

**PROTECCIÓN DE FRUTOS DE MANZANO CON SUBDOSIFICACIONES  
DEL VIRUS DE LA GRANULOSIS DE *Cydia pomonella* L. EN LA REGIÓN DE  
JAME, ARTEAGA, COAHUILA.**

**CLAUDIO RIOS VELASCO**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE**

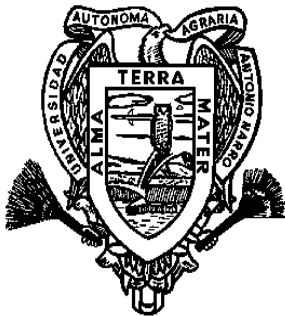
**MAESTRO EN CIENCIAS EN**

**PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**

**PROGRAMA DE GRADUADOS**



**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.  
Junio de 2007.**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**DIRECCIÓN DE POSTGRADO**

**PROTECCIÓN DE FRUTOS DE MANZANO CON  
SUBDOSIFICACIONES DEL VIRUS DE LA GRANULOSIS DE *Cydia  
pomonella* L. EN LA REGIÓN DE JAME, ARTEAGA, COAHUILA.**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**CLAUDIO RIOS VELASCO**

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como  
requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS  
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

**COMITÉ PARTICULAR**

Asesor principal: \_\_\_\_\_  
**M.C. VICTOR M. SÁNCHEZ VALDEZ**

Asesor: \_\_\_\_\_  
**DR. GABRIEL GALLEGOS MORALES**

Asesor: \_\_\_\_\_  
**M.C. FÉLIX DE JESÚS SÁNCHEZ PÉREZ**

\_\_\_\_\_  
**DR. JERÓNIMO LANDEROS FLORES**  
Director de Postgrado.

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Junio de 2007.

## AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, por haberme brindado la oportunidad de seguir formándome como profesionista.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por haberme brindado el apoyo económico durante mi estancia en la maestría.

Al **Departamento de Parasitología Agrícola** en general por haberme acogido dos años más en mi formación profesional.

### **A mi cuerpo de asesores**

Un profundo agradecimiento al **M.C. Victor M. Sánchez Valdez** por haber confiado en mí, por la paciencia, dedicación y tiempo invertido en la elaboración del artículo y revisión de ésta tesis.

Con admiración y respeto al **Dr. Eugenio Guerrero Rodríguez (†)** que en paz descansa que mas allá de ser un profesor fue un gran amigo.

**“En la penumbra queda el recuerdo, como si se quisiera desvanecer, como si se quisiera ir, pero este recuerdo se queda entre nosotros aún en la penumbra y la memoria es tan fuerte que a menudo se nota un resplandor”.**

vpinedas, 2007.

Al **Dr. Gabriel Gallegos Morales**, por su amistad, comprensión y sus excelentes aportaciones en la elaboración del artículo y revisión de la tesis.

Al **M.C. Félix de Jesús Sánchez Pérez**, por sus aportaciones en la interpretación de resultados y realización de esta tesis así como asesoría estadística.

A mis compañeros y amigos del postgrado de parasitología agrícola por todos los momentos felices que pasamos juntos.

## **DEDICATORIA**

### **A MIS PADRES:**

**Sr. Leopoldo Rios San Nicolás**

**Sra. Flora Velasco Tolentino**

Papas no me equivoco al decir que son los mejores padres del mundo, gracias por todo su esfuerzo, apoyo incondicional y por la confianza que depositaron en mí. Gracias por que aunque lejos, siempre han estado a mi lado.

Por eso les brindo este trabajo en premio a su gran esfuerzo, paciencia, amor y confianza, por que este logro quiero compartirlo con ustedes.

### **A MIS HERMANOS:**

Jaime, Rosalba, Froylan, Tania y Leopoldo

### **A MIS SOBRINAS PRECIOSAS:**

Vanessa, Sherlyn, Aylin

A ustedes mis queridas sobrinas, por brindarme momentos de alegría

*Son muchas las personas a los que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunos están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón. Sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han dado y por todas sus bendiciones.*

*Claus*

## COMPENDIO

### PROTECCIÓN DE FRUTOS DE MANZANO CON SUBDOSIFICACIONES DEL VIRUS DE LA GRANULOSIS DE *Cydia pomonella* L. EN LA REGIÓN DE JAME, ARTEAGA, COAHUILA.

POR:

CLAUDIO RIOS VELASCO

MAESTRÍA EN CIENCIAS  
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. JUNIO 2007.

M.C. Victor M. Sánchez Valdez -Asesor-

**Palabras clave:** Granulovirus, *Cydia pomonella*, CpGV, Palomilla de la manzana.

En el 2006 se realizaron evaluaciones de subdosificaciones del granulovirus de *Cydia pomonella* (CpGV) en la Región de Jame, Arteaga, Coahuila. Fueron aplicadas tres concentraciones inferiores a la comercial de 35, 75 y 150 mL ( $7.7 \times 10^{11}$ ,  $1.65 \times 10^{12}$  y  $3.3 \times 10^{12}$ , gran/ha) se aplicaron de 1 a 3 veces en árboles de manzano a intervalos de 10 días coincidiendo con la emergencia de las larvas de primer estadio, al acumular 120 unidades calor (UC) (01 de mayo), después del pico máximo de adultos de palomilla de la manzana (PM) (09 de abril). La eficiencia se estableció en relación al porcentaje de frutos dañados, observando los frutos de cada árbol retirando los frutos dañados. Se observó diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) al separar los porcentajes de frutos dañados con tratamientos a base de CpGV, de los testigos tanto el interno como el externo, los cuales oscilaron entre 0.196 % a 2.232 % y 6.624 % a 10.106 % respectivamente.

## ABSTRACT

**APPLE PROTECTION FRUITS WITH SUBDOSIFICACIONES OF GRANULOVIRUS *Cydia pomonella* L. IN JAME, ARTEAGA, COAHUILA.**

**BY**

**CLAUDIO RIOS VELASCO**

**MASTER IN SCIENCES  
AGRICULTURAL PARASITHOLOGY**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

**BUENAVISTA SALTILLO, COAHUILA. JUNE 2007.**

**M.C. Victor M. Sánchez Valdez -Advisor-**

**Key words:** Granulovirus, *Cydia pomonella*, CpGV, Palomilla de la manzana

In 2006, were made evaluations of subdosificaciones of *Cydia pomonella* granulovirus, in the region of Jame, Arteaga, Coahuila. Were applied three concentrations were lower than commercial, these were of 35, 75 y 150 mL (  $7.7 \times 10^{11}$ ,  $1.65 \times 10^{12}$  and  $3.3 \times 10^{12}$ , granules/ha), at intervals of 10 days, in agreement with the eclosion of first stage larval. This was realized to accumulate 120 heat units; after that the codling moth reach its top point (9<sup>th</sup> april). Was established the efficiency in relation to the percentage of injury in fruits. The fruits that showed injury were retired. Was observed that existed significative difference ( $P \leq 0.05$ ) for to separate the percentage of damage fruit with treatments on base of CpGV and the internal and external control, oscillating between 0.196 % to 2.232 % and 6.624 % to 10.106 % respectively.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
<b>La palomilla de la Manzana</b> .....	3
Importancia de la Plaga .....	3
Origen de <i>C. pomonella</i> .....	3
Ciclo Biológico .....	4
Emergencia de huevecillos .....	4
Estadios larvales .....	4
Pupa .....	4
Adulto .....	5
<b>Comportamiento y hábitos de las larvas de <i>C. pomonella</i></b> .....	5
Desarrollo larval .....	5
La diapausa .....	6
Rompimiento de la diapausa hiberna .....	7
Vuelo de primavera .....	7
Vuelo de verano .....	7
<b>Monitoreo de adultos</b> .....	7
<b>Tácticas de Control</b> .....	8
Confusión sexual .....	8
Virus entomopatógenos .....	8
Control químico mediante el sistema de predicción .....	9
Manejo integrado .....	9
<b>Generalidades del Granupom</b> .....	10
Cuando y cómo aplicar Granupom .....	10
Dosis recomendada .....	10
Eficiencia en campo .....	10
<b>Baculovirus</b> .....	12
Familia Baculoviridae .....	12
Infección del hospedero .....	13
<b>Estructura y composición de los baculovirus</b> .....	13
Nucleocápsida .....	13
Viriones .....	13
Cuerpos de inclusión .....	14
<b>La familia Baculoviridae</b> .....	14
Granulovirus .....	15
Granulovirus de <i>Cydia pomonella</i> (CpGV) .....	15
Sintomatología .....	15
Ciclo de infección .....	16
Infección primaria .....	17
Infección secundaria .....	18
<b>Transmisión</b> .....	18
Transmisión horizontal .....	18

Transmisión horizontal directa -----	18
Transmisión horizontal mediante vectores -----	18
Transmisión vertical -----	19
Transmisión transestadial o intratransmision -----	19
<b>Dispersión</b> -----	19
Dispersión por factores abióticos -----	19
Dispersión por factores bióticos -----	19
<b>Persistencia</b> -----	20
Persistencia fuera del hospedero -----	20
Persistencia en el hospedero -----	21
<b>Factores ambientales que afectan la persistencia de los baculovirus</b> -----	21
Radiación solar -----	21
Temperatura y humedad -----	22
<b>Proteccion de Frutos de Manzano con el Virus de la Granulosis de <i>Cydia pomonella</i> L. (Lepidoptera: Tortricidae)</b> -----	23
<b>CONCLUSIONES GENERALES</b> -----	36
<b>LITERATURA CITADA</b> -----	37
<b>APÉNDICE</b> -----	45



## INTRODUCCIÓN

En México se cuenta con plantaciones de manzana en 22 estados, sin embargo cuatro de ellos producen el 89 % de la producción nacional; Chihuahua posee con el 33% de la superficie sembrada y produce el 69 %. Mientras que Coahuila, Durango y Puebla, cuentan con el 46 % de la superficie produciendo el 20 % (SIAP, 2002).

Para el sector productor de manzanas en México, es necesario contar con prácticas de manejo (producción integrada) de huertos que se ajusten a las demandas de los mercados nacionales como internacionales. Uno de los aspectos más relevantes de la producción integrada es el manejo integrado de plagas, el cual para el caso del manzano tiene como plaga clave a la palomilla de la manzana *C. pomonella* (González, 1984). Debido a su persistencia y por que constituye un factor de riesgo en la rentabilidad del cultivo (daños que oscilan de 20 % a 70 %). el programa de manejo de plagas del manzano, se organiza entorno a la palomilla de la manzana ya que el cultivo es un importante generador de empleos directos (en la huerta y empaque) e indirectos (proveedores de insumos, crédito, comercio etc.) (Sánchez, *et al* 2000)

En manzano, el 90 % de las aplicaciones de insecticidas se hacen para combatir la palomilla de la manzana (Jacobo-Cuellar y Ramírez, 1999). Esto ha propiciado la destrucción de enemigos naturales, el incremento de otras plagas no objeto de control, contaminación de agroecosistemas y desarrollo de resistencia a insecticidas (Beers *et al.*, 1993; Sauphanor *et al.*, 1998). En base a lo anterior ha surgido la necesidad de disminuir el uso de agroquímicos e incentivar la búsqueda de alternativas de control con diferente modo de acción y más amigable con el medio ambiente y la salud humana. Entre estas destaca el uso del virus de la granulosis de *Cydia pomonella* (CpGV), altamente patogénico para la palomilla de la manzana ya que su infección causa una alta mortalidad (control) en larvas de primer estadio. Permitiendo así reducir el daño en manzanas.

CpGV ha sido registrado en muchos países Europeos y Estados Unidos. En Europa se comercializa como MADEX<sup>®</sup> (Andermatt Biocontrol, Switzerland), CARPOVIRUSINE<sup>®</sup> (Arysta, formerly Calliope, Francia) y en Alemania GRANUSAL<sup>®</sup> producido por Hoechst (ahora llamado GRANUPOM<sup>®</sup> de AgrEvo

GMBH). Este último demostró que el control de palomilla de la manzana con este virus es comparable con el obtenido con insecticidas químicos (Helsen *et al.*, 1992).

Por lo anterior el objetivo del presente estudio consistió en determinar el efecto de concentraciones menores del granulovirus de *C. pomonella* en larvas neonatas ya que el CpGV tiene un alto potencial para ser usado como insecticida biológico a dosis bajas, reduciendo los costos de control para esta plaga.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### La palomilla de la Manzana

#### Importancia de la Plaga

*C. pomonella* es la plaga de mayor importancia económica que afecta a manzanas en todas las áreas donde se cultiva, es un factor de riesgo en la rentabilidad de los sistemas de producción de éste cultivo al momento de la cosecha (Metcalf y Flint, 1982; Cardé y Minks, 1995; Jacobo y Ramírez, 1999). Se le considera como una plaga de daño directo, ya que afecta al fruto, barrenándolo desde que estos alcanzan 1 cm de diámetro hasta su madurez. Una vez estando la larva en el interior del fruto se alimenta de las semillas provocando pudriciones, producida por acumulación de excreta oscurecida por la acción de microorganismos y caída de frutos (Metcalf y Flint, 1982; Artigas, 1994). Se estima que en huertos sin control, su daño oscila entre un 20 y 70 % de frutos dañados y en huertos donde se descuida la aplicación en primera o segunda generación, se pueden presentar daños económicos que van del 5 al 20 %. En huertos con un buen manejo el nivel de daño no debe sobrepasar el 1 % al momento de la cosecha (Sánchez *et al.*, 2000).

García, (1989) menciona que para implementar un combate eficiente de *C. pomonella* a través de la planeación de aplicaciones, es necesario estimar la selectividad, densidad y dinámica de la población plaga.

#### Origen de *C. pomonella*

El origen de *C. pomonella* corresponde al origen del manzano, *Malus domestica* Borkh., localizado en el oeste de Asia y al este de Europa. Esta plaga fue introducida de Europa a Norte América aproximadamente en el año de 1775, año en que fue observado en Nueva Inglaterra (Pfadt, 1978). Debido a que es una plaga cosmopolita se asume que ha viajado con el cultivo por medio de la dispersión ocasionada por el hombre ya que este insecto es incapaz de movilizarse a grandes distancias o rebasar barreras geográficas por si mismo (Sánchez *et al.*, 2000).

### **Ciclo Biológico**

El inicio del ciclo biológico de *C. pomonella*, se produce con el rompimiento de la diapausa, cuando las larvas invernantes cambian al estado de pupa, dicho evento ocurre a principios del mes de marzo, extendiéndose hasta el mes de mayo (Sánchez y García, 1992). En la sierra de Arteaga ocurren dos generaciones completas de *C. pomonella* y una parcial (Guevara, 1986). Al respecto Pitcairn (1992) concluyó que la palomilla requiere de 595.62 UC para la primera generación, 677.68 y 685.06 para la segunda y tercera generación respectivamente, con un UTI de 10 °C.

### **Emergencia de huevecillos**

La presencia de huevecillos se puede predecir a partir del vuelo pico de adultos contabilizando 50 UC (Sánchez *et al.*, 2000). Al respecto Batiste y Berlowitz (1973) reporta que la mayor actividad de oviposición se realiza poco antes y poco después de la puesta del sol, principalmente en el haz (57 %) y envés (35 %) situados solo el 8 % en manzanas., el 91 % a una distancia de 20 cm del fruto. El tiempo de eclosión de huevecillos según Davison y Lyon (1979) es de una a dos semanas dependiendo prácticamente de las condiciones climáticas.

### **Estadios larvales**

La larva es eruciforme y puede alcanzar un tamaño de 21 mm, es de color blanco y a medida que crece cambia a una tonalidad rosada, la cual depende del fruto que ataque. La cabeza es castaña al igual que el escudete pronotal (González, 2000).

Después de que el huevecillo ha sido incubado eclosiona como larva de primer estadio L1 evento predecible contabilizando 120 UC. (Sánchez *et al.*, 2000).

Hilary *et al.* (1984), reportan que el desarrollo larval de la palomilla de la manzana comprende desde que la larva de primer estadio encuentra un sitio de penetración, que preferentemente es el cáliz del fruto, hasta que completa su desarrollo y lo abandona después de pasar por cinco estadios larvales dentro del fruto (L1 a L5). Su duración es de 160 UC (20 a 30 días).

### **Pupa**

La pupa es de color café claro y se torna más oscura cuando está próxima a emerger como adulto. El cambio de larva a pupa se realiza de cuatro a seis días, y el periodo de pupa oscila entre 10 y 14 días (Peadt, 1978).

## **Adulto**

Los adultos se caracterizan por tener una envergadura alar pequeña o mediana (menos de 30 mm), las antenas son filiformes, palpos labiales muy visibles y son mas largos que los palpos maxilares, el cuerpo es de color gris, posee una espiritrompa poco desarrollada (González, 2000).

La pupa se mantiene dentro del capullo de seda y en su interior se generan una serie de cambios morfológicos dando origen a la palomilla adulta al transcurrir 200 UC desde la L5 hasta la emergencia de estos (Sánchez *et al.*, 2000).

## **Comportamiento y hábitos de las larvas de *C. pomonella***

### **Desarrollo larval**

Sánchez *et al.* (2000), señalan que una vez eclosionada la larva de primer estadio inicia la búsqueda de un fruto para poder alimentarse, el periodo de tiempo de búsqueda va de 6 a 24 horas. Peadt, 1978 y Davison, 1979; mencionan que la larva es capaz de parasitar frutos que van desde un centímetro de diámetro, hasta frutos a punto de ser cosechados, una vez penetrada la epidermis del fruto, la larva de primer estadio muda al segundo estadio, iniciando una galería en dirección a las semillas, de las cuales obtiene su alimento, durante tres o cuatro semanas dependiendo de las condiciones climáticas. Jackson y Harwood (1980), reportan que los primeros instares son grandemente afectados por la temperatura y la humedad relativa.

La larva completamente desarrollada y después de agotar su alimento abandona el fruto y se dirige a sitios de pupación o invernación, buscando como refugio sitios oscuros, bajo las cascarillas de la corteza, bifurcaciones de ramas, basura orgánica en la base del tronco, donde teje su capullo de seda y en menos de siete días se transforma en pupa, fase en la cual ocurren una serie de cambios morfológicos para dar origen a la palomilla adulta, al acumular 200 UC a partir de la L5. (Peadt, 1978).

Jaques *et al.* (1981), mencionan que los primeros estadios larvales de *C. pomonella* se alimentan ligeramente por un corto periodo antes de entrar al fruto en el cual ya estando dentro no lo abandonan hasta que complete su desarrollo larvario; al penetrar la larva al fruto lo utiliza como alimento y refugio siendo difícil su control en

el interior, por lo tanto la dosis y el tiempo de aplicación del agente de control serán causa crítica de la efectividad en el control de la plaga.

### **La diapausa**

La diapausa en insectos es un sistema de invernación para condiciones ambientales cíclicas y extremas con: a) una fase preparatoria inducida por fotoperiodo y temperatura e involucra cambios metabólicos definidos b) los insectos no se alimentan durante el invierno., c) al retornar un ambiente favorable para reiniciar su ciclo biológico, se requiere acumulación de calor (Murria y Wilson, 1993). El fotoperiodo, temperatura, humedad, nutrición y fenología del hospedante pueden fungir como señales para la diapausa y determinar su ocurrencia, tiempo y extensión (Leather *et al.*, 1993); el fotoperiodo y la temperatura predominan en la mayoría de los insectos (Taylor y Spalding, 1988).

DeWild (1962), indica que temperaturas altas tienden a retrasar la diapausa en algunas especies de insectos. La temperatura puede actuar como un estímulo inductor de la diapausa que prepara al insecto para los próximos cambios estacionales (Leather *et al.*, 1993). Según Mansing (1971), la acción del fotoperiodo no debe considerarse como inmediata, ya que el estímulo se ejerce en forma indirecta a través del sistema nervioso y órganos endocrinos. Al respecto Guevara (1986), las altas temperaturas causan un metabolismo intenso y alta actividad de locomoción.

Sánchez *et al.* (2000), menciona que en la Sierra de Arteaga la diapausa ocurre entre el 18 de agosto al 28 de febrero donde el insecto teje un capullo de seda en el cual pasa el otoño e invierno como larva invernante, refugiada en grietas, inserciones de ramas, bajo las cascarillas de los troncos, en basura del huerto, postes de cercos y bodegas.

### **Rompimiento de la diapausa hiberna**

Sánchez *et al.* (2000), citan que el rompimiento de la diapausa de *C. pomonella* ocurre durante los primeros 15 días del mes de marzo, que coincide con los estadios fenológicos de punta plateada y punta verde en las yemas del manzano lo cual indica el arranque del ciclo biológico, una vez concluido el reposo invernal.

### **Vuelo de primavera**

Este insecto presenta dos o más generaciones por ciclo en la mayoría de las regiones manzaneras del mundo (Metcalf y Luckman, 1982). Al respecto Hernández (1985), menciona que en la Sierra de Chihuahua se presentan dos generaciones en años templados y tres generaciones en años cálidos.

El vuelo de primavera consiste en la emergencia de palomillas adultas provenientes de la población invernante. Ocurre en la segunda quincena de marzo, incrementándose en abril hasta alcanzar su evento pico; y concluye a principios de mayo. La forma más fácil de detectar este evento es mediante la instalación de trampas con feromona sexual, a partir del 15 de marzo, antes de la floración. La importancia de detectar oportunamente el vuelo de primavera es debido a que su evento pico es el punto de referencia biológico (biofix) a partir del cual se implementan o pronostican las medidas de control (Sánchez *et al.*, 2000).

### **Vuelo de verano**

Con la emergencia de los nuevos adultos concluye la generación invernante que, a su vez, iniciando el vuelo de verano o segunda generación en los meses de junio y julio. Cabe señalar que la detección en verano de vuelos picos son menores a los de primavera debido a las acciones de control implementadas contra la primera generación. Durante la segunda generación o vuelo de verano el ciclo biológico de la palomilla sigue el mismo curso con las etapas de preoviposición, incubación y desarrollo larval hasta la L5, que entra en diapausa en agosto y septiembre por efecto del fotoperiodo. El cambio a pupa ocurre hasta la primavera del siguiente ciclo (Sánchez *et al.*, 2000).

### **Monitoreo de adultos**

El monitoreo de vuelo de machos de esta plaga se realiza mediante la utilización de feromona sexual, la cual corresponde a un compuesto emitido por las hembras durante ciertas horas del crepúsculo y sobre un umbral de temperatura de 12 °C. Esta feromona es extraída de las glándulas ubicadas en el extremo del abdomen de la palomilla de la manzana y se ha identificado como (E,E)-8-10- dodecadienol, siendo comercialmente producido con el nombre codlemone (González, 1993; Carde y Minks, 1995).

## **Tácticas de Control**

En el sector productor de manzanas en México, es necesario contar con prácticas y manejo de huertos que se ajusten a las demandas de eficiencia que impone el mercado actual nacional e internacional como frutos de calidad, sin residuos tóxicos. Esto ha dirigido a la agricultura hacia el uso preferente de tácticas de control alternativas a los insecticidas, con menor impacto ambiental y menor riesgo de aparición de resistencia a insecticidas.

### **Confusión sexual**

En el caso de palomilla de la manzana (*Cydia pomonella* L.) en frutales, la técnica de confusión sexual ofrece un control efectivo de esta plaga, ya que es una técnica que previene o disminuye el apareo, interfiriendo la comunicación y el encuentro entre el macho y la hembra. Para tal efecto en la Región se han utilizado dispensadores de feromona de liberación prolongada ofreciendo una buena efectividad, interrumpiendo la copula y reduciendo los daños a frutos (Sánchez *et al.*, 2000). Al respecto Jones, (1998) menciona que la confusión o disrupción de cópula es otra estrategia de control que utiliza feromonas sintéticas para el control de *C. pomonella*, el cual consiste en saturar el ambiente del huerto con numerosos rastros de feromona sexual sintética, ya sea distribuyendo emisores o formulaciones asperjables en el campo para que esta sea emitida desde las fuentes y alcance una concentración que permita desorientar al macho en su búsqueda por la hembra.

### **Virus entomopatógenos**

Dentro de los patógenos de insectos, los virus principalmente el grupo de los baculovirus (Virus de la poliedrosis y granulosis), poseen un alto potencial para ser utilizados en el control de insectos plaga; son eficientes, específicos y seguros para el hombre y otros animales. La utilidad y efectividad de los baculovirus han sido ampliamente demostradas, tanto en cultivos agrícolas como en ecosistemas forestales. Es por ello que la utilización de insecticidas virales podría reducir muy significativamente el consumo de insecticidas químicos, obteniendo así productos agropecuarios orgánicos o ecológicos. Para el caso particular de manzano se ha recibido mayor atención al virus de la granulosis de *C. pomonella* para su desarrollo como bioinsecticida debido a su potencial para ser utilizado como agente de control biológico en la lucha contra la palomilla de manzana.



### **Control químico mediante el sistema de predicción.**

La lucha efectiva contra la palomilla de la manzana comienza con el desarrollo de los plaguicidas y se ha especializado poco a poco que ha llegado a ser ejemplo para el control integrado y/o biológico de otras plagas.

El control químico es uno de los principales métodos de control mas efectivos y utilizados en la región para reducir considerablemente las poblaciones de palomilla de la manzana y consecuentemente el daño a frutos.

El sistema de predicción pronostica la fecha en que nacerán al menos el 80 % de las larvas de 1<sup>er</sup> estadio, siendo el momento oportuno para la aplicación de insecticidas o cualquier otro método de control antes de que las larvas penetren al fruto lo cual se alcanza a las 120 UC, después del vuelo pico que ocurre entre 15 y 25 días. Para lo cual se debe tomar como referencia el vuelo pico de adultos (monitoreo biológico) en las generaciones de primavera y verano, por lo que es indispensable la instalación de trampas con feromona sexual antes de la floración. Este sistema incluye un monitoreo climático que consiste en registrar diariamente temperaturas máxima y mínima, que posteriormente se transforman a unidades calor, lo cual permite establecer el avance del ciclo biológico. En la palomilla de la manzana se utilizan para fines de pronóstico del desarrollo los umbrales inferior de 12 °C y superior de 34 °C, respectivamente (Sánchez *et al.*, 2000).

### **Manejo integrado**

Este programa de manejo se basa en un control convencional, el cual se fundamenta en el monitoreo de la plaga, basado en la captura de machos de palomilla de la manzana y en el uso de agroquímicos en un momento óptimo cercano al termino de la ovipostura que evite la penetración del fruto por las larvas neonatas (González, 1996).

El manejo integrado en los huertos de manzano es necesario y efectivo debido a que se disminuyen considerablemente los daños ocasionados por *C. pomonella*. Lara (1999), menciona que en huertos donde se efectuó el manejo integrado el daño que obtuvo fue de 0 al 1 % y en huertas no tratadas el daño fue de 60 %, lo cual nos indica que donde se efectuó el manejo integrado no rebasó el nivel de daño económico.

## Generalidades del Granupom®

### Cuando y cómo aplicar Granupom®

Para que sea eficaz, el insecticida microbial Granupom® debe ser ingerido por la larva por lo tanto debe ser asperjado antes de que las larvas penetren al fruto por lo que el control óptimo de la palomilla de la manzana por medio del insecticida biológico Granupom impacta a las larvas de primer estadio L1. Es recomendable iniciar la aplicación de Granupom® desde la etapa de huevecillo de la primera generación y repetir tratamientos dirigidos cada 10 días para asegurarse que todas las larvas estén expuestas. Puesto que la palomilla de la manzana inicia oviposuras después de su aparición, también es posible determinar cuando iniciar las aspersiones de Granupom® en base a la supervisión de la presencia de palomillas adultas (monitoreo biológico) por medio de trampas con feromona sexual sintética. Esto debe realizarse también para la segunda generación de palomillas para evitar el daño de éstas (Biobest, 2005).

### Dosis recomendada

Se recomienda iniciar con una dosis de 300 mL/ha (300 mL para 1000 L agua) para asperjar óptimamente el follaje y darle una mejor protección a los frutos. Las aplicaciones deben repetirse cada 10 o 14 días. Generalmente se recomienda realizar 4 aplicaciones. Durante periodos con temperaturas altas la radiación ultravioleta inactiva al virus de la granulosis por lo que es necesario realizar aspersiones cada 7 días y bajo condiciones lluviosas es suficiente el uso de Granupom cada dos semanas (Biobest, 2005).

### Eficiencia en campo

Sheppard (1976), realizó un trabajo en un huerto de Ohio usando CpGV a dosis de  $10^7$  (1/500 E. L. equivalente larval),  $10^8$  (1/50 E. L.) y  $10^9$  (1/5 E. L.) cápsulas por árbol reduciendo la población de la segunda generación en 0.42 % y 34 % respectivamente.

Huber y Dickler (1977), realizaron un estudio sobre la efectividad del virus de la granulosis para el control de *C. pomonella* durante un periodo de 2 años sucesivos en un huerto de manzana comercial en comparación con insecticidas organofosforados en

la cual realizaron 4 aplicaciones del virus en cada ciclo de producción a una concentración de  $10^{11}$  cápsulas / L. Esto dio como resultado una protección igual o aun mejor contra el daño de la palomilla de la manzana, alcanzando una reducción del 100 % en el segundo año en comparación con el insecticida químico, con igual número de aplicaciones.

El insecticida microbial a base del virus de la granulosis es efectivo para controlar larvas de *C. pomonella* a las dosis de 150, 300 y 600 mL /ha (Díaz, 2004). Recomendando usar la dosis de 300 mL por hectárea en tres aplicaciones con intervalos de 10 días a partir de que se acumulen 120 UC después del vuelo pico de cada generación.

Jaques *et al.* (1981), realizaron evaluaciones de la eficiencia de CpGV en huertos de manzano en Canadá de 1974 a 1978, aplicando aspersiones que contenían  $3 \times 10^3$  a  $4 \times 10^4$  gránulos / L aplicados 2 o 3 veces por cada generación de larvas de *C. pomonella*, reportando la reducción del daño en 44 a 85 %, además de compararlos con las reducciones del daño donde se aplicó insecticida, que fue de 72 a 98 %.

Díaz (2004), realizó un trabajo en la Sierra de Arteaga, donde demuestra que los tratamientos a base de granulovirus presentaron los porcentajes de daño más bajos los cuales oscilaron entre 0.16 al 1.6 % de frutos dañados.

Glen *et al.* (1982), sugieren el uso del virus a concentraciones relativamente bajas en un programa integrado con otros agentes selectivos como Dimilin aplicado en abril, así las primeras larvas recibirán suficiente producto que con su acción residual reduciría el daño de *C. pomonella* en 46 %; al mismo tiempo aplicando dos aspersiones de  $2 \times 10^9$  cápsulas CpGV / litro para bajar el daño hasta un 90 %.

Glen (1984), realizó una prueba en campo de 1978 a 1979 utilizando dosis de CpGV en  $7 \times 10^{10}$  cápsulas / litro reportando una reducción en el número de larvas maduras y daño a fruto, que al compararlo con los resultados de dos aplicaciones de azinfos-metílico añade que se presentó poca diferencia.

## **Baculovirus**

Los baculovirus son una parte integrante de los ecosistemas y desempeñan un importante papel en la regulación de las poblaciones naturales de insectos. Una de sus propiedades insecticidas importantes es su elevada especificidad. Los baculovirus además de ser seguros, por su infectividad restringida a artrópodos no crean residuos en el medio ambiente y son compatibles con otros agentes de control incluyendo depredadores, parasitoides e incluso con insecticidas químicos (Caballero *et al.*, 2001).

### **Familia Baculoviridae**

Esta familia es la más numerosa y ampliamente estudiada de todos los grupos de virus patógenos de insectos. Agrupa a virus de DNA de doble cadena cuyos viriones tienen forma de bastón y están característicamente incluidos en cuerpos de oclusión (COs) según lo cita Volkman *et al.*, 1995.

### **Infección del hospedero**

La infección de los hospederos ocurre en el tubo digestivo de los insectos, donde se dan condiciones alcalinas (pH 9-11), se disuelve la proteína que compone los COs y se liberan los viriones que se unen a la membrana de las células epiteliales del mesenteron. Los viriones invaden las células, por un proceso de fusión de membranas, y el DNA viral se replica en el núcleo de la célula produciendo al final del proceso, grandes cantidades de COs (Granados y Williams, 1986).

Todos los virus de esta familia se caracterizan por tener un estrecho espectro de hospederos, una elevada patogenicidad y virulencia que son características ideales para un bioinsecticida. El cuerpo de inclusión que los caracteriza lo hace estables durante largos periodos (Jacques, 1985) y facilita su aplicación mediante pulverizaciones convencionales. Además el uso insecticida de los baculovirus debido a su estrecho espectro de hospederos (Groner, 1986) y la ausencia de otros posibles efectos perjudiciales, no parece entrañar riesgos ambientales mayores.

## **Estructura y composición de los baculovirus**

### **Nucleocápsida**

Esta estructura es la misma en todos los baculovirus cuya función es la transportar la información genética del virus hasta la célula hospedera (Federeci, 1986). Dicha estructura consiste en una cápsida cilíndrica, tapada en ambos extremos, cuyo interior constituye el núcleo donde se encuentra el ADN genómico enrollado y condensado. Dicha estructura puede tener un diámetro medio comprendido entre 30 y 60 nm y una longitud de entre 250 y 300 nm esta última esta sujeta a variación entre distintos virus ya que parece ser proporcional al tamaño de sus genomas (Federeci, 1986; Tanada y Hess, 1991).

El tamaño del genoma puede oscilar entre 80 y 180 kilopares de bases (kb) y esta organizada en una sola molécula circular de ADN de doble cadena, que contiene entre 100 y 200 genes algunos de los cuales se encuentran repetidos (Kuzio *et al.*, 1999; Hayacama *et al.*, 1999). El ADN purificado de los baculovirus es capaz de iniciar la infección y producir virus viable, por transfección de células susceptibles (Potter y Miller, 1980) o por inyección intrahemocelica de larvas susceptibles (Croizier *et al.*, 1988).

### **Viriones**

Los viriones son los principales elementos infecciosos de los baculovirus tanto en la dispersión del virus entre los individuos de una población como entre los distintos órganos y tejidos dentro de un mismo hospedero. El virión maduro se forma cuando la nucleocápsida adquiere, en un momento determinado de la replicación del virus, una envuelta o membrana que tiene una estructura trilaminar típica compuesta por una capa de lípidos entre dos capas de proteínas (Federeci, 1986).

Los viriones ocluidos (ODV) son los elementos infecciosos responsables de la transmisión horizontal del virus entre los individuos susceptibles de una población, así como de iniciar la infección primaria en las células epiteliales del mesenteron (Granados y Williams, 1986).

Los viriones brotados (BV) contienen una sola nucleocápsida y son todos morfológicamente iguales. Estos viriones a diferencia de lo que ocurre con los ODV, son elementos infecciosos que solo se producen en los baculovirus poliorganotróficos;

es decir, en aquellos en los que, además de infectar las células epiteliales del mesenteron, infectan las células de la cavidad hemocélica (Federeci, 1997). Los BV entran a las células por endocitosis (Volkman y Goldsmith, 1985) y son los principales responsables de diseminar la infección entre los órganos y tejidos de la cavidad hemocélica del hospedero así como en los cultivos de células *in vitro* (Monsma *et al.*, 1996).

### **Cuerpos de inclusión**

Los baculovirus en general al final del proceso infeccioso sintetizan grandes cantidades de poliedrina o granulina, según el género del virus, las cuales son proteínas que cristalizan formando los cuerpos de inclusión (COs) con forma de poliedro irregular (poliedrina) o de gránulos (granulina). Durante la morfogénesis, quedan uno o varios viriones ODV, dependiendo del tipo de virus lo cual les permite preservar su capacidad infecciosa fuera del hospedero. Los COs son insolubles en agua y resistentes a la putrefacción y desintegración por agentes químicos (Benz, 1986). Y a tratamientos físicos como congelación, desecación o liofilización (Jaques, 1985), todas las cuales son características que les confieren persistencia en el medio. En cambio los COs son solubles en soluciones alcalinas, como las que se dan en el tubo digestivo de algunos insectos (pH 9-11) (Granados y Williams, 1986), lo cual facilita la liberación de viriones de los COs para que puedan iniciar una infección.

Las células infectadas producen COs en las etapas muy tardías de la infección y las larvas infectadas se convierten en una masa amorfa repleta de COs encerrada en la cutícula en el momento de la muerte. Poco tiempo después, el insecto infectado se licua produciendo un inóculo fresco para infectar otros hospederos (Volkman y Keddie, 1990).

### **La familia Baculoviridae**

Los baculovirus son un grupo de virus patógenos de artrópodos que deben su nombre (baculo) a la forma de varilla o bastón (baculum=bastón) de sus viriones.

Según Blissard *et al.* (2000), la clasificación actual de esta familia incluye a todos aquellos virus cuyos viriones presentan forma de varilla o de bastón y que además son ocluidos en matrices de naturaleza proteica o COs. Esta familia está dividida en los géneros Nucleopolyhedrovirus o NPVs y Granulovirus o GVs (Murphy *et al.*, 1995).

La familia baculoviridae se caracteriza por poseer un genoma de ADN de doble hebra (dsADN) circular súperenrollado, empaquetado dentro de una cápside baciliforme cubierta por una envoltura lipoproteica. En ciertos momentos del ciclo biológico estos viriones se encuentran incluso dentro de una matriz proteica, formando cuerpos de inclusión (Volkman *et al.*, 1995; Millar, 1996).

### ***Granulovirus***

Dentro del genero granulovirus los COs de las distintas especies suelen ser de tamaños bastante homogéneos, oscilan entre 160-300 nm por 300-500 nm de largo y generalmente son de forma granular (se asemejan a óvalos). Cada CO contiene un solo virión de tipo simple (Caballero *et al.*, 2001).

Los granulovirus presentan cuerpos de inclusión de forma oval pequeños menores a 1µm (0.15-0.30µm X 0.3-0.50µm), que contiene un solo virión (excepcionalmente 2 o 3) por granulo. La replicación comienza en el núcleo de las células infectadas, pero en lo general se produce inmediatamente la ruptura de la membrana nuclear y por consiguiente, el ciclo y la morfogénesis viral continúan en la mezcla resultante de componentes citoplasmáticos y nucleares (Granados y Williams, 1986; Federici, 1986).

### **Granulovirus de *Cydia pomonella* (CpGV)**

Los granulovirus (GVs) han sido aislados de mas de 100 especies todas pertenecientes al orden lepidóptera de la clase insecta (Volkman *et al.*, 1995). La mayoría de estos han sido identificados solo por sus características morfológicas.

Crook, 1991. Menciona que el virus GV de *Cydia pomonella* tiene un espectro de hospederos que abarca especies pertenecientes a 2 o mas géneros.

### **Sintomatología**

Las larvas infectadas por baculovirus exhiben un conjunto de síntomas característicos que empiezan a manifestarse uno o varios días después de haberse iniciado la infección (Sciocco, 2001). Al respecto Mazzone (1985), menciona que en una infección causada por baculovirus, las larvas afectadas no presentan síntomas durante los primeros días después de la infección. Los primeros síntomas que se aprecian son cambios de color del tegumento y del comportamiento de larvas (Vasconcelos *et al.*, 1996a). Las larvas pierden el apetito y poco después dejan de

alimentarse por lo que crecen mas lentamente. La muerte se produce por la ruptura de la cutícula y la licuefacción de los órganos del hospedero (Federici, 1997; Toprak y Gürkan, 2004). En las larvas muertas o moribundas el tegumento es generalmente muy frágil y se rompe con facilidad, liberando el contenido liquido con millones de COs (Granados y Williams, 1986).

Los signos y síntomas de infección producida por baculovirus se hacen evidentes en estados avanzados de la enfermedad. En general, se observa primeramente un cambio de coloración, debido a la acumulación de cuerpos de inclusión en los tejidos afectados. Esta sintomatología es más notoria en aquellas especies que presentan una cutícula muy 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 (Tanada y Kaya, 1993).

En el caso particular de lepidópteros, se observa que las larvas tienden a alejarse de su fuente de alimentación, emigrando hacia la parte superior de la planta donde mueren colgando de sus espuripedios. La aparición de los primeros síntomas de enfermedad y el tiempo letal dependen de una serie de factores, tales como: virulencia del aislamiento, dosis ingerida, edad larval, temperatura y estado nutricional (Sciocco, 2001).

En infecciones causadas por GVs, además de los factores citados, el tiempo letal depende del tipo de GV de que se trate y así, el comportamiento de los granulovirus del tipo II (infecciones poliorganotróficas) es similar al de los NPVs mientras que la velocidad de acción de los pertenecientes al tipo I (infecciones monoorganotróficas) es menor (Sciocco, 2001).

### **Ciclo de infección**

El ciclo de vida de los baculovirus en la naturaleza comienza con la ingestión de los COs presentes en la dieta contaminada por las larvas al alimentarse (Kikhno *et al.*, 2002). La poliedrina o granulina cristalina se disuelve en el medio alcalino del intestino medio liberando viriones que infectan las células del intestino medio y virus progenie de esta infección primaria, estableciendo la infección secundaria de otros tejidos dentro del hospedero (Harrison y Bonning, 2000). En otras palabras los ODVs



pasan por la membrana peritrófica e infectan las células del intestino medio de las larvas y en seguida la infección del núcleo de las células del intestino medio. Los BV de los virus son producidos y diseminados por todo el hospedero (Toprak *et al.*, 2005). Al respecto Murray y Elkinton (1992); Vasconcelos *et al.*, 1996a; Toprak *et al.*, 2005), mencionan que las larvas tienen una mortalidad acentuada, distanciándose de la planta alimenticia o migrando para lo alto de la misma donde mueren típicamente colgando de sus patas abdominales “pseudópodos” en la forma de una “V” invertida.

Durante este ciclo se producen dos fenotipos diferentes de viriones con idéntico genotipo (Blissard, 1996; Toprak y Görkan, 2004). 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, provocando la infección secundaria que dará como resultado final la generación de nuevos cuerpos de inclusión y, eventualmente, la muerte de los insectos afectados. Los primeros que se producen durante el ciclo de infección brotan de la membrana plasmática y reciben el nombre de virus brotantes, mientras que en etapas tardías se observa la formación de viriones rodeados por una matriz proteica pseudocristalina, que se acumula en la célula como cuerpos de inclusión que contienen una o más nucleocapsides envueltas.

**Infección primaria.**- La forma más común de inicio de la infección primaria es por ingestión de los cuerpos de inclusión presentes como contaminantes en el alimento de las larvas (Granados y Williams, 1986). Otras vías de entrada e infección incluyen la transmisión transovárica o por contaminación superficial de los huevos al ovipositar las hembras infectadas (Kukan, 1999); el paso a través de los espiráculos (Kirkpatrick *et al.*, 1994; citado por Sciocco, 2001) y el parasitismo (Caballero *et al.*, 1991), aunque estos últimos mecanismos no se consideran de importancia ya que la frecuencia de ocurrencia es relativamente baja. Una vez ingeridos los cuerpos de inclusión, debido a la alta alcalinidad presente en los jugos intestinales del insecto hospedero (pH 9.5-11), llega primeramente al lumen del intestino medio. Se produce la hidrólisis de la proteína mayoritaria de los cuerpos de inclusión, facilitada por la acción de una proteasa alcalina y se liberan los viriones envueltos (Granados y Williams 1986).

**Infección secundaria.-** La diseminación de la enfermedad dentro del hospedero es causada por la progenie de virus brotantes que infectan células vecinas y diversos tejidos, según el aislamiento del virus de que se trate. Los viriones brotados atraviesan la membrana basal para iniciar la infección secundaria (Granados y Lawler, 1981). Una vez producida esta infección secundaria, desde cada sitio de infección inicial se produce la dispersión de la enfermedad de célula en célula (Monsma *et al.*, 1996).

### **Transmisión**

Proceso por el cual el patógeno pasa de un hospedero infectado a otro susceptible (Anderson y May, 1982). La transmisión de baculovirus es primordialmente directa, esto es, ocurre sin la necesidad de agentes intermediarios (vectores), siendo la adquisición del patógeno resultante de una interacción hospedero-hospedero o hospedero-ambiente (Andreadis, 1987).

### **Transmisión horizontal**

Representa la transmisión de la enfermedad entre individuos de la misma generación, principalmente a través del consumo de follaje contaminado con COs originarios de un cadáver infectado.

### **Transmisión horizontal directa**

Inicia típicamente por vía oral, por la ingestión de alimento contaminado, partículas de suelo o heces conteniendo cuerpos de inclusión, o por canibalismo de individuos infectados (Hernández - Crespo *et al.*, 1999). Donde la liberación del inóculo ocurre tras la desintegración del cadáver (Hunter-Fujita *et al.*, 1998).

### **Transmisión horizontal mediante vectores**

Los parasitoides pueden actuar como vectores mecánicos, transmitiendo el virus de un hospedero infectado a uno sano (Entwistle, 1982; Brooks, 1993). La transmisión ocurre a través de la contaminación del ovipositor del parasitoide después de una picada en un insecto infectado y la subsecuente introducción del ovipositor contaminado en el hospedero sano, ya que los viriones pueden ser inyectados directamente en el hemocéle y desencadenar una infección en el hospedero.

### **Transmisión vertical**

Consiste en la transferencia del virus del adulto a la progenie, mediante la contaminación o infección del huevo o embrión. Esta transmisión ocurre vía hembra en insectos (Jackson *et al.*, 1992). Debido a que es común que la hembra contamine superficialmente los huevos o el follaje alrededor de ellos, en el acto de la puesta.

### **Transmisión transestadial o intratransmisión**

Considerado por algunos autores como el paso del virus de un estado de desarrollo para el siguiente como de huevo a larva y de larva a adulto que hace referencia a la persistencia de la infección (virus) dentro de diferentes estadios del mismo individuo infectado.

### **Dispersión**

Los baculovirus dependen de factores bióticos y abióticos para lograr su dispersión y/o diseminación.

#### **Dispersión por factores abióticos**

La dispersión abiótica de los baculovirus ocurre principalmente a través del viento y lluvia. A través del viento se dispersan los COs del suelo al follaje y viceversa donde pueden ser ingeridos por el hospedero, lo cual ayuda a establecer nuevos focos de infección (Hostetter y Bell, 1985; Olofsson, 1988). Fuertes corrientes de viento pueden llevar hospederos infectados, enemigos naturales contaminados u hojas conteniendo cadáveres a hacia otras regiones (Dwyer y Elkinton, 1995). La lluvia contribuye a la dispersión del virus al humedecer y ablandar los cadáveres infectados, llevándolos hacia las hojas inferiores de la planta, contaminando una mayor área de follaje y el suelo (Doane, 1970; D'Amico y Elkinton, 1995).

#### **Dispersión por factores bióticos**

Insectos adultos contaminados superficialmente o con una infección subletal pueden diseminar baculovirus a distancias considerables con la subsecuente transmisión a la progenie de estos (Jackson *et al.*, 1992; Vail *et al.*, 1993).

Entre los depredadores vertebrados, las aves son los mas eficientes diseminadores de baculovirus debido a su capacidad de vuelo y alta tasa metabólica que

les permite excretar virus viable en las heces después de 30 minutos de haber ingerido la larva infectada (Edwinstle *et al*, 1977 a., 1993). Además se cree que la probabilidad de depredación aumenta por la mayor visibilidad de las larvas infectadas que en general asumen coloración blanquizca y migran para partes altas y extremas de la planta.

Independientemente de la especie depredadora, su importancia en la dispersión de baculovirus depende de tres factores: i) el grado de aceptación de presas infectadas como alimento; ii) el efecto del paso del virus a través del sistema digestivo del depredador, y iii) el comportamiento interactivo, o sea el grado de contacto entre el depredador y el hospedero susceptible, para que pueda ocurrir la transmisión (Vasconcelos *et al.*, 1996 b).

### **Persistencia**

Los COs permiten la supervivencia fuera del hospedero por periodos relativamente largos en diversos ambientes, especialmente en el suelo. Por otro lado existen otros mecanismos por los cuales el virus puede mantenerse en la población, como infecciones latentes o subletales.

### **Persistencia fuera del hospedero**

El suelo es el principal reservorio, lo que se explica por la licuefacción y caída de cadáveres, por la acción de la lluvia lavando los COs verticalmente y por las hojas contaminadas con restos de insectos infectados.

Las plantas son ambientes extremadamente complejos para la supervivencia de entomopatógenos. Así las características morfológicas y químicas, asociadas al grado de protección contra la luz UV determinan la supervivencia de los COs que pueden permanecer en la superficie de hojas, frutos y troncos (Clark, 1955). El virus puede ser protegido aun mas por la flora epifita, los desechos resultantes de la alimentación del insecto o en los nidos de seda conteniendo larvas vivas o cadáveres (Evans y Harrap, 1982).

Debido a que la hoja es el medio sobre el cual el virus es generalmente ingerido, y justamente el medio mas expuesto a la UV, la lluvia y los exudados de la planta, la cuantificación de la persistencia del virus en este sitio es fundamental.

### **Persistencia en el hospedero**

El virus puede permanecer en el hospedero sin causar efecto tangible (latencia) o puede causar algún efecto perjudicial al individuo a su progenie, en el caso de infecciones subletales.

La latencia consiste en una infección en la cual el hospedero no demuestra síntomas de la enfermedad; el virus puede o no integrarse en el genoma del hospedero y generalmente se produce un bajo nivel de transcripción de genes víricos. La infección latente representa la asociación más íntima y benigna que puede existir entre el virus y la célula hospedera, no obstante el virus latente puede ser activado a su forma virulenta por varios tipos de estrés: la superpoblación o baja temperatura o por el tipo de alimento suministrado al insecto (Himeno *et al.*, 1973, Biever y Wilkinson, 1978).

### **Factores ambientales que afectan la persistencia de los baculovirus**

Dentro de los componentes que influyen en la dinámica de la infección se encuentran factores abióticos (radiación solar, lluvia, temperatura, propiedades físico-químicas del suelo) y bióticos (características de la planta hospedera, la actividad de microorganismos saprófagos, etc).

#### **Radiación solar**

La radiación solar representa el factor ambiental más crítico para supervivencia de todos los entomopatógenos. El espectro de la luz visible (390-770 nm) parece tener poco efecto sobre los baculovirus y estos efectos disminuyen a medida que se aumenta la amplitud de onda (Entwistle y Evans, 1985).

La banda de luz ultravioleta (UV), inferior a 390 nm, es el responsable de la desactivación gradual del virus especialmente cuando los cuerpos de inclusión son expuestos a amplitudes de ondas de 290 a 315 nm (Richards y Payne, 1982; Killick, 1990). Los efectos de la radiación en sistemas biológicos se deben principalmente a la absorción de rayos UV por los ácidos nucleicos o en menor escala, por otras macromoléculas (Harm, 1980). El tiempo para la inactivación depende del virus, de la protección vegetal y de las características del suelo.

Según Ignoffo *et al.* (1977), dentro de su escala de sensibilidad UV propuesta, mencionan que los granulovirus son más susceptibles que los Nucleopolyhedrovirus y que en general los baculovirus con cuerpo de inclusión son menos resistentes que los entomopoxvirus. A pesar de la mayor protección al virus conferida por las plantas de mayor tamaño y densidad foliar, el bombardeo de rayos UV reflejado en la superficie de la hoja permite la penetración, de cierta cantidad de radiación, aún en las áreas más internas de la planta (Entwistle y Evans, 1985).

### **Temperatura y humedad**

La temperatura afecta a dos aspectos de la enfermedad en una población de insectos: la supervivencia del patógeno fuera del hospedero y el desarrollo de la enfermedad en individuos infectados. Temperaturas extremadamente elevadas pueden inactivar el baculovirus antes de que éstos alcancen al hospedero (Fuxa, 1995), o reducir la susceptibilidad del insecto a la infección, probablemente por disminuir la actividad de la larva o mediante una menor adsorción o penetración del virus en la célula (Benz, 1987). Por otro lado, temperaturas altas tienden a acelerar la muerte del insecto afectado, y con ello, la productividad del virus en el hospedero es reducida, disminuyendo el inóculo disponible para la transmisión posterior (Entwistle y Evans, 1985).

La mayoría de los baculovirus se multiplican mejor entre 24 y 29° C y no soportan temperaturas superiores a los 60° C. La inactivación del virus a temperaturas elevadas parece resultar de la descompensación de sus macromoléculas (Shieh, 1989). El virus puede acumularse en las hojas, ramas y troncos de los árboles (Evans y Harrap, 1982).

**Protección de Frutos de Manzano con el Virus de la Granulosis de *Cydia pomonella* L.  
(Lepidoptera: Tortricidae)**

**Víctor M. Sánchez Valdez, Claudio Rios Velasco, Eugenio Guerrero Rodríguez (†),  
Gabriel Gallegos Morales.**

Dpto. de Parasitología. UAAAN. 25315 Buenavista, Saltillo, Coah., Tel. Fax. 4 11 02 26

**Félix de Jesús Sánchez Pérez.**

Depto. De Estadística y Cálculo. UAAAN. 25315. Buenavista, Saltillo, Coah., Tel. 4 11 02 93

**Abstract**

*Apple protection fruit with Cydia pomonella granulovirus* (Lepidoptera: Tortricidae). The efficiency of CpGV against codling moth (CM) was tested in an experimental apple orchard at Jamé, Arteaga, Coahuila, Mexico in 2006. The CpGV influence treatments on injury reduction to fruit was evaluated during the 1<sup>st</sup> CM generation. The concentrations used were between  $7.7 \times 10^{11}$  to  $3.3 \times 10^{12}$  granules/ha, and 1 to 3 applications for the 1<sup>st</sup> CM generation. The CpGV treatments effectively reduced the CM injury levels that oscillated between 0.19 % to 1.95 % compared with the internal and external controls on which the injuries were from 6.50 % to 9.98 %. According to the obtained results the smaller concentrations of CpGV are efficient as well as they are applied the day of the first instar larval emergency (1<sup>st</sup>), date determined by means of a prediction system.

Key words: *Granulovirus*, *Cydia pomonella*, CpGV, Codling moth.

**Resumen**

Se evaluó la eficiencia de CpGV contra palomilla de la manzana (PM) empleado en un huerto de manzano de Jamé, Arteaga, Coahuila, México durante el 2006. La influencia de los tratamientos de CpGV en reducción del daño a fruto fue evaluado durante la primera generación de PM. Las concentraciones empleadas oscilaron entre  $7.7 \times 10^{11}$  a  $3.3 \times 10^{12}$  gránulos/ha, y de 1 a 3 aplicaciones para la primera generación. Los tratamientos de CpGV fueron efectivos reduciendo el daño de PM a niveles que oscilaron entre 0.19 % a 1.95 % comparado con los testigos interno y externo los cuales presentaron daños de 6.50 % a 9.98 %. De acuerdo a los resultados obtenidos las concentraciones menores de CpGV son eficientes siempre y cuando se apliquen el día de la emergencia de las larvas de primer estadio (L1), fecha determinada mediante un sistema de predicción.

Palabras clave: *Granulovirus*, *Cydia pomonella*, CpGV, Palomilla de la Manzana.

## Introducción

El manzano (*Malus domestica* Borkh) es uno de los frutales de clima templado de mayor importancia en México, con 62,000 ha cultivadas (SAGARPA, 2005). El estado de Coahuila participa con 7,070 ha, (11.40 %), donde la Sierra de Arteaga, es la principal zona productora de manzana aportando el 97 % de la producción estatal (SAGARPA, 2005).

La palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae), es una plaga clave mundial del manzano (Cardé y Minks, 1995; Dorn *et al.*, 1999). En el estado de Coahuila incide en todos los huertos donde se cultiva este frutal, causando daños que oscilan de un 20 a 70 % en huertos sin ningún control y del 5 a 20 % en huertos donde se descuida el control sobre una de las dos generaciones que ocurren por año (Sánchez *et al.*, 2000).

Los baculovirus son patógenos específicos de invertebrados que se emplean como bioinsecticidas para el control de insectos plaga, particularmente especies del orden Lepidoptera (Black *et al.*, 1997).

El granulovirus de *C. pomonella* (CpGV) aislado de huertas de manzana en México (Tanada, 1964), fue virulento a dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de 1 a 5 cuerpos de inclusión (COs) para larvas del primer estadio (Allaway y Paine, 1984; Huber, 1986). Esta alta patogenicidad y virulencia causa un daño total a la larva infectada, principalmente debido a su capacidad poliorganotrópica (Ibarra y Del Rincón, 2001). Después de la ingestión de CpGV por la larva de la palomilla, el gránulo se disuelve en el intestino medio alcalino y lanza los viriones que inician la infección en las células epiteliales del intestino medio, donde, se replica y se extiende a través de los tejidos principales del cuerpo, conduciendo a la muerte del hospedero (Federici, 1997; Thiem, 1997). Los viriones derivados de cuerpos de inclusión (ODVs) pasan por la membrana peritrófica e infectan las células del intestino medio de las larvas y en seguida la infección del núcleo de las células del intestino medio. Los viriones brotados (BV) de los virus son producidos y diseminados por todo el hospedero (Toprak *et al.*, 2005).

Para el caso particular de manzano se ha recibido mayor atención al CpGV para su desarrollo como bioinsecticida debido a su potencial como agente de control biológico contra PM (Crook, 1991), pero a la vez inofensivo para otros organismos. Debido a estas características, el granulovirus de *C. pomonella* CpGV se utiliza con frecuencia para el



control biológico de esta plaga en manzanos de los EUA y Europa (Hunter-Fujita *et al.*, 1998; Biache *et al.*, 2000). Además de la eficiencia demostrada en campo permite compararla con insecticidas químicos en su capacidad de controlar el daño de *C. pomonella* en las manzanas (Charmillot *et al.*, 1991; Stará y Kocourek, 2003).

En México el control de *C. pomonella* se basa en la aplicación de pesticidas con el sistema de pronóstico con resultados satisfactorios en cuanto a efectividad, sin embargo el uso intensivo de plaguicidas ha repercutido en la eliminación de fauna benéfica. La demanda de alimentos orgánicos a mejorado el precio en el mercado, por lo que ha obligado a la búsqueda de nuevas alternativas eficaces de control, con diferente modo de acción, de bajo riesgo para trabajadores agrícolas, consumidores y de bajo impacto ambiental como el CpGV que puede utilizarse como estrategia para reducir el riesgo de desarrollo de resistencia, contaminación ambiental y problemas de salud en el consumidor.

El presente estudio consistió en determinar el efecto de concentraciones menores a las recomendadas comercialmente del CpGV en larvas de *C. pomonella*, ya que este, tiene un alto potencial para ser utilizado como insecticida biológico si los costos se reducen usando dosis bajas pero efectivas en el control de la plaga.

## **Materiales y Métodos**

### **Sitio experimental**

El trabajo experimental fue realizado en el año 2006 en un huerto de manzano con variedades Golden y Red Delicious de  $10 \pm 2$  años de edad, localizado en Jamé, Municipio de Arteaga, Coahuila ( $25^{\circ} 21' 59''$  latitud norte y  $100^{\circ} 37' 11''$  longitud oeste y 2280 msnm). Las temperaturas máximas y mínimas diarias apartir del 1° de abril al 29 de julio de 2006, se obtuvieron de la estación meteorológica de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), localizada a 100 m del sitio experimental.

### **Diseño experimental**

En la aplicación contra la primera generación se utilizó un diseño de bloques al azar con 11 tratamientos, dentro de éstas un testigo absoluto, además de contar con un testigo externo. Cada tratamiento constó de cinco repeticiones conformándose en total 60 unidades

experimentales. Cada árbol de manzano constituyó una unidad experimental, cuya fronda fue asperjada y sus frutos evaluados para establecer diferencias entre tratamientos. En todos los muestreos se utilizaron los mismos árboles marcados para darles seguimiento.

### **Monitoreo de Adultos de *C. pomonella*.**

Para implementar la aplicación de CpGV se buscó dirigir la aplicación a larvas neonatas. Por tanto, para pronosticar la eclosión de las larvas de primer estadio se recurrió al sistema de predicción por unidades calor a partir del punto de referencia biológico (Biofix) establecido en el modelo grados-día para la palomilla de la manzana (Sánchez *et al.*, 2000) y así realizar la aplicación de CpGV. Para este fin se colocaron dos trampas de ala Centurion<sup>®</sup> cebadas con Codlemone 1X, en la parcela experimental y otra en el testigo absoluto, para registrar el vuelo pico de palomillas. Una vez registrado el vuelo pico se pronosticó la acumulación de 120 unidades calor (UC), momento en el cual eclosionan los huevecillos de PM. Las trampas fueron colocadas a una altura aproximada de 1.70 m dentro de la fronda del árbol y revisadas dos veces por semana durante el desarrollo del experimento.

### **Aplicación de CpGV**

Las aplicaciones de CpGV se realizaron con base al producto Granupom<sup>®</sup>. Estas preparaciones fueron aplicadas en el 2006, usando una aspersora motorizada con capacidad de 25 L de mezcla y calibrada para asperjar un gasto de 1000 L/ha. El follaje fue cubierto a punto de goteo. Las concentraciones de CpGV se enlistan en el Cuadro 1. La concentración alta ( $3.3 \times 10^{12}$  gran. /ha) fue usada para el tratamiento de 150 mL, del producto por ha, aplicado tres veces, mientras que los otros tratamientos recibieron dosis inferiores (Cuadro 1). Las dosis evaluadas a base de CpGV fueron distribuidas en una superficie de 0.6 ha en árboles de manzana de las variedades Golden y Red Delicious. Dentro de esta parcela se eligieron cinco árboles para el testigo interno en forma aleatoria; además fuera de esta parcela se colocó un testigo externo sin tratamiento en árboles de la variedad Red Delicious (0.5 ha a 200 m de distancia de la parcela tratada). Considerando la persistencia del virus en la naturaleza, las aplicaciones se realizaron en intervalos de 10 días coincidiendo con los picos secundarios de PM.

**Cuadro 1.** Numero de aplicaciones, dosis experimentales y concentraciones de CpGV en Jamé, Arteaga, Coahuila. 2006.

Fechas de aplicación y Tratamientos (mL)		
<u>01 de mayo</u>	<u>10 de mayo</u>	<u>20 de mayo</u>
150 <u>a/</u>	150	150
150	150	—
150	—	—
75 <u>b/</u>	75	75
75	75	—
75	—	—
150	75	75
150	75	—
75	35 <u>c/</u>	35
75	35	—
TESTIGO INTERNO S/A <u>d/</u>		
TESTIGO EXTERNO S/A <u>e/</u>		

a/ 150 mL =  $3.3 \times 10^{12}$  gran./ha de CpGV

b/ 75 mL =  $1.65 \times 10^{12}$  gran./ha de CpGV

c/ 35 mL =  $7.7 \times 10^{11}$  gran./ha de CpGV

d/ = En la parcela experimental sin aplicación (S/A)

e/ = En otra huerta sin aplicación (S/A)

### Variable evaluada

La eficiencia de los tratamientos a base de CpGV fue determinada mediante la evaluación del daño al fruto por unidad experimental, realizando un muestreo de frutos semanalmente después de cada aplicación, durante ocho fechas de muestreo del 07 de mayo al 24 de junio de 2006. La evaluación consistió en revisar todos los frutos por árbol en cada fecha de muestreo, contabilizándose aquellos que presentaban perforaciones con excretas al exterior del fruto. Los frutos fueron retirados para corroborar el daño en laboratorio, medir el desarrollo de la galería (superficial o profunda) y cuantificar el número de frutos dañados expresados en porcentaje acumulado, donde también fueron incluidos frutos caídos.

### Análisis estadístico

A los datos de frutos barrenados por larvas de *C. pomonella*, expresados en porcentaje de daño acumulado a través de las diferentes fechas de muestreo, se les aplicó la prueba de Friedman y una prueba de comparación de medias LSD ( $P \leq 0.05$ ).

## Resultados y Discusión

### Fluctuación de adultos de *C. pomonella*

Durante el 2006 se presentó una alta densidad poblacional de PM caracterizada por seis eventos picos de captura en las trampas (fig 1). Se tomaron los tres primeros picos detectados los días 9, 19 y 27 de abril como referencias biológicas para pronosticar las fechas de aplicación del CpGV y proteger los frutos de manzano durante la primera generación de PM. Durante el periodo de vuelo de adultos y eclosión de huevecillos se presentaron días nublados con cuatro días de precipitación lo que favoreció la persistencia y dispersión del virus (Fig. 1).

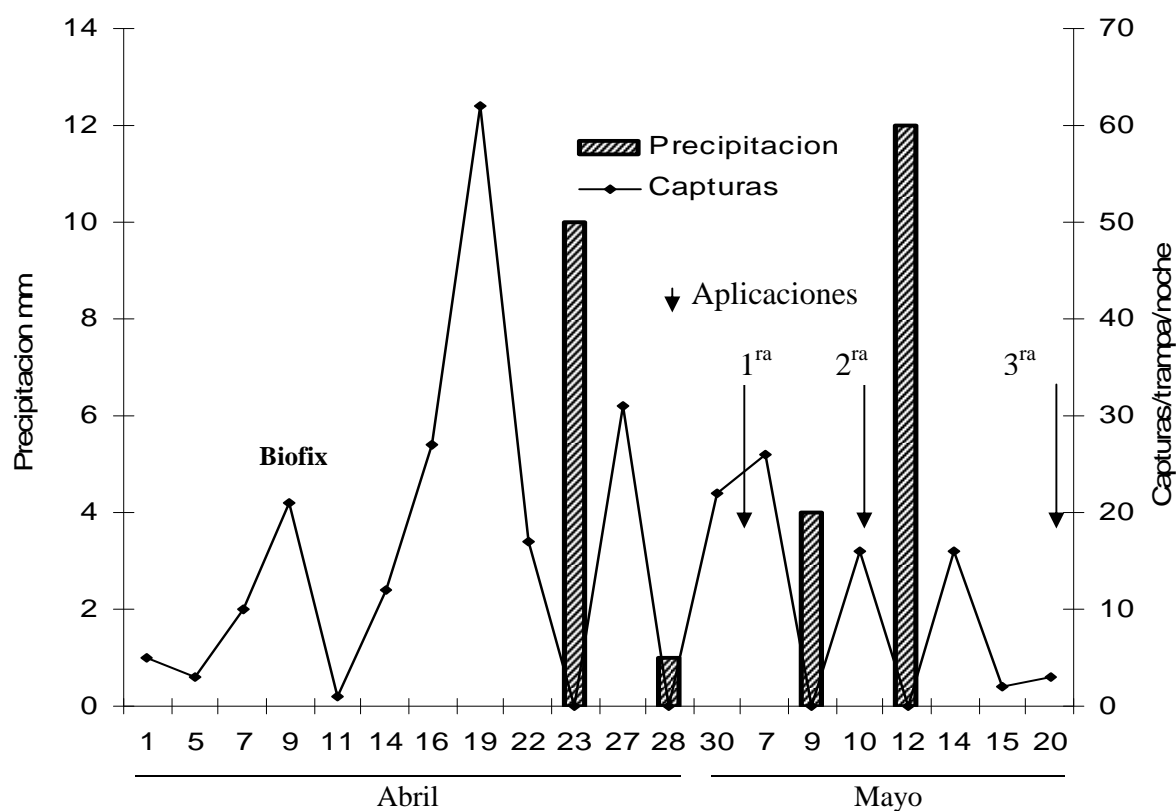


FIG 1. Fluctuación de adultos de *C. pomonella* L. de la primera generación y precipitación pluvial (2006).

### **Daño acumulado al fruto causado por palomilla de la manzana en ocho fechas de muestreo**

Los tratamientos a base de CpGV redujeron el daño por PM en comparación a los testigos interno y externo. El análisis estadístico empleando la prueba de Friedman ( $P \leq 0.05$ ), revela la diferencia entre los tratamientos separando dos grupos estadísticos; Uno de ellos marcados con la letra A incluye los dos testigos dentro y fuera del área experimental con un porcentaje de daño que osciló entre 6.50 % y 9.98 % de frutos barrenados al final de la primera generación de PM (Cuadro 2). El segundo grupo estadístico marcado con la letra B incluye al resto de los tratamientos a base de granulovirus ya sea con una, dos o tres aplicaciones por generación y en diferentes dosis. El daño registrado en dichos tratamientos osciló entre 0.19 % y 1.95 % de frutos perforados (Cuadro 2 y 3).

La presencia del virus CpGV fue un factor determinante en la reducción de frutos barrenados por PM, independientemente del número de aplicaciones y las tres dosificaciones evaluadas. Los resultados de los tratamientos con una sola aplicación a dosis de 150 mL y 75 mL donde solo aplicó  $1.65 \times 10^{12}$  y  $3.3 \times 10^{12}$  de CpGV (Granupom<sup>®</sup>) fueron suficientes para proteger los frutos de larvas de primer estadio (L1) durante el periodo de 35 días. Estas dosis se encuentran dentro de las preparaciones recomendadas que generalmente oscilan entre  $10^{11}$  gránulos/ha a  $5 \times 10^{13}$  gran. /ha (Sheppard y Stairs, 1976; Audemard *et al.*, 1992; Charmillot, 1989).

Glen y Payne (1984), reportan una reducción del número de larvas maduras y daño a fruto, utilizando una dosis de  $7 \times 10^{10}$  capsulas de CpGV/L. Al respecto Jaques *et al.* (1994), mencionan que en Nueva Escocia donde se presentó una sola generación de *C. pomonella* al año fueron necesarias dos aplicaciones de CpGV y en algunos casos, una sola aplicación fue suficiente para reducir el daño. Por lo que el número de aplicaciones de las preparaciones de CpGV dependerán principalmente de la densidad poblacional de la palomilla de la manzana y del número de generaciones en la región (Huber y Dickler, 1977; Jaques, 1994).

**Cuadro 2.** Porcentaje acumulado de daño en frutos causado por larvas de *Cydia pomonella* L. durante 8 fechas de muestreo en la primera generación en Jamé, Arteaga, Coahuila. 2006.

Tratamiento mL CpGV	Número Inicial de frutos	% Frutos dañados				Total *	
		Con daño superficial (1-5 mm)	Con daño profundo (> 5 mm)				
			Sin larvas	Con larvas			
				Sanas	Enfermas		
TESTIGO EXT.	1683	0.00	2.38	7.60	0.00	9.98	A
TESTIGO INT.	2462	0.00	1.38	5.12	0.00	6.50	A
75,35	1794	0.23	0.61	1.00	0.11	1.95	B
150,150	2342	0.26	0.47	0.21	0.04	0.98	B
150,75	2067	0.15	0.24	0.19	0.05	0.63	B
150, 150, 150	2438	0.08	0.25	0.20	0.08	0.61	B
150	1971	0.05	0.11	0.15	0.25	0.56	B
75	1907	0.16	0.00	0.26	0.00	0.42	B
75,35,35	1828	0.05	0.06	0.16	0.11	0.38	B
150,75,75	1938	0.00	0.10	0.06	0.15	0.31	B
75,75,75	2216	0.23	0.00	0.04	0.00	0.27	B
75,75	2095	0.05	0.05	0.09	0.00	0.19	B
$\bar{x}$ TESTIGOS	2072.5	0.00	1.88	6.36	0.00	8.24	
$\bar{x}$ CpGV	2059.6	0.126	0.189	0.236	0.079	0.63	

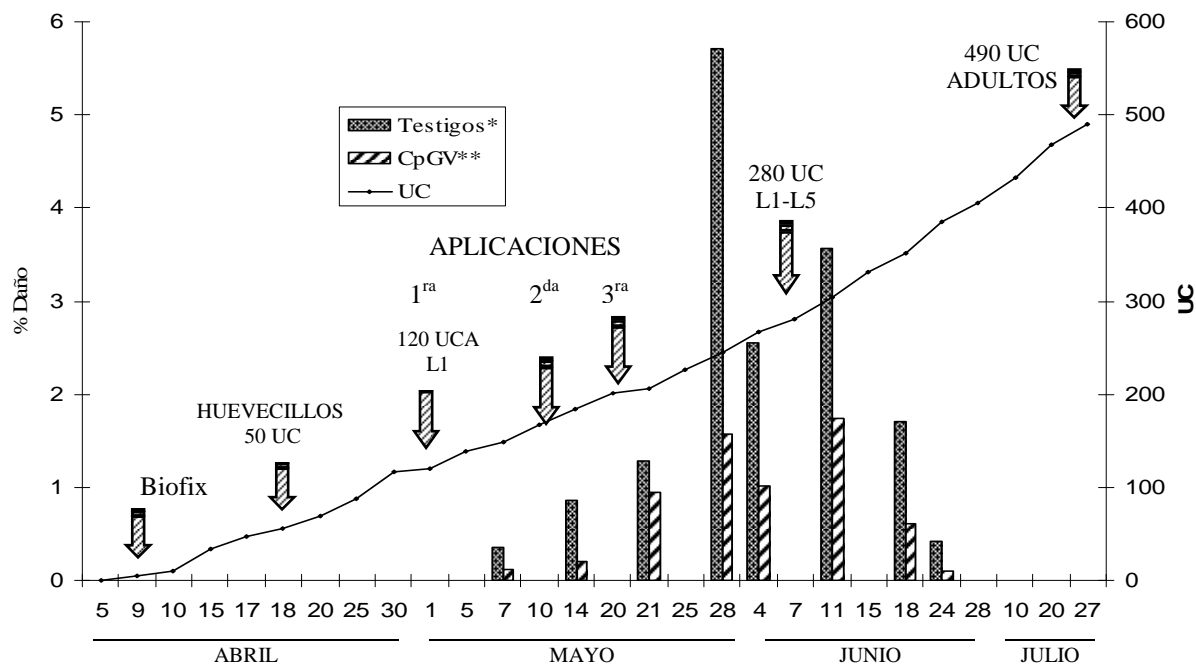
Total= Daño acumulado de frutos expresado en porcentaje.

\* Los tratamientos marcados con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a LSD ( $P \leq 0.05$ ).

**Cuadro 3.** Porcentaje de frutos dañados por larvas de *Cydia pomonella* L. por fecha de muestreo y porcentaje acumulado en la primera generación en Jamé, Arteaga, Coahuila, México.

TRATAMIENTO mL CpGV	MAYO				JUNIO				% Daño acumulado	
	07	14	21	28	04	11	18	24		
TESTIGO EXT.	0.12	0.71	0.36	3.56	1.54	2.26	1.13	0.30	*9.98	A
TESTIGO INT.	0.24	0.16	0.93	2.15	1.02	1.30	0.57	0.12	*6.50	A
75,35	0.06	0.06	0.22	0.72	0.06	0.50	0.28	0.05	*1.95	B
150,150	0	0.04	0.09	0.21	0.30	0.21	0.13	0	0.98	B
150,75	0.05	0	0.05	0.34	0.09	0.05	0.05	0	0.63	B
150, 150, 150	0	0	0.08	0.20	0	0.29	0.04	0	0.61	B
150	0	0	0.15	0	0.15	0.25	0	0	0.56	B
75	0	0	0.05	0	0.32	0.05	0	0	0.42	B
75,35,35	0	0	0.16	0.05	0.06	0	0.11	0	0.38	B
150,75,75	0	0.05	0	0	0	0.21	0	0.05	0.31	B
75,75,75	0	0	0.14	0	0.04	0.09	0	0	0.27	B
75,75	0	0.05	0	0.05	0	0.09	0	0	0.19	B

\*Daño por arriba del nivel de daño económico (1 %).



\*La expresión del daño en las barras del testigo corresponden a la suma de los testigos interno y externo.

\*\* La expresión del daño en las barras del CpGV corresponde a la sumatoria de los 10 tratamientos con granulovirus.

FIG 2. Acumulación de unidades calor, ocurrencia de eventos fenológicos de *Cydia pomonella* L., fechas de aplicación de los tratamientos y ocurrencia del daño en los dos testigos y en los tratamientos a base de CpGV.

El daño promedio de los 10 tratamientos a base de diferentes concentraciones de CpGV fue de 0.63 % (Cuadro 2 y 3). Donde el daño más alto en frutos fue registrado en el tratamiento (75 mL, 35 mL) con un 1.95 % de frutos barrenados y el daño mas bajo se obtuvo en el tratamiento de 75 mL, 75 mL con un daño de 0.19 % de frutos barrenados (Cuadro 2). Estos resultados están por abajo de los obtenidos por Stará and Kocourek (2003), donde el daño a fruto fue de 4.2 % en la parcela tratada con CpGV. Aún cuando ambos tratamientos presentan igualdad estadística, desde el punto de vista económico la parcela con 1.95 % de daño por arriba del nivel de daño económico para esta plaga; mientras que el tratamiento con 0.19 % de daño esta en el rango permitido para el cultivo del manzano.

Al evaluar el daño al fruto se consideró la dimensión de la galería y su profundidad en las parcelas tratadas con CpGV. De esta manera se detectó daño superficial de 1 a 5 mm en un porcentaje de frutos que osciló de cero a 0.26 % durante la primera generación de *C. pomonella* (Cuadro 2). Lo anterior significa que una proporción de larvas de 0 a 0.26 % de primer estadio llegó al fruto, ingirió en el virus en el mordisqueo inicial y murió bajo la

epidermis, sin tener la posibilidad de desarrollar la galería en dirección a los lóculos de semillas. Stará y Kocourek (2003), registraron una proporción de daño superficial de 3.1 a 4.2 %. Si bien es cierto que el tratamiento logra su objetivo de matar a la larva, esta deja un daño físico mínimo. En cambio en el testigo interno y externo, sin aplicación de CpGV, no se detectaron frutos con daño superficial y la larva por estar sana siempre alcanzó la zona de semilla. En promedio la proporción de entradas superficiales de los 10 tratamientos a base de CpGV fue de 0.126 % y 0.504 % de entradas profundas, de este último en 0.189 % no se encontraron larvas, mientras que en el resto del promedio (0.315 %) presentaron larvas vivas, de las cuales el 0.079 % estaban enfermas por el virus de CpGV (Cuadro 2). Al respecto Stará and Kocourek (2003), encontraron en promedio una proporción más alta de entradas superficiales de 6.1 %. En contraste, los daños profundos más altos fueron encontrados en los testigos interno y externo que osciló entre 6.50 % y 9.98 % de frutos barrenados (Cuadro 2).

Se observó que el empleo de CpGV aumenta la incidencia de entradas superficiales en frutos, tal como lo reporta Jaques, (1994), esto refleja el efecto de CpGV sobre las larvas neonatas de PM muertas sobre y bajo la epidermis del fruto. Los granulovirus (CpGV) matan a las larvas lentamente, ya que requieren de un periodo de incubación que ocurre en las primeras 36 horas después de la ingestión, permitiendo que causen daño superficial en la epidermis antes de morir algunas penetran y mueren dentro de la manzana (Falcon *et al.*, 1968). Sin embargo si estas lesiones son causadas por larvas de la primera generación de la PM, pueden sanar y llegar hasta cosecha (Huber y Dickler, 1977).

La efectividad de CpGV a una, dos o tres aplicaciones esta más influenciada por el tiempo de aplicación usando el sistema de predicción por unidades calor, el cual consiste en realizar los tratamientos justo el día en que nacen las larvas de primer estadio; se requiere 120 UC a partir del primer evento pico del vuelo de adultos (Biofix). Al respecto Jaques *et al* (1981), mencionan que los primeros estadios larvales de *C. pomonella* se alimentan ligeramente por un corto periodo antes de entrar al fruto, en el cual ya dentro salen hasta completar su desarrollo larvario; al penetrar la larva al fruto lo utiliza como alimento y refugio siendo imposible su control en el interior, por lo tanto la dosis y el tiempo de aplicación del agente de control serán factores críticos en la efectividad del CpGV en el control de esta plaga.



## Conclusiones

Los resultados obtenidos en este ciclo señalan que no existe diferencia entre dosificaciones de CpGV (150, 75, 35 mL) y número de aplicaciones requeridas para el control de *C. pomonella*, si los tratamientos se asperjan a las 120 UC después de un vuelo pico.

Una sola aplicación o la dosis más baja de CpGV asperjada el día del nacimiento de las larvas de primer estadio, son suficientes para proteger los frutos de manzano. Por lo que el uso de CpGV debe ir acompañado de un sistema de pronóstico.

## Literatura Citada

- Allaway, G.P. y C.C. Payne. 1984. Host range and virulence of five baculoviruses from lepidopterous hosts. *Ann. Appl. Biol.* 105:29-37.
- Audemard H., Burgerjon A., Baundry O., Bergere D., Breniaux D. 1992. Evaluation of 100 trials of carpovirusine, a granulosis virus preparation to control codling moth *Cydia pomonella* L. in apple orchards. *Acta Phytophatol. Entomol. Hung.*, 27: 45–49.
- Black, B. C., L.A. Brennan, P.M. Dierks y I.E. Gard, 1997. Commercialization of baculoviral insecticides. In: Miller, L.K. (ed.), *The Baculoviruses*. Plenum Press, New York. pp. 341-387
- Biache, G., M. Guillon, A.M. Waffelaert. 2000. Mise en evidence des effects differes du virus de la granulose du carpocapse dans un programme de lutte integree. *Acta Hortic.*, 525: 277–281.
- Cardé, R. T. y A. K. Minks. 1995. Control of moth pests by mating disruption. *Ann. Rev. Entomol.* 40: 559-585.
- Charmillot P.J. 1989. Control of the codling moth *Cydia pomonella* L. by means of the granulosis virus. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, 21: 43 – 47.
- Charmillot, P.J., D. Pasquier, and D. Schneidher. 1991. Efficacy and persistence of granulosis virus, phosalone and chlorpyrifos-methyl in the control of codling moth *Cydia pomonella* L. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, 23: 131–134.
- Crook, N. E. 1991. Baculoviridae: subgroup B, In: Kurstak, E. (ed.), *Viruses of invertebrates*. Marcel Dekker INC., NY. p. 73-110

- Dorn, S., P. Schumacher, C. Abivardi and R. Meyhofer. 1999. Global and regional pest insects and their antagonists in orchards: spatial dynamics. *Agriculture, Ecosystems and environment*. 73:111-118.
- Falcon, L.A., W.R. Kane y R.S. Bethell. 1968. Preliminary evaluation of a granulosis virus for control of the codling moth. *J. Econ. Entomol.* 65: 1208-1213.
- Federici B. 1997. Baculovirus pathogenesis. In: Miller, K.L. (ed.): *The Baculoviruses*. Plenum Press, New York. pp. 33–60.
- Glen, D. M. and C.C. Payne. 1984. Production and field evaluation of codling moth granulosis virus for control of *Cydia pomonella* in the United Kingdom. *Ann. Appl. Biol.*, 104: 87–98.
- Huber, J. 1986. Use of baculoviruses in pest management programs. In: Granados, R.R. y B.A. Federici (ed.). *The biology of baculoviruses: practical application for insect control*. CRC Press Inc., Boca Raton, FL. pp. 182-202.
- Huber J., Dickler E. 1977. Codling moth granulosis virus: its efficiency in the field in comparison with organophosphorus insecticides. *J. Econ. Entomol.*, 70: 557–561.
- Hunter-Fujita, F.R., P.F. Entwistle, H.F. Evans, and N.E. Crook. 1998: *Insect viruses and pest management*. John Wiley and Sons, Chichester, UK. United States. 620 p.
- Ibarra, J. E. y C. M. C. Del Rincón, 2001. Capacidad insecticida de los baculovirus. In: *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Phytoma. p 203-220.
- Jaques, R. P., J. E. Laing, C. R. Maclellan, M. D. Proverbs, K. H. Sandford and R. Tottier. 1981. Apple orchard tests of the efficacy of the granulosis virus of the codling moth, *Laspeyresia pomonella* (Lepidoptera: Olethreutidae). *Entomoph.* 26: 111-118.
- Jaques, R. P; J. M. Hardman, J. E. Laing, R.F. Smith and E. Bend. 1994. Orchard trials in Canada on control of *Cydia pomonella* by granulosis virus. *Entomophaga*. 39: 281-292.
- SAGARPA. 2005. Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. Anuario Estadístico de la producción agrícola de los estados unidos Mexicanos. 349 p.
- Sheppard R.F., Stairs G.R. 1976. Effects of dissemination of low dosage levels of a granulosis virus in populations of the codling moth. *J. Econ. Entomol.*, 69: 583–586.
- Sánchez, V. V. M., G.P.A. Cerda, D.F. Martínez y F.J. Landeros. 2000. Manejo integrado de la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L: Manual para productores. UAAAN. Saltillo, Coah. 34 p.

- Stará, J. and F. Kocourek. 2003: Evaluation of efficacy of *Cydia pomonella granulovirus* (CpGV) to control the codling moth (*Cydia pomonella* L., Lep.: *Tortricidae*) in field trials. *Plant Protect. Sci.* 39: 117–125.
- Tanada, Y. 1964. A granulosis virus of the codling moth, *Carpocapsa pomonella* (Linnaeus) (Olethreutidae). *J. Insect. Pathol.* 63: 378-380.
- Thiem, M.S. 1997. Prospects for altering host range for baculovirus bioinsecticides. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8: 317–322.
- Toprak, U., S. Bayram y M.O. Görkan. 2005. Gross pathology of SpliNPVs and alterations in *Spodoptera littoralis* Boisid, (Lepidoptera: Noctuidae) morphology due to baculoviral infection. *J. Agric. Sci.* 11(1):65-71.

## CONCLUSIONES GENERALES

Los resultados obtenidos en este ciclo señalan que no existe diferencia entre dosificaciones de CpGV (150, 75, 35 mL) y número de aplicaciones requeridas para el control de *C. pomonella*, si los tratamientos se asperjan a las 120 UC después de un vuelo pico.

Una sola aplicación o la dosis más baja de CpGV asperjada el día del nacimiento de las larvas de primer estadio, son suficientes para proteger los frutos de manzano. Por lo que el uso de CpGV debe ir acompañado de un sistema de pronóstico.

## LITERATURA CITADA

- Anderson, R. M. y R. M. May. 1982. Population biology of infectious diseases Springer-Verlag, Berlin. 90 p.
- Andreadis, T. G. 1987. Transmission. In: J. R. Fuxa y Y. Tanada (ed.), Epizootiology of infectious diseases. John Wiley & Sons, NY. p. 159-176
- Artigas, J. 1994. Entomologia Economica. Ediciones Universidad de Concepción. Chile. Volumen 1. 1126 pp.
- Batiste, W.C. and A. Berlowitz. 1973. Codling moth and pear psylla: evaluation of insecticides for control on pears in California. J. Econ. Entomol. 66(5):1139-1142.
- Benz, G. A. 1986. Introduction: Historical perspectives. In: Granados R.R. y B.A. Federici (ed.), The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology, Vol. 1. Academic Press. San Diego, USA. Vol I, pp. 1-36.
- Benz, G. 1987. Environment, In: J.R. Fuxa y J. Tanada (ed.), Epizootiology of infectious diseases. John Wiley & Sons, NY. p. 177-214.
- Beers, E. H., J. F. Brunner, M. J. Willet and G. M. Warner (eds). 1993. Orchard pest management. a resource book for Pacific North-west. USA. 276 p.
- Biever, K.D. y J.F. Wilkinson. 1978. A stress-induced granulosis virus of *Pieris rapae*. Environ. Entomol. 7:572-576.
- Biobest N.V. 2005. Biological control: Granupom® is a selective biological insecticide based on the *Cydia pomonella* granulose virus, and is used for the control of the codling moth. 2p.  
<http://207.5.71.37/biobest/en/producten/biopesticiden/granupom.htm>
- Blissard, G. W. y G. F. Rohrmann. 1990. Baculovirus diversity and molecular biology. Annu. 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. Keddie, R. D. Possee, G. F. Rohrmann, D.A. Thielmann y L.E. Volkman. 2000. Family Baculoviridae. En 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 y R.B. Wickner (ed.), Virus taxonomy: seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, New York. Pp 23-45.
- Brooks, W. M. 1993. Host-parasite-pathogen interactions, En N.E. Beckage, S.N. Thompson y B.A. Federici (ed.), Parasites and pathogens of insects, vol. 2. Academic Press Inc., San Diego. p. 231-272.

- Caballero, P., E. Vargas Osuna and C. Santiago-Alvarez. 1991. Parasitization of granulosis virus infected and noninfected *Agrotis segetum* larvae and virus transmission by three hymenopteran parasitoids. *Entomol. Exp. Appl.* 58:55-60.
- Caballero, P. 2001. Estructura y clasificación de los baculovirus. In Caballero, P; Williams, T. y López, M.; Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Phytoma Navarra, España. pp. 10-48.
- Cardé, R. T. and A. K. Minks. 1995. Control of moth pests by mating disruption. *Ann. Rev. Entomol.* 40: 559-585.
- Clark, E.C. 1955. Observations on the ecology of a polyhedrosis of the Great Basin tent caterpillar *Malacosoma fragilis*. *Ecology* 36:373-376.
- Croizier, G., L. Croizier, J. M. Quiot y D. Lereclus. 1988. Recombinacion de *Autographa californica* and *Rachiplusia* ou nuclear polyhedrosis viruses in *Galleria mellonella* L. *J. Gen. Virol.* 69:177-185.
- Crook, N. E. 1991. Granulosis viruses, p. 73-110. En E. Kusrtak (ed.), *Viruses of Invertebrates*, Marcel Dekker, N.Y.
- D`Amico, V. y J. S. Elkinton. 1995. Rainfall effects of the transmission of gypsy moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) nuclear polyhedrosis virus. *Environ. Entomol.* 24:1144-1149.
- Davison, R.H and W.F. Lyon. 1979. *Insect pest of farm, garden and orchard*. John and Sons. New York, USA. pp 393-396.
- DeWild, J. 1962. Photoperiodism in insects and mites. *Ann. Rev. Entomol.* 7: 1-26.
- Díaz F.B.E. 2004. Efectividad del virus de la granulosis de la palomilla de la manzana (*Cydia pomonella* L.) en Jame, Arteaga, Coahuila, México. Tesis Licenciatura. UAAAN. 40 p.
- Doane, C.C. 1970. Primary pathogens and their role in the development of an epizootic in the gypsy moth. *J. Invertebr. Pathol.* 15:21-23.
- Entwistle, P.F. 1982. Passive carriage of Baculoviruses in forests. *Proc. III Inter. Coll. Invert. Pathol.*, Brighton, p. 344-351.
- Entwistle, P.F., P.H. Adams y H.F. Evans. 1977a. Epizootiology of a nuclear polyhedrosis virus in European spruce sawfly (*Gilpinia hercyniae*): birds as dispersal agents of the virus during winter. *J. Invert. Pathol.* 29:354-360.
- Entwistle, P.F. y H.F. Evans. 1985. Viral control, p. 347-412. En: L.I. Gilbert y G.A. Kerkut (ed.), *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*, vol. 12. Pergamon Press, Oxford.

- Entwistle, P.F., A.C. Forkner, B.M. Green y J.S. Cory. 1993. Avian dispersal of nuclear polyhedrosis viruses after induced epizootics in the pine beetle moth *Panolis flammea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biol. Contr.* 3:61-69.
- Evans, H. F y K. A Harrap. 1982. Persistence of insect viruses. En: B. W. J. Mahy, A. C. Minson y G. Darby (ed.), *Virus persistente*. 33<sup>rd</sup> Symp. Soc. Gen. Microbiol., Cambridge University Press, London. pp. 57-98.
- Federici, B.A. 1986. Ultrastructure of baculoviruses, In: Granados R.R. y B.A. Federici (ed.), *The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology*, Academic Press. San Diego, USA. Vol I. Pp. 61-88.
- Federici, B. A. 1997. Baculovirus pathogenesis, In: L.K. Miller (ed.), *The Baculoviruses*. Plenum Press, N.Y. p 33-59.
- Fuxa. J. R. 1995. Ecological factors critical to the exploitation of entomopathogens in pest control, En: F.R. Hall y J.W. Barry (ed.), *Biorational pest control agents: formulation and delivery*. Amer. Chem. Soc. Symp. Series 595, Washington. p. 42-67.
- García R. R. E., 1989. La palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). Monografía bibliográfica, Licenciatura UAAAN. 133 p.
- Glen, D.M. 1984. Production and field evaluation of codling moth granulosis for control of *Cydia pomonella* in the united kingdom. *Ann. Appl. Biol.* 104: 87-98.
- Glen, D.M., C.W. Wiltshire, and N.F. Milson. 1982. SIR 8514 Compared with diflubenzuron for control of orchard moth and apple sucker. Test of agrochemicals and cultivars. *Ann. Appl. Biol.* 100:6-7.
- González, R. H. 1984. Desarrollo estacional de insectos y ácaros del manzano 1982-1984. *Revista Frutícola* 5 (1): 3-9.
- González, R. H. 1993. Uso de feromona sexual para la detección y control de la polilla de la manzana. *Revista Frutícola* 14(1):5-13.
- González, R. H. 2000. Antecedentes biológicos de la polilla de la manzana, *Cydia pomonella* en huertos de pomáceas. *Revista Frutícola* 21:814-828.
- Granados, R. R., and K.A. Lawler. 1981. In vivo pathway of *Autographa californica* baculovirus invasion and infection. *Virology* 108:297-308.
- Granados, R. R. y K. A. Williams. 1986. In vivo infection and replication of baculoviruses. In: Granados R.R. y B. A. Federici (ed). *The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology*. Academic Press. San Diego, USA. Vol I, Pp. 89-108.

- Gröner, A. 1986. Specificity and safety of baculoviruses. In: Granados R.R. y B. A. Federici (ed). The biology of baculoviruses: biological properties and molecular biology. Academic Press. San Diego, USA. Vol I, Pp. 177-202.
- Guevara, P. E. 1986. Fluctuación de población y determinación de épocas adecuadas para el control de la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L. Tesis profesional UAAAN. Saltillo, Coah. Méx. 58 p.
- Harm, W. 1980. Biological Effect of ultraviolet radiation. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Harrison, R. L. y B. C. Bonning. 2000 Use of Scorpion neurotoxins to improve the insecticidal activity of *Rachiplusia ou* Multicapsid Nucleopolyhedrovirus. *Biol Control*, 17:191-201.
- Hayakawa, T., R. Ko, K. Okano, S. Seong, C. Goto y S. Maeda. 1999. Sequence analysis of the *Xestiac-nigrum* granulovirus genome. *Virology* 262:277-297.
- Helsen, H., L. Blommers y C. Vago. 1992 Efficacy and implementation of granulosis virus against codling moth in orchard IPM. *Med. Fac. Landbouw. Gent*. 57:569-573.
- Hernández, A. R. 1995. Evaluación de insecticidas para el control de la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) y comparación del efecto atrayente de dos presentaciones comerciales de feromona sexual en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis Licenciatura. UAAAN. 60 p.
- Hernández, D.S. 1985. Cuando combatir la palomilla de la manzana. SARH-INIA-CIAN. Cuauthemoc, Chih.
- Hernández – Crespo, P., R.S. Hails, S.M Sait, B.M Green, T.M Carty y J.S. Cory. 1999. Response of hosts of varying susceptibility to a recombinant baculovirus insecticide in the field. *Biol. Contr.* 16:119-127.
- Hilary, F. C., W. F. Kwolek and R. A. Hayden. 1984. Survival of immature states of the codling moth on seeded and seedless apple fruit. *J. Econ. Entomol.* 77: 1427-1431.
- Himeno, M., F. Matsubara y K. Hayashiya. 1973. The occult virus of nuclear polyhedrosis of the silkworm larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 22:292-294.
- Hostetter, D.L. y M.R. Bell. 1985. Natural dispersal of Baculoviruses in the environment, In: K. Maramorosch y K. E. Sherman (ed.), *Viral insecticides for biological control*. Academic Press Inc., Orlando. p. 249-284.
- Huber, J. and E. Dicker. 1977. Codling moth granulosis virus: Its efficiency in the field in comparison with organophosphorus insecticides. *J. Econ. Entomol.* 70: 557-560.



- Hunter-Fujita, F.R., P.F. Entwistle y N.E. Crook 1998. Insect viruses and pest management. John Wiley & Sons, NY.
- Ignoffo, C.M., D. L. Hostetter, P.P. Sikorowski, G. Sutter y W. M. Brooks. 1977. Inactivation of representative species of entomopathogenic viruses, a bacterium, fungus and protozoan by and ultra-violet light source. *Environ. Entomol.* 6:411-415.
- Jacobo Cuellar, J. L y M. R. Ramírez Legarreta. 1999. Importancia, biología y control de la palomilla de la manzana (*Cydia pomonella* L). INIFAP-CIRNOC. Campo Experimental Sierra de Chihuahua. Cd. Cuauhtemoc, Chihuahua. Folleto Técnico No. 9. 27 p.
- Jackson, D. M., and R. F. Harwood. 1980. Survival potential of first instar of the codling moth in laboratory experiments. *Ann. Entomol. Soc. Amm.* 73: 160-3.
- Jackson, D.M., G.C. Brown y D.W. Johnson. 1992. Autodisemination of a baculovirus for management of tobacco budworms (Lepidoptera: Noctuidae) on tobacco. *J. Econ. Entomol.* 85:710-719.
- Jaques, R. P., J. E. Laing, C. R. Maclellan and M. D. Proverbs 1981. Apple orchard test of the efficacy of the granulosis virus of the codling moth *Laspeyresia pomonella* (Lepidoptera: Olethreutidae). *Entomophaga* 26 (2): 11-18.
- Jaques, R. P. 1985. Stability of insect viruses in the environment. In: Maramorosch K. Y K. E. Sherman (ed.). *Viral insecticides for biological control*. Academic Press. New York, USA. Pp. 285-360.
- Jones, O. T. 1998. Practical applications of pheromones and other semiochemicals. Pp. 263-355.
- Kikhno, I., S. Gutierrez, L. Croizier, G. Croizier y M. L. Ferber. 2002. Characterization of *pif*, a gene required for the per os infectivity of *Spodoptera littoralis* nucleopolyhedrosis virus. *J. Gen. Virol.*, 83:3013-3022.
- Killick, H.J. 1990. Influence of droplet size, solar ultraviolet light and protectants, and other factors on the efficacy of baculovirus sprays against *Panolis flammea* (Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Prot.* 9:21-28.
- Kukan, B. 1999. Vertical transmission of nucleopolyhedrovirus in insects. *J. Invertebr. Pathol.* 74:103-111.
- Kuzio, J., M. N. Pearson, S. H. Arwood, C. J. Funk, J. T. Evans, J. M. Slavicek y G. F. Rohrmann. 1999. Sequence and analysis of the genome of a baculovirus pathogenic for *Lymantria dispar*. *Virology* 253:17-34.
- Lara V. J. M. 1999. Manejo integrado de la palomilla de la manzana (*Cydia pomonella*) en la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis Licenciatura. UAAAN. 71 p.

- Leather, S. R., K. F. A. Walters, and J. S. Bale. 1993. *The Ecology of Insect Overwintering*. Cambridge University Press. New York, USA. 254 p.
- Levin, D.B., J.E.Laing y R.P. Jaques. 1979. Transmisión of a granulosis virus by *Apanteles glomeratus* to its host, *Pieris rapae*. *J. Invertebr. Pathol.* 34:317-318. pp
- Mansing, A. 1971. Physiological classification of dormancies in insects. *Can. Entomol.* 103: 983-1009.
- Mazzone, H.M. 1985. Pathology associated with baculoviruses infection. In: Maramorosh K and K.E. Sherman (eds.), *Viral insecticides for biological control*. Academic Press. Orlando, Florida. Pp 81-120.
- Metcalf, C.L., y W.P. Flint 1982. *Insectos destructivos e insectos útiles sus costumbres y su control*, 4ª Edición, 15ª Impresión. Ed. CECOSA. México. 1208 p.
- Metcalf, L. R. and H. W. Luckman. 1982. *Introduction to insect pest management*. Interscience. USA. 587 p.
- Miller, L.K. 1996. Insect viruses. In: Fields B. N., D. M. Knipe, P. M. Howley. *Fields virology*, Third Edition. Lippincott-Ravens, Publishers. Philadelphia, USA. Pp.533-556.
- Monsma, S.A., A. G. P. Oomens y G. W. Blissard. 1996. The gp64 envelope fusion proteins is an essential baculovirus protein required for cell-to-cell transmission of infection. *J. Virol.* 70:4607-4616.
- Murphy, F.A., C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, S.A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G.P. Martelli, M.A. Mayo, y M.D. Summers. 1995. *Virus taxonomy*. Sixth report of the international committee on taxonomy of viruses. Vienna & New York: Springer-Verlag.
- Murray, D. A. H., and A. G. Wilson. 1993. Methods for studying diapause. *In: Heliothis: Research Methods and prospects*. Zalucky, M. P. (ed) Springer-Verlag. New York. 243 p.
- Murray, K. D. y J. S. Elkinton. 1992. Vertical distribution of nuclear polyhedrosis virus infected gipsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) Larva and effects on sampling for estimation of disease prevalence. *J. Econ. Entomol.* 85:1865-1872.
- Olofsson, E.1988.Dispersal of nuclear polyhedrosis virus of *Neodiprion sertifer* from soil to pine foliage with dust. *Entomol. Exp. Appl.* 46:81-186.
- Peadt, E.R. 1978. *Fundamentals of applied entomology*, University of Wyoming. USA. 723 p.
- Pfadt, E.R. 1978. *Fundamentals of applied entomology* 3ª, Ed. McMillan Publishing Co. Inc. New York, USA. Pp. 72 - 73.

- Pitcairn, M. J., F. G. Zalom, and R. E. Rice. 1992. Degree-day forecasting of generation time of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) populations in California. *Environ. Entomol.* 21(3): 441-446.
- Potter, K. N., y L.K. Miller. 1980. Transfection of two invertebrate cell lines with DNA of *Autographa californica nuclear polyhedrosi virus*. *J. Invertr. Pathol.* 36:431-432.
- Richards, M.G. y C.C. Payne. 1982. Persistence of baculovirus on leaf surfaces. *Proc. III Inter. Coll. Invert. Pathol., Brighton*, p. 296-301.
- Sánchez V. V. M., y R. E. R. García 1992. Inducción y rompimiento de diapausa de *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) en la Sierra de Arteaga, Coah. *Memorias del XXVII Congreso Nacional de Entomología*. San Luis Potosí, Méx. Pp 241-242.
- Sánchez, V. V. M., Cerda, G.P.A., Martínez, D.F., Landeros, F.J. 2000. Manejo integrado de la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L: Manual para productores. UAAAN. Saltillo, Coah. 34 p.
- Sauphanor, E., J. C. Bouvier, and V. Brosse. 1998. Spectrum of insecticide resistance in *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in southeastern France. *Journal of Economic Entomology*, 91 (6): 1225-1231.
- Sciocco, A. 2001. Estructura y clasificación de los baculovirus In: Caballero, P; Williams, T. y López, M.; *Los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas*. Pp 48-71.
- Sheppard, R.F. 1976. Effect of dissemination of low dosage levels of a granulosis virus in population of codling moth. *J. Econ. Entomol.* 69 (5):583-586.
- Shieh, T.R. 1989. Industrial production of viral insecticides. *Adv Virus Res.* 36:315-343.
- SIAP. 2002. Servicio de información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola.  
[http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ar\\_comagri.html](http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ar_comagri.html)
- Tanada, Y., y R.T. Hess. 1991. Baculoviridae: granulosis viruses. In: Adams J. R. y J. R. Bonami (ed.), *Atlas of invertebrate viruses*. Academic Press. San Diego, USA. Pp. 227-257.
- Tanada, Y. y H. Kaya, 1993. *Insect pathology*, Academia press, Inc., San Diego, California. pp
- Taylor, F., and J. B. Spalding. 1988. Fitness functions for alternative development pathways in the timing of diapause induction. *Am. Natural.* 131: 678-699.

- Tepexpa, A.M.A. 1995. Efectividad de control de la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Olethreutidae) de los métodos de interrupción de copula y pronostico. Tesis Licenciatura. UAAAN. 63 p.
- Toprak, U. and M.O. Gürkan, 2004. First record of a NPV isolated from *Spodoptera littoralis* (Boisd) (Lepidoptera: Noctuidae) for Turkey and its molecular identification according to the partial *left-8* gene. Turkish J. Biol., 28(2-4):71-77.
- Toprak, U., S. Bayram, and M.O. Gürkan, 2005. Gross pathology of SpliNPVs and alterations in *Spodoptera littoralis* Boisd, (Lepidoptera: Noctuidae) morphology due to baculoviral infection. *J. Agric. Sci.*, 11(1):65-71.
- Vail, P. V., D. C. Cowan, S. Sibbett, R. Beede, and J. S. Tebbets. 1991. Codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) Control on Commercial Walnuts with a granulosis virus. *J. Econ. Entomol.* 84(5):1448-1453.
- Vail, P.V., D.F. Hoffman y S.J. Tebbets. 1993. Autodissemination of *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae) Granulosis virus by healthy adults. *J. Stor. Prod. Res.* 29:71-74.
- Vasconcelos, S. D., J.S. Cory, K.R. Wilson, S.M. Sait y R.S. Hails. 1996a. Modified behavior in baculovirus-infected lepidopteran larvae and its impact on the spatial distribution of inoculum. *Biol. Contr.* 7:299-306.
- Vasconcelos, S. D., T.D. Williams, R.S. Hails y J.S. Cory. 1996b. Prey selection and baculovirus dissemination by carabid predators of Lepidoptera. *Ecol. Entomol.* 21:98-104.
- Volkman, L. E., y P. A. Golsmith. 1985. Mechanism of neutralization of budded *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus by a monoclonal antibody: inhibition of entry by adsorptive endocytosis. *Virology* 143:185-195.
- Volkman, L. E. y B. A. Keddie. 1990. Nuclear polyhedrosis virus pathogenesis. *Seminars in Virology* 1:249-256.
- Volkman, L. E., G. W. Blissard, P. Friesen, B. A. Keddie, R. D. Possee, y D- A. Thielmann. 1995. Baculoviridae. In: Murphy, F.A. C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, S.A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G. P. Matelli, M. A. Mayo y M.D. Summers (ed.), *Virus taxonomy: sixth report of the international committee on taxonomy of viruses*. Springer-Verlag, New York, USA. Pp.104-113.
- Young, S.Y. y W.C. Yearian. 1988. Secondary transmission of nuclear polyhedrosis virus by *Pseudoplusia includens* and *Anticarsia gemmatilis* larvae on semisynthetic diet. *J. Invertebr. Pathol.* 51:133-138.

# APÉNDICE

Cuadro 1. Datos de monitoreo biológico y climático a nivel de finca  
 Región o Cañón: Jame, Arteaga, Coahuila.  
 Periodo de uso de trampas: 01 de abril al 29 de julio de 2006

Fecha Día/mes ABRIL	TEMP. MÁXIMA	TEMP. MÍNIMA	UCA	Tram pa 1	Trampa 2	Trampa 3	Palomillas/ Trampa / noche
1	26	5					
2	28	7				5	5
3	28	5					
4	29	4					
5	27	4				3	3
6	30	5					
7	28	6		1	6	3	10
8	27	6					
9 Biofix	26	2	5.05	3	7	11	21 *
10	26	4	10.15				
11	25	5	15.15	0	1	0	1
12	28	6	20.75				
13	20	2	24.75				
14	27	3	28.65	2	5	5	12
15	26	4	33.95				
16	28	4	39.5	3	11	13	27*
17	30	10	47.2				
18	31	8	55.15				
19	30	9	63.3	11	34	17	62*
20	26	6	69.65				
21	27	5	75.1				
22	20	6	79.4	4	8	5	17
23	20	6	82.1				10 mm lluvia + granizo 3 mm
24	20	5	84.7				
25	25	5	88.4				
26	28	6	94.0				
27	26	9	100.5	2	16	13	31
28	27	10	107				1 mm lluvia
29	25	5	112.25				
30	23	4	116.45	12	10		22

UCA: Unidades Calor Acumuladas

\* Vuelos máximos de adultos (Biofix)

## Continuación Cuadro 1...

Fecha Día/mes MAYO	TEMP. MÁXIMA	TEMP. MÍNIMA	UCA	Trampa 1	Trampa 2	Trampa 3	Palomillas/ Trampa / noche
01 1 <sup>ra</sup> Aplic.	26	3	120.7	3		2	5
2	24	4	125.35				
3	25	4	128.75				
4	25	6	133.65				
5	25	5	138.45				
6	26	6	143.6				
7	27	6	149.25	12	14		26
8	29	9	156.25				
9	22	8	161.8				4 mm
10 2 <sup>da</sup> Aplic.	26	9	166.85	4	12		16
11	26	10	173.15				
12	20	5	177.05				12 mm
13	21	6	179.95				
14	24	5	183.60	4	12		16
15	21	7	187.56				2 mm
16	22	8	191.21				
17	18	3	193.61				
18	22	4	196.11				
19	20	2	198.81				
20 3 <sup>ra</sup> Aplic.	22	5	201.81	1	2		3
21	25	5	205.91				
22	25	3	210.41				
23	26	5	215.41				
24	28	4	220.76				
25	29	5	227.11				
26	28	5	233.46				
27	27	7	239.71				
28	20	8	244.31				
29	24	5	247.76				
30	21	4	251.31				
31	25	3	254.96				

UCA: Unidades Calor Acumuladas

## Continuación Cuadro 1...

Fecha Día/mes JUNIO	TEMP. MÁXIMA	TEMP. MÍNIMA	UCA	Trampa 1	Trampa 2	Trampa 3	Palomillas/ Trampa / noche
1	22	5	259.06				
2	18	4	261.56				
3	20	5	263.76				
4	23	6	267.11				
5	21	6	270.66				
6	26	5	274.76				
7	29	5	280.66				
8	28	6	287.21				
9	28	5	293.31				
10	26	6	299.16				
11	27	7	304.96	3	3	-	6
12	29	5	311.11				
13	29	4	317.51				
14	30	6	324.56				
15	27	5	330.96				
16	28	6	337.06				
17	30	8	344.26				
18	29	9	351.96	3	4	-	7 71 días
19	24	7	357.76				
20	26	9	363.26				
21	28	6	369.11				
22	27	7	375.36				
23	25	5	380.61				
24	23	6	385.06	2	8	4	14
25	23	6	389.06				
26	24	9	393.86				
27	23	7	396.26				
28	21	6	399.81				
29	22	5	403.01				
30	20	6	406.16				

UCA: Unidades Calor Acumuladas



## Continuación Cuadro 1...

Fecha Día/mes JULIO	TEMP. MÁXIMA	TEMP. MÍNIMA	UCA	Trampa 1	Trampa 2	Trampa 3	Palomillas/ Trampa / noche
1	18	7	408.56				
2	20	6	410.86	2	1	4	7
3	19	8	413.61				
4	20	7	416.21				
5	19	8	418.96				
6	20	7	421.56				
7	20	8	424.56				
8	20	5	427.16	5	7	10	22
9	20	6	429.86				
10	20	5	432.46				
11	17	6	434.56				
12	24	5	437.41				
13	26	6	442.36	2	3	2	7
14	18	5	445.86				
15	20	6	448.16				
16	20	6	450.86				
17	24	5	454.31	2	4	3	9
18	28	6	459.71				
19	25	4	465.01				
20	20	5	468.71				
21	18	5	470.91	1	2	1	4
22	21	6	473.41				
23	22	5	476.61				
24	22	6	480.21				
25	20	7	483.46	4	9	6	19
26	22	6	486.61				
27	20	9	490.21				
28	18	8	492.76				
29	19	6	494.86	2	3	4	9
30							

UCA: Unidades Calor Acumuladas