*. En un segundo experimento, se determinó el efecto del virus en mezclas con coadyuvantes (azúcar, nufilm, leche en polvo, aceite vegetal). Un tercer estudio consistió en determinar la frecuencia óptima de aplicaciones del CpgV en dos generaciones de *C. pomonella* con una dosis de 300 mL / ha. En cada estudio la eficiencia se estableció en relación al

porcentaje de frutos sanos, observando 100 frutos al azar retirando los frutos dañados. En el primer experimento existió diferencia estadística significativa suficiente ($P \leq 0.05$) para separar los porcentajes de frutos sanos de los tratamientos con *Bt* y el testigo, mientras que en los aplicados con el virus de la granulosis no existe indicios suficientes ($P \leq 0.05$) para considerar como distintos. En el segundo experimento del virus con mezclas de protectores de rayos ultravioleta se observó diferencias marcadas ($P \leq 0.05$) entre el testigo absoluto y los tratamientos con coadyuvantes y el tratamiento químico azinfos metil, En el tercer experimento existió diferencias estadísticas significativas suficientes ($P \leq 0.05$) para separar los tratamientos aplicados con virus del testigo absoluto.

Palabras clave: *Pyrus malus*, granulosis, virus CpgV

Introducción

La palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L. es una de las principales plagas de los cultivos de manzano y peras en el mundo (Cross *et al.*, 1999). En México en la región de Arteaga, Coahuila, esta plaga ocasiona daños en huertas sin manejo de un 20 a 70 % de frutos barrenados y, en huertos con descuido en estrategias de control, su daño oscila entre un 5 y 20 % de frutos barrenados en las dos generaciones que se presentan por año (Sánchez *et al.*, 2000). El uso excesivo de insecticidas sintéticos perjudica a los parasitoides y depredadores que regulan naturalmente las poblaciones de esta plaga creando un desbalance en la fauna benéfica (Clancy y Mc Alister, 1995).

El granulovirus (Familia Baculoviridae) de larvas de *C. pomonella* (CpgV) tiene una alta especificidad que incluye solo acciones siete especies de tortricidos. Se considera que este virus tiene gran potencial como agente de control microbioal de esta plaga (Crook, 1991). La ruta de infección en estos insectos ocurre principalmente con la exposición directa al virus, por vía oral a través de la ingestión de cuerpos de inclusión que contienen las partículas virales (Burges, 1981). Los insectos contaminados por el virus de la granulosis de *C. pomonella* presentan síntomas como falta de apetito, cambios en la coloración del insecto, disminución de las actividades metabólicas, alargamiento de los ciclos de vida, e infecciones avanzadas las cuales causan la muerte del insecto (Alves, 1986).

Algunos factores ambientales que limitan el éxito del virus en el control de larvas de *C. pomonella* son; la radiación solar, principalmente los rayos ultravioleta inferiores a 390 nm, influida por la estación del año, longitud, altitud y condiciones atmosféricas (McLeod *et al.*, 1977). La utilización de coadyuvantes aceite, leche en polvo, azúcar, y

nufilm como fijadores y protectores para alargar la persistencia del virus que facilitan la ingestión y en ocasiones ayudan a mantener la viabilidad del virus (Smith *et al.*, 1978). Uno de los factores limitantes para el control de larvas de *C. pomonella* es el tamaño (1 mm aproximadamente) que resulta difícil de detectarlas a simple vista y el poco tiempo que se encuentra la larva en exposición con las partículas virales por 1 a 14 h antes de penetrar al fruto. Hüber (1986) y Falcón (1975), demostraron la gran patogenicidad de este virus al encontrar que causa la muerte a larvas de *C. pomonella* en un periodo de 5 – 12 días después de la infección. Otros trabajos demuestran que aplicaciones de 1×10^{11} cuerpos de inclusión en árboles de nogales y peras resultan en un grado de control igual al de un insecticida sintético, como el diazinon (Bell, y Kanaval, 1978). Basado en las referencias mencionadas se planteó en este trabajo determinar el efecto de dosis del CpgV, con el uso de coadyuvantes y determinar la influencia de diversos números aplicaciones del virus para el control de larvas de *C. pomonella*.

Materiales y Métodos.

El estudio se realizó en el rancho El Avenal ubicado en la congregación Jamé, municipio de Arteaga, Coahuila, en un lote de manzano de la variedad Golden Delicious de 30 años de edad. Se realizaron tres estudios; el primero experimento consistió en evaluar el virus de la granulosis (Granupon[®]) (Hoechst Schering Agrevo GmbH) para determinar la actividad de dosis en campo partiendo de la dosis recomendada que es de 300 mL / 1000 L de agua con una formulación de cuerpos de inclusión suspendidos de 2.2×10^{13} / L, se aplicaron en tres dosis diferentes del CpgV (150, 300, 600 ml / L), en tres ocasiones en los días 3, 12 y 20 de mayo del 2004, realizándose tres muestreos de postaplicación en las fechas del 12, 20 y 30 de mayo del 2004, se incluyó un tratamiento biológico comercial de *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Xen Tari[®] por Valent BioSciences) a 750 g / 1000 L de agua y un testigo sin aplicación. El segundo experimento consistió en evaluar el efecto de mezclas del virus a 300 mL / ha con los siguientes coadyuvantes; azúcar 4.5 g / L, nufilm 2.5 mL / L, leche en polvo 1.5 g / L, aceite vegetal 4.5 mL / L, realizando una aplicación por generación de la plaga, la primera el 7 de mayo del 2004 a la primera generación y el 7 de agosto del 2004 a la segunda generación. En la primera generación de la palomilla de la manzana se realizaron tres muestreos de postaplicación a los 23, 36, 48 días. Para la segunda generación, se realizaron cinco muestreos de postaplicación en los días; 7, 14, 21, 28, 35 después de la aplicación. Se incluyó el azinfos metil (Bayer[®]) polvo humectable a razón de 1.2 kg en 1000 L de agua como tratamiento químico convencional. El tercer experimento consistió en evaluar el número de aplicaciones del virus en diferentes fechas de aplicaciones a una concentración de 300 mL / 1000 L / ha, con tratamientos

variables a; 7, 10, 15, 21 días, a las 120 UC después de cada vuelo pico, incluyendo un tratamiento sin aplicación, Se realizaron 7 muestreos de postaplicación a los 7, 14, 21, 41, 47, 49 días para la primera generación y para la segunda generación se realizaron 6 muestreos de postaplicación a los 7, 10, 14, 21, 28, 35 días. Para los tres estudios la aspersión de los tratamientos se realizó en la fronda y frutos. Para fines de evaluación del daño, se inspeccionaron visualmente 100 frutos por árbol tomados al azar, los que se cuantificaron y se retiraron solo los frutos dañados para disectarlos en laboratorio y corroborar el ataque del insecto. En la aplicación de los tratamiento dirigidos a larvas del primer estadio (L1) se utilizó un sistema de predicción por UC para estimar el tiempo de eclosión de los huevecillos y la emergencia de dichas larvas a las 120 UC (Sánchez *et al.*, 2000).

Monitoreo biológico

Para determinar el punto de referencia biológica y las fechas de aplicación de los diversos tratamientos se tomó como base la captura de adultos registrando para ello los vuelos máximos, se utilizaron dos trampas de ala Centurion[®] con un cartucho de feromona Biolure[®] colocado en la parte interna superior de la trampa, en la base de la trampa se tenía un pegamento, la lectura de estas trampas fue cada 4 días durante el periodo de primera y segunda generación del 2004 y 2005.

Aplicación del virus

Para la aplicación de los diferentes tratamientos a base del CpgV se utilizó un equipo de aspersión motorizado con capacidad de 25 L. La cantidad de producto para cada uno de los tratamientos se realizó en base a 1,000 L de agua por ha, la aplicación por árbol se realizó a punto de goteo.

Diseño Experimental

En el primer estudio de efectividad del virus de la granulosis de la palomilla de la manzana se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con cinco tratamientos y cinco repeticiones con un total de 25 unidades experimentales cada unidad experimental consistió de dos árboles de manzano variedad Golden Delicious, los datos fueron transformados a la función de $\sqrt{\% + 1}$ y se realizó una prueba de normalidad de Anderson – Darling. Para el análisis de los datos se utilizó un programa estadístico Minitab® 2000 versión 13.20. Contando con los datos de normalidad se realizó el ANOVA y un análisis de comparación de medias por Tukey al ($P \leq 0.05$). En el segundo estudio, se determinó el efecto del virus en mezclas con los coadyuvantes; azúcar, nufilm, leche en polvo, aceite vegetal en los que se realizó una prueba de normalidad por Anderson – Darling, los datos no presentaron normalidad por lo que se utilizó un análisis no paramétrico por Friedman con un diseño experimental de bloques al azar con siete tratamientos y cuatro repeticiones conformando un total de 28 unidades experimentales, tomando un árbol como unidad experimental. El tercer estudio consistió en determinar la frecuencia óptima de aplicaciones del CpgV en dos generaciones de *C. pomonella*, se realizó una prueba de normalidad por Anderson – Darling los datos no

presentaron normalidad por lo cual se analizaron por un análisis no paramétrico por la prueba de Friedman con un diseño experimental de bloques al azar con siete tratamientos y cuatro repeticiones conformando un total de 28 unidades experimentales tomando como unidad experimental un árbol de manzano, las comparaciones de medias en los dos últimos estudios se realizó una prueba de comparación de media por Duunett's.

Resultados y Discusión

Eficiencia de insecticidas biológicos

En el cuadro 1, se muestran los resultados del estudio expresados en porcentajes de frutos sanos, a 9, 20 y 30 días después de la primera aplicación. En el primer muestreo se observó que los niveles de daño fueron bajos en general para los cinco tratamientos; no obstante el testigo absoluto mostró diferencia estadística significativa, presentando este tratamiento un mayor daño en comparación de los tratamientos a base del granulovirus y el tratamiento con *Bt*. Entre los tratamientos a base de granulovirus no se detectaron diferencias entre las dosis aplicadas; si bien, las diferencias que se muestran para el testigo de 1.71 % de daño, es necesario considerar que de acuerdo con Sánchez *et al.*, (2000), que un nivel de daño superior al 1 % rebasa el nivel de daño económico.

En cuanto a los resultados del segundo muestreo realizado a los 20 días después de la primera aplicación el comportamiento fue muy similar detectando diferencias estadísticas significativas del testigo absoluto (94.3 %) y del tratamiento con *Bt* (96.67 %) con respecto a los tratamientos con el virus de la granulosis, los porcentajes de frutos sanos fueron notoriamente mas altos variando de 98.49 a 98.9 %.

En el tercer muestreo realizado a 30 días después de la aplicación se detectó una diferencia estadística significativa entre los tratamientos. El grupo con mayor porcentaje de frutos sanos corresponde a los tratamientos aplicados con el virus de la granulosis con 99 % para las tres dosis evaluadas en campo. El tratamiento con *Bt* presentó 95.2 % de frutos sanos y el nivel más bajo en eficiencia se mostró en el testigo absoluto donde se incrementó el daño, presentando un 89.7 % de frutos sanos. Esto indica que las tres aplicaciones presentan un efecto mayor protección con respecto al testigo y al *Bt*. Lo anterior muestra que el granulovirus es una alternativa efectiva en las dosis evaluadas en campo y con tres aplicaciones se logró proteger una generación completa de *C. pomonella*.

Cuadro 1.- Porcentaje de frutos libres de larvas de *Cydia pomonella* L. en tres fechas de muestreo después de las tres aplicaciones de los tratamientos.

Tratamientos dosis en	Muestreo a días partiendo de la primera aplicación		
	9	20	30
1000 L de agua			
Testigo absoluto	98.3 B	94.3 B	89.7 C
<i>Bacillus thuringiensis</i> 750 g	98.8 A B	96.7 A B	95.2 A B
Granupom 150 mL	99.8 A	98.4 A	99.0 A
Granupom 300 mL	99.9 A	98.9 A	99.5 A
Granupom 600 mL	99.7 A	98.6 A	99.8 A

Tukey al ($P \leq 0.05$)

Efecto de coadyuvantes en mezcla con el virus de la granulosis

Para este segundo presente estudio, se trabajó en campo con la dosis de 300 mL / ha de Granupom[®] en mezclas con coadyuvantes. En el cuadro 2, se presentan los resultados del estudio de la primera generación de la palomilla de la manzana expresados en porcentaje de frutos sanos en tres fechas de muestreo a los 23, 36 48 días después de la aplicación. Los tratamientos con el virus solo y en mezclas con coadyuvantes no mostraron diferencia estadísticas entre si, e incluso son iguales al tratamiento comercial a base de azinfos metil, en cambio el testigo absoluto se comportó con el porcentaje más bajo de frutos sanos (92 %) a los 23 y 36 días después de la aplicación. En último muestreo del 23 de junio no se detectaron diferencias estadísticas suficientes para separar los tratamientos del virus (solo y con coadyuvantes) el azinfos metil y el testigo.

Cuadro 2.- Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de *Cydia pomonella* L. al aplicar al virus de la granulosis solo y en mezcla con coadyuvantes.

Tratamiento	Muestreo a días partiendo de la primera aplicación					
	23		36		48	
Testigo	92	A	92.2	A	96.5	A
Virus solo	96	B	95	B	97.5	A
Virus + azúcar	97.2	B	96.5	B	97.75	A
Virus + nufilm	95.2	B	96.5	B	97.5	A
Virus + leche en polvo	98	B	97.2	B	97.2	A
Virus + aceite vegetal	96.2	B	98.2	B	98.7	A
Azinfos metil	96	B	95.7	B	97.5	A

Duunett's ($P \leq 0.05$)

En el cuadro 3 se presenta el efecto de los tratamientos aplicados sobre la segunda generación de la palomilla de la manzana en cinco fechas de muestreo a los 7, 14, 21, 28, 35, después de la aplicación. Como ocurrió en la primera generación en todas las fechas de muestreo, no existe evidencia estadística para separar el efecto de aplicar el virus solo y en mezcla con coadyuvantes, además de existir igualdad estadística con el azinfos metil. En cambio el testigo sin aplicación es diferente al resto de los tratamientos dado que presentó hasta un porcentaje de frutos sanos solo 85.25 %, lo que implica un 15.75 % de frutos barrenados. Lo anterior muestra que los tratamientos con coadyuvantes no obtuvieron el efecto esperado como protectores de los rayos ultravioleta dado que se observó el mismo efecto de protección entre usar el virus solo y

en mezclas con coadyuvantes. Al respecto Pritchett *et al.* (1980) señalan que en campo es variable el efecto que los coadyuvantes pueden expresar sobre la persistencia de los baculovirus y no siempre se mejora la eficiencia del mismo, dependiendo de las condiciones atmosféricas del lugar donde se aplica. Para el caso específico de este experimento se destacan 17 precipitaciones de intensidad variable entre mayo y septiembre que favorecen la efectividad y la dispersión del virus solo o en mezclas con coadyuvantes

No obstante todos los tratamientos con virus solo o con mezcla de coadyuvantes poseen un efecto de control similar al tratamiento regional azinfos metil. A su vez al comparar los resultados del estudio de dosis del CpgV con los datos del estudio con coadyuvantes, se reafirma la efectividad del virus de la granulosis de la palomilla de la manzana a las dosis de 150, 300 y 600 mL / ha. Lo anterior abre la posibilidad de lograr una efectividad aceptable con una sola aplicación siempre y cuando esta se realice en el día en que nacen las L1 a las 120 unidades calor después del vuelo pico de adultos, para la implementación de esta táctica de control es necesario manejar el sistema de predicción por unidades calor.

Cuadro 3.- Porcentaje de fruto libre de larva de *Cydia pomonella* L. segunda generación con la aplicación de el virus de la granulosis con coadyuvantes.

TRATAMIENTOS	Muestreo a días partiendo de la primera aplicación				
	7	14	21	28	35
Testigo	85.2 A	87.2 A	85.2 A	92.2 A	94.7 A
Virus Gp solo	97.2 B	94.7 B	94.5 B	99.5 B	100 B
Virus Gp + azúcar	93.5 B	97.7 B	97.2 B	96.0 B	97.0 B
Virus Gp + nufilm	94.5 B	97.0 B	98.0 B	97.5 B	97.0 B
Virus Gp + leche en polvo	97.7 B	97.0 B	97.2 B	99.0 B	98.0 B
Virus Gp + aceite vegetal	96.7 B	97.5 B	98.2 B	98.2 B	98.0 B
Azinfos metil	94.5 B	96.5 B	97.2 B	96.7 B	97.7 B

Duunett's ($P \leq 0.05$)

Estudio de número de aplicaciones del granulovirus

En el cuadro 4 se presentan los resultados de número de aplicaciones del virus de la granulosis en la primera generación de la palomilla de la manzana los tratamientos con virus CpgV a diferentes intervalos de aplicación no mostraron diferencias estadísticas suficientes para separarlos entre si, mostrando porcentajes de frutos sanos entre un 94.7 % y 100 en los muestreos de los 7, 14, 21, 28 días después de la primera aplicación; en cambio, el testigo sin aplicación mostró diferencia significativa con respecto al resto de los tratamientos aplicados con el virus presentando el nivel más bajo de frutos sanos el cual osciló entre un 90 y 95 % en las cinco fechas de muestreo.

Cuadro 4.- Porcentaje de fruto libre de larvas de *Cydia pomonella* L. primera generación con la aplicación de la frecuencia del virus de la palomilla.

TRATAMIENTOS	Muestreo a días partiendo de la primera aplicación				
	7	14	21	28	35
Cada 7 días	94.7 B	98.7 B	93.5 B	93.5 B	100 B
Cada 10 días	98.0 B	98.2 B	99.5 B	99.2 B	99.7 B
Cada 15 días	98.0 B	98.7 B	99.2 B	99.2 B	100 B
120 UC vuelo pico	95.5 B	99.5 B	99.2 B	99.7 B	100 B
Testigo	93.5 A	95.5 A	91.2 A	92.5 A	90.0 A
1 Aplicación	96.0 B	99.0 B	98.7 B	98.5 B	99.7 B
Cada 21 días	96.2 B	99.2 B	99.5 B	99.7 B	98.7 B

Duunett's ($P \leq 0.05$)

En el cuadro 5 se presenta los resultados de la segunda generación de la palomilla a los 7, 14, 21, 28 días después de la primera aplicación, los que muestran un comportamiento similar a la primera generación donde no existen diferencias entre los tratamientos aplicados por el virus, presentando los porcentajes más altos de frutos sanos que van de un 95 % hasta un 100 %; por su parte, el testigo es diferente estadísticamente al resto de los tratamientos con porcentajes de 89 al 92.5 % frutos sanos comportándose de manera similar a la primera generación. Los resultados de este estudio en sus dos generaciones indican que es más importante una sola aplicación

utilizando el sistema de predicción cuyo nacimiento de larvas de primer estadio que es del 80 %.

Los resultados de los diferentes ensayos muestran un gran potencial para el uso del virus CpgV en la protección de frutos de manzano contra *C. pomonella*, con la posibilidad de usar dosis bajas, sin necesidad de coadyuvantes y con una aplicación oportuna 120 UC por generación eficientando el costo del control.

Cuadro 5.- Porcentaje de fruto libre de larva de *Cydia pomonella* L. segunda generación con la aplicación de la frecuencia del virus de la palomilla.

TRATAMIENTOS aplicación	Muestreo a días partiendo de la primera							
	7		14		21		28	
Cada 7 días	94.7	B	99	B	98.5	B	98.7	B
Cada 10 días	98	B	99	B	99.2	B	99.2	B
Cada 15 días	98	B	99	B	99.7	B	99.7	B
120 UC vuelo pico	95.5	B	97.5	B	98	B	99.5	B
Testigo	89	A	92.5	A	92	A	90	A
1 Aplicación	96	B	96	B	97	B	97.5	B
Cada 21 días	95.2	B	98.7	B	98	B	99	B

Duunett's ($P \leq 0.05$)

Conclusiones

Las dosis de 150, 300, 600, mL / ha de virus de CpgV son igualmente efectivas en la protección de frutos de manzano contra L1 de *C. pomonella*.

No existen diferencias entre usar el virus CpgV solo o en mezcla con coadyuvantes, ofreciendo los mismos niveles de protección a los frutos de manzano

Poseen el mismo efecto de protección de frutos de manzano una sola aplicación del virus CpgV a dosis de 300 ml /ha aplicada a las 120 UC que aplicaciones repetidas a 7, 10, 15, 21 días a la misma dosis. El sistema de predicción por UC es un factor clave en la implementación de esta táctica de control.

En todos tratamientos de los ensayos donde se utilizaron diferentes dosis, coadyuvantes y número de aplicaciones los tratamientos a base del virus de CpgV fueron diferentes al testigo sin aplicación

Se detecta igualdad en el efecto de protección de frutos en los tratamientos a base del virus CpgV en relación al tratamiento comercial usado en la región a base azinfos metil.

Literatura Citada

- Alves B. 1986. Controle microbiana de insectos. Brasil. Manole. 406 p.
- Bell, M. R., and R.f. Kanaval. 1978. Tobacco budworm: development of a spray adjuvant to increase effectiveness of a nuclear polyhedrosis virus. J Econ. Entomol. 71: 350-352
- Burges H. 1981. Microbial control of pest and plant disease 1970 – 1980. Academic Press. London, England 949 p.
- Cook, N.E. 1991. Baculoviridae: subgroup B: comparative aspects of iridescent viruses. In: E. Kurstak (ed), Viruses of invertebrates. Marcel Dekker Inc. New York, USA. p. 73-110

- Cross, J.V., M.G. Salomon, D. Chandler, P.J. Jarrett, P.N. Richardson, D. Winsrtanley, H. Batho, Huber, B. Keller, G.A. Langenbruuch and G. Zimmerman. 1999. Review of biocontrol of pest of apples and pears in northern and central Europe : Microbial agents and nematodes. *Biocontrol Science and Tecchnology* 9: 125 – 149.
- Clancy, D. W. and H.J. McAlister.1956. Selective pesticides as aids to biological control of apple pests *J. Econ. Entomol.* 49: 196 – 202.
- Falcon, L.A. 1975. Patterns of use as they influence virus levels in the environment: chemical controls, biological controls and application methods, In: M. D. Bethesda, M. summer, R.. Engler, L.A. Falco y P. Vail(ed.),*BaculoVirus for Insect Pest control*. EPA- USDA working Symposium, American Socciety for Microbiology, Washinton, DC. p.134 – 137
- Smith, G.E., y M.D. Summer. 1978. Analysis of baculovirus genome with restriction endonucleases. *Virology.* 89: 577 – 527.
- McLeod, P.J., W.C. Young Y S.and. Yearian. 1977. Inactivation of baculovirus heliothis by ultraviolet irradiation dew and temperature *J. Invertebr. Pathol.* 30: 237 – 241.
- Hüber, J. 1986. Use of baculoviruses in pest management programs. In: R.R. Granados and B.A. Federici (ed.), *The biology of baculoviruses*. Vol. 2. CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 181-202.
- Sánchez VVM, Cerda G.P.A, Martínez, D.F. y Landeros F.J. 2000. Manejo integrado de la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L: M anual para productores. 1^a edición. Departamento de Parasitología, UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 31 p.
- Prichet, D.W., S.Y. Young and W.C.Yearrian 1980. Efficacy of baculovirus against field populations of fall webworm, *Hyphantria cunea* (Drury). *J. Georgia Entomol. Sco.* 15: 332-336.

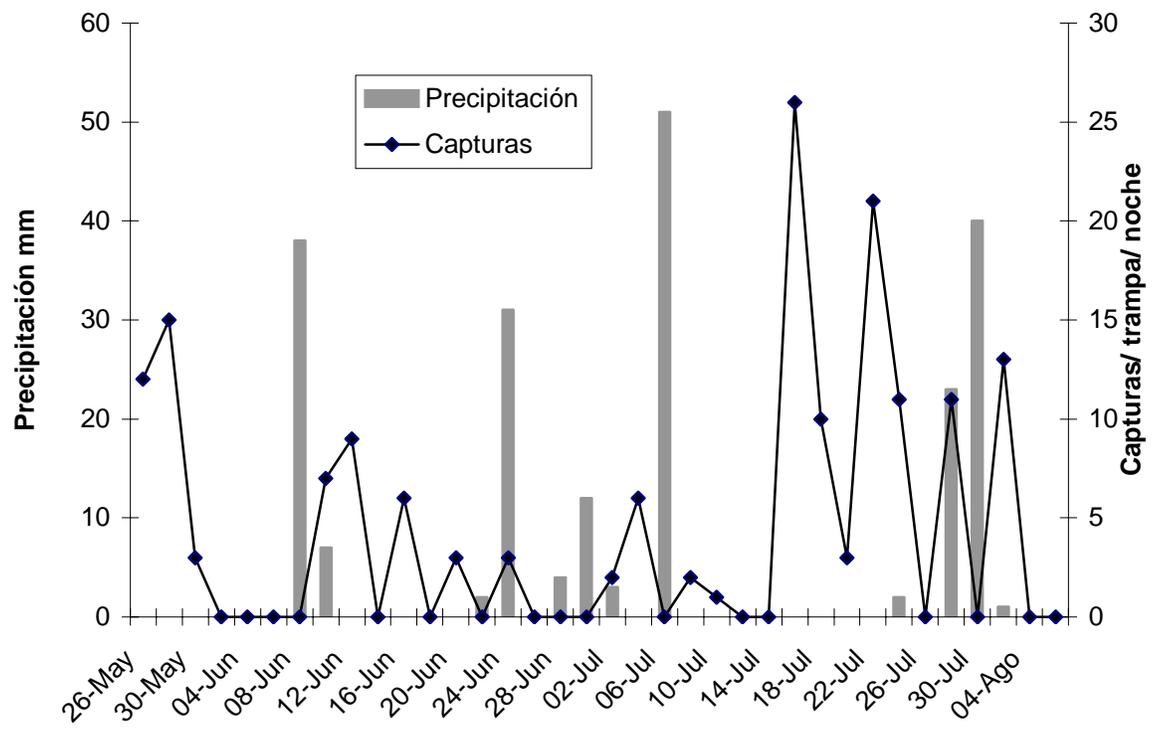


Figura 1.- Fluctuación de adultos de *Cydia pomonella* L. de vuelo de primera generación y precipitación pluvial y (2004).

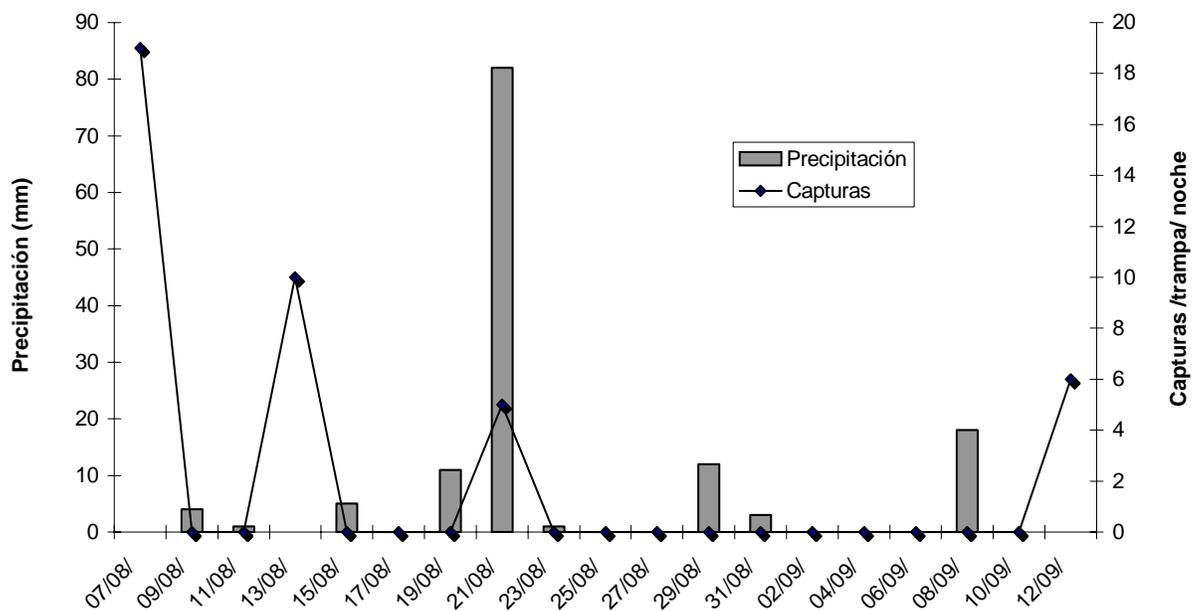


Figura 2.- Fluctuación de adultos de *Cydia pomonella* L. del vuelo de segunda generación y precipitación pluvial (2004).

CONCLUSIONES

Las dosis de 150, 300, 600, mL / ha de virus de CpgV son igualmente efectivas en la protección de frutos de manzano contra L1 de *C. pomonella*.

No existen diferencias entre usar el virus CpgV solo o en mezcla con coadyuvantes, ofreciendo los mismos niveles de protección a los frutos de manzano

Poseen el mismo efecto de protección de frutos de manzano una sola aplicación del virus CpgV a dosis de 300 ml /ha aplicada a las 120 UC que aplicaciones repetidas a 7, 10, 15, 21 días a la misma dosis. El sistema de predicción por UC es un factor clave en la implementación de esta táctica de control. En todos tratamientos de los ensayos donde se utilizaron diferentes dosis, coadyuvantes y número de aplicaciones los tratamientos a base del virus de CpgV fueron diferentes el testigo sin aplicación Se detecta igualdad en el efecto de protección de frutos en los tratamientos a base del virus CpgV en relación al tratamiento comercial usado en la región a base azinfos metil.

LITERATURA CITADA

- Alvarez, R.S. 1998. El manzano. 5^a ed AEDOS S.A. Barcelona, España. 431 p.
- Benz, G. A. 1986. Introduction: Historial perspectivas. In: Granados R.R. y B.A. Federici (ed.), The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology. Academic Press. San Diego, USA. Vol.1. Pp 1 – 36.
- Blissard, G.W., and G.F.Rohrmann. 1990. Baculovirus diversity and molecular biology. *Ann.Rev. Entomol.* 35: 127 – 155.
- Blissard. G.W. 1996. Baculovirus- cell interactions. *Cytotechnol.* 20: 73 – 93.
- Blissard, G.W., B. Black, N.E. Crook, R.D. Possee, R.D. Possee, G.F. Rohrmann, D.A. Thielmann and L.E. Volkman. 2000. Family Baculoviridae. In. M.H.V. Van Regenmortel, C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, E.B. Carstens M.K. Estes. S.M. Lemon, J. Maniloff, M.A. Mayo, D.J: McGeoch, C.R. Pringle and Wickner (ed), *Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* Academic Press, New York. p. 235.
- Crook, N.E. 1991. Baculoviridae: Subgroup B. In : E. Kurstak (ed) *Viruses of Invertebrates.* Marcel Dekker Inc., NY, USA. Pp 73 - 110
- Francki, R.I.B., C.M. Fauquet, D.L. Knudson, and F. Brown. 1991. Classification and nomenclature of viruses: Fifth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch. Virol. Suppl.* 2. Springer – Verlag, New York. p 278.
- García S.C. 1980. Métodos de combate de la palomilla de la manzano mediante un sistema de pronóstico de daño basado en la relación fenología manzano-palomilla VI día del fruticultor INIA-CAESICH. Pp. 87 – 97.
- Gröner, A. 1986. Specificity and safety of baculoviruses. In: R.R. Granados and B.A. Federici (ed) *The biology of Baculoviruses: Biological Properties and Molecular Biology.* Vol. 1 Academic Press, San Diego. USA. P. 177- 202
- Helsen, H., L. Blommers and C. Vago.1992. Efficacy and implementation of granulosis virus against colding moth in orchard. *Imp. Med. Fac. Landbouw. Gent.* 57: 569 – 573.

- Hüber, J. 1986. Use of baculoviruses in pest management programs, In R.R: Granados y B.A. Federici (ed), *The Biology of Baculoviruses: Practical Application for Insect Control*. Vol. II CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA. p. 182 – 202.
- Hüber, J. and E. Dickler. 1977. Colding moth granulosis virus: Its efficiency in the field in comparison with organosphosphorous insecticides. *J. Econ Entomol.* 70: 557 – 561.
- Jackson, D.M. 1982. Searching, behavior and survival of first instar codling moth. *Ann Entomol. Soc. Amer.* 75(3): 284 – 289.
- Fábregas J. F. R. 1980. *Cultivo del manzano*. Editorial Sintes, S.A. Pp 264
- Lipa, J 1998. Eastern Europe and the former Soviet Union, In: F.R Hunter- Fujita, P.F. Entwistle, H.F. Evans and N.E. Crook (ed) *Insect Viruses and Pest Manager*. John Wiley & Sons. Chichester, United Kingdom. p. 216 – 231
- Mefrcalf, C.L., y W.P.1982. *Insectos destructivos e insectos útiles: Sus costumbres y su control*. 4ª Edición, 15ª Impresión. Ed. CECSA. México. DF. 1208 p.
- Newcomer. 1974. *Plagas de insectos de los frutales deciduos, en el oeste de los EUA*. 1ª edición. Editorial Agencia para el Desarrollo Internacional. P 58.
- Pasqualini, E., A. Antropoli and G. Faccioli. 1994. Performance tests of granulosis virus against *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Olethreutidae). *Bull Oilbsrop.* 17: 113- 119.
- Pfadt, E.R. 1978 *Fundamentals of applied entomology*. 3ª, ed. Mcmillan Publishing Co. Inc. New York, USA Pp 72- 73
- Porta M.P., M. Badía S., y J. Mitjana B. 1969. *Guía práctica de tratamientos: Peralmanzano*. DILAGRO - Ediciones. Lérida, España. Pp 29 – 31.
- SAGARPA. 2000. *Anuario de producción agrícola delegación Coahuila Secretaria de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación*. Pp 2, 6 y 20.
- Sánchez, V. V. M., Cerda, G.P.A., Martínez, D.F., Landeros, F.J. 2000. *Manejo integrado de la palomilla manzana C. pomonella L: Manual para productores*. UAAAN. Saltillo, Coah. 34 p.
- SIAP 2003. *Anuario estadístico de la producción agrícola*. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera.
http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ar_comagri.html.

- Tanada, Y. 1964. A granulosis virus of the coldling moth, *Carpocapsa pomonella* (Linnaeus)(Olethreutidae). J.Insect. Pathol. 6: 378- 380.
- Urbina, M.M. 1986. Tablas de vida del fruto del manzano *Pyrus malus* y ciclo de vida de *Cydia pomonella* en El Tunal, Arteaga, Coah. Tesis Profesional. UAAAN. Saltillo, Coah. 62 p.
- Volkman, L.E. and P.A.Goldsmith. 1984. Budded *Autographa californai* NPV 64K Protein: further biochemical analisis and effects of postimmunoprecipitation sample preparation conditions. Virology 139: 259 – 302.

A P E N D I C E

Cuadro A 1.- Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004

Tratamientos	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4		
testigo	86	92	97	93	368	92
V. Solo	92	98	98	96	384	96
V. Azucar	91	99	99	100	389	97.25
V. Nufilm	96	94	92	99	381	95.25
V. L.polvo	99	99	99	95	392	98
V. Aceite V	100	96	93	96	385	96.25
gusation	90	99	97	98	384	96

Cuadro A 2.- Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004

Tratamientos	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4		
testigo	94	91.5	90	93.5	369	92.25
V. Solo	91	91	100	98	380	95
V. Azucar	92	94	100	100	386	96.5
V. Nufilm	95	100	95	96	386	96.5
V. L.polvo	98	100	100	93	391	97.75
V. Aceite V	100	98	98	97	393	98.25
gusation	92	96	98	97	383	95.75

Cuadro A 3.- Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004

Tratamientos	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4		
testigo	95	97	98	96	386	96.5
V. Solo	100	95	99	96	390	97.5
V. Azucar	92	100	99	100	391	97.75
V. Nufilm	99	98	95	98	390	97.5
V. L.polvo	98	98	100	93	389	97.25
V. Aceite V	100	98	100	97	395	98.75
gusation	93	99	98	100	390	97.5

Cuadro A 4.- Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004

Tratamientos	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4		
testigo	76	83	97	85	341	85.25
V. Solo	100	95	97	97	389	97.25
V. Azucar	92	100	92	90	374	93.5
V. Nufilm	93	94	95	96	378	94.5
V. L.polvo	100	98	98	95	391	97.75
V. Aceite V	99	92	97	99	387	96.75
gusation	93	89	98	98	378	94.5

Cuadro A 5.- Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004

Tratamientos	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4		
testigo	75	87	95	92	349	87.25
V. Solo	98	97	92	92	379	94.75
V. Azucar	96	99	99	97	391	97.75
V. Nufilm	97	97	97	97	388	97
V. L.polvo	97	99	100	92	388	97
V. Aceite V	97	98	95	100	390	97.5
gusation	96	95	98	97	386	96.5

Cuadro A 6.- Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004

Tratamientos	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4		
testigo	81	87	97	76	341	85.25
V. Solo	92	95	99	92	378	94.5
V. Azucar	100	100	94	95	389	97.25
V. Nufilm	96	98	99	99	392	98
V. L.polvo	99	98	99	93	389	97.25
V. Aceite V	100	97	97	99	393	98.25
gusation	96	99	100	94	389	97.25

Cuadro A 7.- Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004

Tratamientos	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4		
testigo	91	90	99	89	369	92.25
V. Solo	100	98	100	100	398	99.5
V. Azucar	87	100	100	97	384	96
V. Nufilm	96	97	98	99	390	97.5
V. L.polvo	100	99	100	97	396	99
V. Aceite V	99	98	97	99	393	98.25
gusation	98	99	100	90	387	96.75

Cuadro A 8.- Porcentaje de frutos sanos durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis y coadyuvantes.2004

Tratamientos	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4		
Testigo	91	95	99	94	379	94.75
V. Solo	100	100	100	100	400	100
V. Azucar	94	100	97	97	388	97
V. Nufilm	99	99	96	94	388	97
V. L.polvo	99	98	98	97	392	98
V. Aceite V	99	99	94	100	392	98
gusation	97	97	98	99	391	97.75

Cuadro A 9.- Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones

Tratamientos	R1	R2	R3	R4		
1 C/3	95	94	96	97	382	95.5
2 C/7	94	99	99	87	379	94.75
3 C/10	98	98	98	98	392	98
4 C/15	95	100	97	100	392	98
5/120 VP	96	93	95	98	382	95.5
6 /TEST	92	90	94	98	374	93.5
7/ 1APLI	99	92	96	97	384	96
8/ C21	98	96	93	98	385	96.25

Cuadro A 10.- Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones

Tratamientos	R1	R2	R3	R4		
1 C/3	100	99	99	99	397	99.25
2 C/7	98	100	100	97	395	98.75
3 C/10	98	100	98	97	393	98.25
4 C/15	100	96	99	100	395	98.75
5/120 VP	99	99	100	100	398	99.5
6 /TEST	94	95	95	98	382	95.5
7/ 1APLI	100	97	99	100	396	99
8/ C21	100	100	98	99	397	99.25

Cuadro A 11.- Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones

Tratamientos	R1	R2	R3	R4		
1 C/3	98	100	95	100	393	98.25
2 C/7	98	100	100	76	374	93.5
3 C/10	99	100	99	100	398	99.5
4 C/15	99	100	98	100	397	99.25
5/120 VP	100	100	97	100	397	99.25
6 /TEST	90	92	85	98	365	91.25
7/ 1APLI	100	98	100	97	395	98.75
8/ C21	99	100	99	100	398	99.5

Cuadro A 12.- Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones

Tratamientos	R1	R2	R3	R4		
1 C/3	100	99	99	100	398	99.5
2 C/7	98	100	100	76	374	93.5
3 C/10	99	100	98	100	397	99.25
4 C/15	100	98	99	100	397	99.25
5/120 VP	99	100	100	100	399	99.75
6 /TEST	93	91	94	92	370	92.5
7/ 1APLI	100	97	100	97	394	98.5
8/ C21	100	100	99	100	399	99.75

Cuadro A 13.- Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones

Tratamientos	R1	R2	R3	R4		
1 C/3	100	100	100	100	400	100
2 C/7	100	100	100	100	400	100
3 C/10	100	99	100	100	399	99.75
4 C/15	100	100	100	100	400	100
5/120 VP	100	100	100	100	400	100
6 /TEST	90	89	89	92	360	90
7/ 1APLI	100	100	100	99	399	99.75
8/ C21	96	100	99	100	395	98.75

Cuadro A 14.- Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	suma	promedio
1 C/3	94	99	95	94	382	95.5
2 C/7	94	100	94	91	379	94.75
3 C/10	95	100	100	97	392	98
4 C/15	98	100	94	100	392	98
5/120 VP	99	87	97	99	382	95.5
6 /TEST	87	89	90	90	356	89
7/ 1APLI	97	95	97	95	384	96
8/ C21	94	94	95	98	381	95.25

Cuadro A 15.- Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	suma	promedio
1 C/3	99	100	100	97	396	99
2 C/7	99	100	99	98	396	99
3 C/10	99	98	99	100	396	99
4 C/15	100	99	97	100	396	99
5/120 VP	99	96	95	100	390	97.5
6 /TEST	94	92	92	92	370	92.5
7/ 1APLI	100	96	99	89	384	96
8/ C21	99	99	98	99	395	98.75

Cuadro A 16.- Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	suma	promedio
1 C/3	100	99	99	100	398	99.5
2 C/7	98	100	98	98	394	98.5
3 C/10	98	100	100	99	397	99.25
4 C/15	100	99	100	100	399	99.75
5/120 VP	99	94	99	100	392	98
6 /TEST	96	94	83	95	368	92
7/ 1APLI	97	98	98	95	388	97
8/ C21	98	99	97	98	392	98

Cuadro A 17.- Porcentaje de fruto sano durante la primera generación de *C. pomonella* L. al aplicar virus de la granulosis en número de aplicaciones

Tratamientos	R1	R2	R3	R4	suma	promedio
1 C/3	100	100	100	100	400	100
2 C/7	100	100	98	97	395	98.75
3 C/10	100	98	99	100	397	99.25
4 C/15	99	100	100	100	399	99.75
5/120 VP	99	100	99	100	398	99.5
6 /TEST	90	89	91	90	360	90
7/ 1APLI	99	96	99	96	390	97.5
8/ C21	98	100	100	98	396	99