

## Evaluación en campo del granulovirus CpGV sobre *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae)\*

### CpGV field evaluation on *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae)

Claudio Ríos-Velasco<sup>1§</sup>, Víctor M. Sánchez-Valdez<sup>2</sup>, Gabriel Gallegos-Morales<sup>2</sup> y Octavio Jhonathan Cambero-Campos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Unidad Cuauhtémoc, Chihuahua. Av. Río Conchos S/N Parque Industrial. A. P. 781. C. P. 31570. Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua, México. Tel: (+52 625) 5812920, Ext. 112. <sup>2</sup>Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro, Núm. 1923. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. C. P. 25315. Tel. (844) 4110326. (victor\_saval@yahoo.com), (ggalmor@uaaan.mx). <sup>3</sup>Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit, Xalisco, Nayarit, México. Tepic-Compostela, km 9. Tel. (311) 1352495. (jhony695@gmail.com). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: claudio.rios@ciad.mx.

## Resumen

Del 01 de abril al 30 de mayo de 2007, se hicieron aplicaciones de concentraciones bajas de granulovirus de *Cydia pomonella* (CpGV) a la recomendada comercialmente en larvas de *C. pomonella* en Jamé, Arteaga, Coahuila, México, que fueron de 35, 75 y 150 mL/ha ( $7.7 \times 10^{11}$ ,  $1.65 \times 10^{12}$  y  $3.3 \times 10^{12}$  gránulos ha), en un huerto experimental de manzano con variedades Golden y Red Delicious. La eficiencia se estableció en relación al porcentaje acumulado de frutos dañados, en el periodo de evaluación, para lo cual se cuantificó el total de los frutos dañados en cada fecha de muestreo. Se observó diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en el porcentaje de frutos dañados, tratados con CpGV (0.09% a 0.58%), en comparación a los testigos interno y externo con 1.43% a 4.77% respectivamente. Acorde a los resultados las dosis bajas de CpGV son eficientes para el control de palomilla de la manzana, siempre y cuando se apliquen el día de la emergencia de las larvas de primer estadio.

**Palabras clave:** *Cydia pomonella*, CpGV, Baculoviridae, biofix, frutos dañados, gránulos, unidades calor.

## Abstract

From April 1<sup>st</sup> to May 30<sup>th</sup>, 2007, lower concentrations than commercially recommended of *Cydia pomonella* granulosis virus (CpGV) were applied to the larvae of *C. pomonella* in Jamé, Arteaga, Coahuila, Mexico, which were 35, 75 and 150 mL ha ( $7.7 \times 10^{11}$ ,  $1.65 \times 10^{12}$ , and granules  $3.3 \times 10^{12}$  ha), in an experimental orchard of apple with Golden and Red Delicious varieties. Efficiency was established in relation to the cumulative percentage of damaged fruit in the evaluation period, quantifying the total damaged fruits at each sampling date. There was a significant difference ( $p < 0.05$ ) in the percentage of damaged fruit treated with CpGV (0.09% to 0.58%) compared to the internal and external controls, 1.43% to 4.77% respectively. According to the results, low CpGV doses are effective for controlling the codling moth, as long as they apply on the day of emergence of the larvae.

**Key words:** *Cydia pomonella*, CpGV, Baculoviridae, biofix, damaged fruit, granules, heat units.

La palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L. (PM) es la principal plaga de manzanas y peras (Barnes, 1991). Su control se ha basado en la aplicación de insecticidas químicos con resultados satisfactorios, sin embargo, su uso ha repercutido consecuentemente en la eliminación de la fauna benéfica y en la generación de resistencia de este organismo a dichos químicos, debido a la presión de selección (Dunley y Welter, 2000; Sauphanor *et al.*, 2000).

En la actualidad se ha incrementado la demanda de productos orgánicos, por lo que se ha indagado en la búsqueda de nuevas tácticas de control alternativas al uso de insecticidas, de bajo riesgo para trabajadores(as) agrícolas y consumidores(as) y de bajo impacto ambiental. Tal es el caso del Granulovirus de *Cydia pomonella* (CpGV) de la familia Baculoviridae (Luque *et al.*, 2001; Jehle *et al.*, 2006), aislado de larvas de *C. pomonella* en huertos de manzano y peral en México (Tanada, 1994), que es altamente patogénico y virulento para la PM causando la muerte a larvas de primer estadio con una dosis letal media (DL<sub>50</sub>) de 1 a 5 cuerpos de oclusión (COs/mL) (Allaway y Paine, 1984), pero inofensivo para otros organismos (Gröner, 1986), lo que contribuye a la conservación de depredadores y parasitoides que suprimen plagas secundarias en huertos de manzano. Esta alta patogenicidad se refleja en un daño total a la larva infectada, principalmente debido a su capacidad poliorganotrópica (Ibarra y Del Rincón, 2001). Huber y Dickler, (1977), probaron su eficiencia en campo comparándolo con insecticidas organofosforados en la reducción de daños causados por *C. pomonella*, reportando un control similar e incluso mejor.

Sin embargo, también ya se han registrado los primeros casos de resistencia de larvas de *C. pomonella* al CpGV en huertos orgánicos tratados en Alemania y en Francia (Sauphanor *et al.*, 2006; Asser *et al.*, 2007). En el manzano el potencial del CpGV como agente de control biológico se debe a lo específico e inofensivo para otros organismos (Crook, 1991). Debido a estas características, el CpGV se utiliza con frecuencia para el control biológico de esta plaga en manzanos de los EE.UU y Europa (Hunter *et al.*, 1998; Biache *et al.*, 2000).

Esto lo hace un buen agente de control biológico, siempre y cuando vaya dirigido a larvas de primer estadio (L1) para que ingieran los gránulos antes o durante la entrada

The codling moth *Cydia pomonella* L. (PM) is the major pest of apples and pears (Barnes, 1991). Its control is based on the application of chemical insecticides with satisfactory results; however, its use has consequently affected the elimination of beneficial insects and the generation of resistance of the organism to such chemicals, due to the selection pressure (Dunley and Welter, 2000; Sauphanor *et al.*, 2000).

Currently, the demand for organic products has increased, so it has been necessary to investigate for new alternative control tactics to pesticides, low risk to farmers and consumers and low impact on the environment. Such is the case of *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV), Baculoviridae family (Luque *et al.*, 2001; Jehle *et al.*, 2006), isolated from larvae of *C. pomonella* in apple and pear orchards in Mexico (Tanada, 1994), which is highly pathogenic and virulent for PM, killing larvae with a median lethal dose (DL<sub>50</sub>) of 1 to 5 occlusion bodies (COs/mL) (Allaway and Paine, 1984), but harmless to other organisms (Gröner, 1986), which contributes to the conservation of predators and parasitoids that suppress secondary pests in apple orchards. This high pathogenicity is reflected in a total damage to the infected larva, mainly because of its ability as a poli-organotroph (Ibarra and Del Rincon, 2001). Huber and Dickler, (1977), proved its efficiency in the field compared to organophosphorus insecticides for reducing the damage caused by *C. pomonella*, reporting a similar control or even better.

However, the first cases of resistance of larvae of *C. pomonella* to CpGV have also been reported in organic orchards treated in Germany and France (Sauphanor *et al.*, 2006; Asser *et al.*, 2007). In the apple, CpGV potential biological control agent is due to specific and harmless to other organisms (Crook, 1991). Due to these characteristics, CpGV is frequently used for biological control of this pest in apples from the U.S. and Europe (Hunter *et al.*, 1998; Biache *et al.*, 2000).

This makes it a good biological control agent, as long as it is directed to the first larvae (L1) to ingest the granules before or during the initial entry to the fruit, without causing severe damage (Arthurs and Lacey, 2004) because once inside the fruit (second stage larvae) its control is even more difficult. Once ingested, the pellet is dissolved in the insect midgut alkaline (pH 9.5 to 11.5) and the virions are released and fixed to the microvilli of the columnar cells of the nucleocapsids and entering in the cytoplasm by direct fusion of the viral envelope with the cellular membrane. The virus replicates and spreads by means of a secondary infection through

inicial al fruto, sin permitir que cause daños severos (Arthurs y Lacey, 2004), ya que una vez dentro del fruto (larva de segundo estadio) su control se dificulta. Una vez ingeridos los gránulos de CpGV por la larva, el gránulo se disuelve en el intestino medio alcalino del insecto (pH de 9.5 a 11.5) y los viriones se liberan y se fijan a las microvellosidades de las células cilíndricas de este y las nucleocapsidas entran en el citoplasma por fusión directa de la envoltura viral con la membrana celular. El virus se replica y se extiende por medio de una infección secundaria a través de los tejidos del insecto, conduciéndolo a la muerte (Federici, 1997; Thiem, 1997). Por lo anterior el objetivo de esta investigación fue evaluar concentraciones menores a las recomendadas comercialmente del CpGV en larvas de *C. pomonella* en condiciones de campo para reducir los costos de control y retardar la aparición de resistencia de este organismo al CpGV.

Dosis menores a la recomendada comercialmente de CpGV (300 mL ha) fueron aplicados en intervalos de 7 días, en 2007 en un huerto de manzano con árboles de las variedades Golden y Red Delicious de 10±2 años de edad (5±0.5 m de altura), plantados a una distancia de 6 x 6 m entre ellos, localizado en Jamé, Arteaga, Coahuila, México (25° 21' 59" latitud norte y 100° 37' 11" longitud oeste y 2 280 msnm). Los tratamientos de CpGV y el testigo interno se ubicaron en árboles de la variedad Golden Delicious y el testigo externo en árboles de la variedad Red Delicious. Las aplicaciones de CpGV fueron hechas de 1 a 3 veces con dosis de 150, 75 y 35 mL/ha (Cuadro 1). Las temperaturas máximas y mínimas diarias a partir del 1° de abril al 30 de mayo de 2007, se obtuvieron de la estación meteorológica de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA), localizada a 100 m del sitio experimental. El manejo del cultivo fue convencional de temporal constando sólo de barbecho, una dosis de fertilización nitrogenada de una mezcla de NPK (17%) a razón de 360 g por árbol.

El fertilizante fue aplicado a la mitad del borde interno de la sombra del árbol, y se enterró de 15 a 20 cm de profundidad aproximadamente, evitando el daño a las raíces. En invierno (durante la dormancia vegetativa de la planta), se llevó a cabo una poda de renovación de la planta, eliminando ramas gruesas envejecidas, cortándolas a unos pocos centímetros del tallo principal del árbol de manzano, para facilitar la emisión de brotes nuevos de reemplazo, con el fin de continuar con la producción de fruta. Además se efectuó un

insect tissues, leading to death (Federici, 1997; Thiem, 1997). Therefore the aim of this study was to evaluate the concentrations below the recommended in larvae of *C. pomonella* under field conditions to reduce costs and delay the resistance development of this organism.

Lower than the recommended doses of CpGV (300 mL ha) were applied at intervals of 7 days in 2007 in an orchard of apple trees of Golden and Red Delicious varieties 10 ± 2 years (5 ± 0.5 m high), planted at a distance of 6 x 6 m apart, located in Jamé, Arteaga, Coahuila, Mexico (25° 21' 59" north latitude and 100° 37' 11" W and 2 280 m). CpGV treatments and the internal control were placed in trees of Golden Delicious and, the external control in Red Delicious. CpGV applications were made from 1 to 3 times with doses of 150, 75 and 35 mL ha (Table 1). The daily maximum and minimum temperatures from April 1<sup>st</sup> to May 30<sup>th</sup>, 2007 were obtained from the weather station of the National Water Commission (CNA), located 100 m from the experimental site. The crop management was conventional of rainfed consisting only with fallowing, nitrogen fertilizer dose of a mixture of NPK (17%) at a rate of 360 g per tree.

The fertilizer was applied at half the inner edge of the shadow of the tree, and buried approximately 15 to 20 cm depth, avoiding damage to the roots. In the winter (during dormancy vegetative plant), the renovation pruning of the plant was performed, eliminating aged thick branches, cutting a few inches of the main stem of the apple tree to facilitate the issuance of new buds replacement in order to continue the production of fruit. It also made a plaster of logs (March 10<sup>th</sup>, 2007), during the diapause stage of fifth larvae overwintering as a preventive measure to destroy their places of refuge. During the first half of March, L5 cocoons change to the pupal stage, an event known as "breaking of diapause" which coincided with the silver tip phenological stage of apple buds, indicating the start of the cycle, once the winter rest (Sánchez *et al.*, 2000).

We used a randomized block design with 12 treatments in both controls, an inmate (located in the same garden where the treatments were applied) and external (located on 0.5 ha in trees to Red Delicious, 200 m away from the treated plot). Each treatment consisted of five replicates (random trees in 0.6 ha) forming in total 60 experimental units. Every apple tree was an experimental unit and all the samplings were used for follow up. To monitor the activity of the adults, two traps were placed wing Centurion® (Consep de Mexico, SA de CV, a subsidiary of Suterra

encalado de troncos (10 de marzo de 2007), durante la etapa de diapausa de larvas invernantes del quinto estadio como medida de prevención para destruir sus sitios de refugio. Durante la primera quincena de marzo las larvas invernantes L5 cambiaron al estado de pupa, evento conocido como "rompimiento de diapausa" el cual coincidió con el estado fenológico de punta plateada en las yemas del manzano que indica el arranque del ciclo biológico una vez terminado el reposo invernal (Sánchez *et al.*, 2000).

Se utilizó un diseño de bloques al azar con 12 tratamientos, dentro de éstos dos testigos, un interno (ubicado en el mismo huerto donde se aplicaron los tratamientos de CpGV) y un externo (ubicado en 0.5 ha en árboles de la variedad Red Delicious a 200 m de distancia de la parcela tratada). Cada tratamiento constó de cinco repeticiones (árboles al azar en 0.6 ha) conformándose en total 60 unidades experimentales. Cada árbol de manzano constituyó una unidad experimental y en todos los muestreos se utilizaron los mismos árboles para darles seguimiento. Para el monitoreo de la actividad de adultos, se colocaron dos trampas de ala Centurion® (Consep de México, S. A. de C. V., filial de Suterra LLC), cebadas con un cartucho de codlemone 1X-BioLure® ((E, E)-8,10-Dodecadien-1-ol, Suterra LLC), una en la parcela experimental y otra en la parcela externa, a una altura aproximada de 1.70 m dentro de la fronda del árbol y fueron revisadas semanalmente, para registrar el primer vuelo pico de adultos, tomado como punto de referencia biológico (Biofix) (Figura 1). Una vez registrado este evento, se pronosticó la acumulación de 120 unidades calor (UC), momento en el cual emergen la mayoría de las larvas de primer estadio, para esto se recurrió al sistema de predicción por unidades calor, establecido en el modelo grados-día para PM, tomando como umbrales de temperatura (inferior 12 °C - superior 34 °C) (Sánchez *et al.*, 2000). La primera aplicación de CpGV (Granupom® PROBIS GmbH, 1 m Kazenloch, Wiernsheim, Alemania) fue hecha el día de la emergencia del mayor número de las L1 y el resto, a intervalos de siete días después de la primera (Cuadro 1), considerando su baja persistencia en la naturaleza (Stará y Kocourek, 2003), coincidiendo con los picos secundarios de *C. pomonella*, usando una aspersora motorizada SwissMex KPL (Swissmex Rapid S. A. de C. V., Lagos de Moreno, Jalisco, México) con capacidad de 25 L de mezcla, cubriendo el follaje a punto de goteo, distribuidos en una superficie de 0.6 ha. Las aplicaciones del CpGV fueron hechas alrededor de las 7:00 y 8:00 am, para evitar la rápida inactivación de los gránulos por los rayos UV.

LLC), baited with codlemone cartridge 1X BioLure® ((E, E)-8, 10-dodecadien-1-ol, Suterra LLC), one in the experimental plot and the other one in the external plot, at an approximate height of 1.70 m within the canopy of the tree and were checked weekly, to record the first peak flight of adults, taken as a biological reference (Biofix) (Figure 1). Once this event was registered, we predicted the accumulation of 120 heat units (CU), which emerge when most of the first larvae were used for this prediction system heat units, set in the model degrees-day for PM, on the threshold temperatures (below 12 °C - above 34 °C) (Sánchez *et al.*, 2000). The first application of CpGV (Granupom® PROBIS GmbH, 1 m Kazenloch, Wiernsheim, Germany) was made the day of the emergence of as many of the L1 and, the rest at intervals of seven days (Table 1), considering its low persistence in nature (Stará and Kocourek, 2003), coinciding with the secondary peaks of *C. pomonella*, using a motorized sprayer SwissMex KPL (Swissmex Rapid Ltd., Lagos de Moreno, Jalisco, Mexico) with a capacity of 25 L of mixture, covering the foliage dropping point, spread over an area of 0.6 ha. CpGV applications were made around 7:00 and 8:00 am to prevent the rapid inactivation of the granules by UV rays.

**Cuadro 1. Número de aplicaciones, dosis experimentales y concentraciones de CpGV para el control de larvas de *Cydia pomonella* L. en Jamé, Arteaga, Coahuila, México, 2007.**

**Table 1. Number of applications, experimental doses and concentrations of CpGV to control *Cydia pomonella* L. larvae in Jamé, Arteaga, Coahuila, Mexico, 2007.**

Fechas de aplicación y tratamientos (mL)		
13 de mayo	20 de mayo	27 de mayo
150 <sup>a</sup>	150	150
150	150	s/a
150	s/a	s/a
75 <sup>b</sup>	75	75
75	75	s/a
75	s/a	s/a
150	75	75
150	75	s/a
75	35 <sup>c</sup>	35
75	35	s/a

<sup>a</sup>150=3.3 X10<sup>12</sup> gránulos/ha de CpGV; <sup>b</sup>75=1.65X10<sup>12</sup> gránulos/ha de CpGV; <sup>c</sup>35=7.7X10<sup>11</sup> gránulos/ha de CpGV; s/a= sin aplicación.

Upon emergence of the first larvae, fruit formation were approximately 1 cm in diameter, the state in which they begin to record damage by *C. pomonella*, where the level of damage allowed in apple orchards in Mexico by this pest, is 1% (Sánchez *et al.*, 2000).



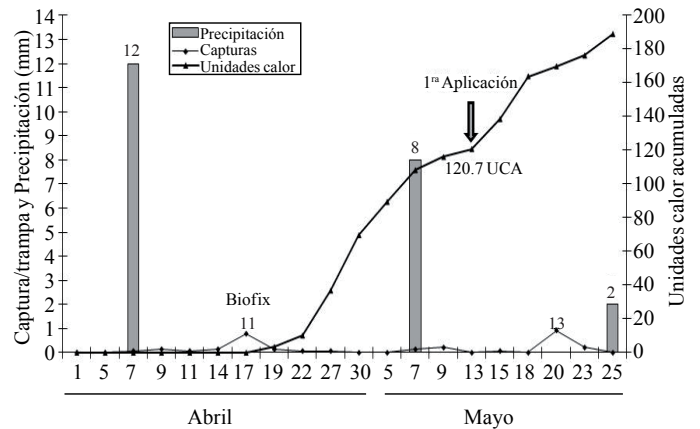
Al momento de la emergencia de las larvas de primer estadio, los frutos estaban en formación de aproximadamente 1 cm de diámetro, estado en el cual se empiezan a registrar daños por larvas de *C. pomonella*, donde el nivel de daño permitido en huertos de manzano en México por ésta plaga, es 1% (Sánchez *et al.*, 2000).

La eficiencia del CpGV fue determinada mediante la evaluación del daño al fruto por unidad experimental, realizando muestreos de frutos semanalmente después de la primera aplicación, del 20 de mayo al 23 de junio. Se revisaron todos los frutos por árbol, contabilizando y retirando aquellos que presentaban apariencia de daño de *C. pomonella* (perforaciones con excretas al exterior del fruto), para corroborar y cuantificar el número de frutos dañados por *C. pomonella* en el laboratorio. Los datos obtenidos fueron expresados en porcentaje de daño acumulado después de 6 muestreos semanales, donde también fueron incluidos frutos caídos.

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 un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) para lo cual se utilizó el paquete estadístico SAS, versión 9.0 (SAS, 2002).

Durante 2007, se registró alta densidad poblacional de PM con dos vuelos pico de adultos en las trampas (Figura 1), registrados los días 17 de abril (11 machos adultos) y 20 de mayo (13 machos adultos). Se tomó el primer vuelo pico como Biofix, para pronosticar las fechas de aplicación del CpGV a la primera generación de PM, cabe aclarar que no se presentó una segunda generación de *C. pomonella* en el huerto. Durante el periodo de evaluación del CpGV se presentaron días nublados con precipitación lo cual avorece la persistencia y dispersión del mismo (Figura 1).

El análisis estadístico muestra que las concentraciones de CpGV redujeron el daño a frutos por larvas de PM en comparación a los testigos interno y externo que registraron 4.77% y 1.43% de frutos barrenados respectivamente, ambos porcentajes se encuentran por arriba del nivel de daño económico (Sánchez 2000) (Cuadro 2).



**Figura 1. Unidades calor acumuladas, precipitación y fluctuación de adultos de *C. pomonella* L. de la primera generación, en Jamé, Arteaga, Coahuila, México, durante 2007.**

**Figure 1. Accumulated heat units, precipitation and fluctuation of adult *C. pomonella* L. of the first generation in Jamé, Arteaga, Coahuila, Mexico, during 2007.**

CpGV efficiency was determined by assessing the damage to the fruit per experimental unit, making fruit samples weekly after the first application, from May 20<sup>th</sup> to June 23<sup>th</sup>. We reviewed all the fruits per tree, counting and removing those who had the appearance of damage to *C. pomonella* (holes with excreta outside the fruit), to verify and quantify the number of fruits damaged by *C. pomonella* in the laboratory. Data were expressed as a percentage of accumulated damage after 6 weekly samplings, where even the fallen fruit were also included.

A fruit data drilled by larvae of *C. pomonella* expressed as a percentage of damage accumulated over the different sampling dates was applied to an analysis of variance (ANOVA) and a comparison test of Tukey ( $p \leq 0.05$ ) for which we used the statistical package SAS, version 9.0 (SAS, 2002).

During 2007, there was a high population density of PM with two adult flights peak in the traps (Figure 1) recorded on April 17<sup>th</sup> (11 adult males) and May 20<sup>th</sup> (13 adult males). We took the first flight as Biofix peak, to predict the dates of application of CpGV to the first generation of PM, it is clear that there was a second generation of *C. pomonella* in the garden. During the evaluation period were presented CpGV cloudy days with precipitation which avorece persistence and dispersion (Figure 1).

**Cuadro 2. Número de frutos dañados por fecha de muestro, media de frutos por árbol y frutos dañados por larvas de la primera generación de *Cydia pomonella* L. en Jamé, Arteaga, Coahuila, México, 2007.**

**Table 2. Number of fruits damaged by sampling date, average fruit per tree and fruit damage by larvae of the first generation of *Cydia pomonella* L. in Jamé, Arteaga, Coahuila, Mexico, 2007.**

Tratamiento (mL)	Mayo			Junio			No. frutos Totales/5 árboles	Media de frutos	Daño acumulado (%) <sup>1</sup>
	20	27	3	9	16	23			
Testigo externo	0.38	0.83	0.53	0.98	0.98	1.06	1322	264.4	4.77a*
Testigo interno	0.24	0.30	0.30	0.18	0.24	0.18	1680	336.0	1.43b*
150	0.00	0.08	0.17	0.00	0.08	0.25	1200	240.0	0.58bc
75-35	0.06	0.00	0.00	0.00	0.18	0.29	1714	342.8	0.53bc
150-150	0.00	0.00	0.11	0.16	0.11	0.11	1840	368.0	0.49bc
75-75-75	0.00	0.00	0.05	0.05	0.16	0.10	1908	381.6	0.37bc
150-150-150	0.00	0.00	0.10	0.05	0.15	0.05	1965	393.0	0.36bc
150-75-75	0.00	0.00	0.07	0.07	0.07	0.14	1428	285.6	0.35bc
75-75	0.05	0.00	0.14	0.00	0.09	0.05	2116	423.2	0.33bc
75	0.00	0.05	0.10	0.00	0.10	0.05	1986	397.2	0.30bc
75-35-35	0.00	0.04	0.00	0.09	0.00	0.00	2231	446.2	0.13c
150-75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	1098	219.6	0.09c

<sup>1</sup>Las medias, no marcadas con la misma letra, son estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ; Tukey; SAS Versión 9.0), \*Daño por arriba del nivel de daño económico (1%). Los datos originales de porcentaje fueron transformados a la función arco seno  $\sqrt{\%+1}$ , previo al análisis.

Los tratamientos con CpGV registraron un porcentaje de frutos dañados de 0.09 a 0.58% (Cuadro 2). El daño más alto en frutos tratados con CpGV fue registrado en el tratamiento de  $3.3 \times 10^{12}$  gránulos ha de CpGV con 0.58% y el más bajo, en el tratamiento de  $3.3 \times 10^{12}$  -  $1.65 \times 10^{12}$  gránulos ha de CpGV con 0.09% de frutos barrenados (Cuadro 2). Estos resultados están por abajo de los obtenidos por Stará y Kocourek (2003), reportando 4.2% de frutos dañados en parcelas tratadas con CpGV. Sin embargo, una aplicación de  $1.65 \times 10^{12}$  gránulos ha de CpGV fue suficiente para proteger a los frutos del daño de larvas de PM durante un periodo de 30 días. Lo anterior muestra que las larvas neonatas ingirieron el virus en el mordisqueo inicial y murieron bajo la epidermis del fruto, sin desarrollar su galería en dirección a los lóculos de semillas, lo cual fue confirmado al observarse dichos frutos al microscopio de contraste de fases a 400 X en laboratorio (Jaques *et al.*, 1994). El porcentaje de frutos dañados en todos los tratamientos con CpGV se encuentra por debajo del nivel de daño económico.

Las aplicaciones del CpGV redujeron en número de frutos barrenados, independientemente del número de aplicaciones y dosificaciones evaluadas, ya que su efectividad fue debido al tiempo de aplicación, el cual consistió en realizarlas justo el día en que emergió la mayoría de larvas de primer estadio, siendo suficientes en la protección de frutos de manzano del daño de larvas de *C. pomonella* durante la primera generación. Al respecto Jaques *et al.* (1981), mencionan que

The statistical analysis shows that, the concentrations of CpGV reduced the fruit damage by larvae of PM in comparison to internal and external controls, who recorded 4.77% and 1.43% of fruits drilled respectively, both rates are above the economic injury level (Sánchez 2000) (Table 2).

CpGV treatments showed a percentage of damaged fruit from 0.09 to 0.58% (Table 2). The highest damage in fruits treated with CpGV was registered in the treatment of  $3.3 \times 10^{12}$  CpGV granules with 0.58% and the lowest in the treatment of  $3.3 \times 10^{12}$  -  $1.65 \times 10^{12}$  CpGV granules with 0.09% drilled fruits (Table 2). These results are below those obtained by Stará and Kocourek (2003), reporting 4.2% of damaged fruit in plots treated with CpGV. However, an application of  $1.65 \times 10^{12}$  CpGV granules was enough to protect the fruits over a period of 30 days. This shows that neonate larvae ingested the virus in the initial chewing and died under the skin of the fruit, without developing his gallery in the direction of the seed locules, which was confirmed when observing these fruits to the phase contrast microscope at 400 X in laboratory (Jaques *et al.*, 1994). The percentage of damaged fruit in all the treatments with CpGV is below the economic injury level.

The applications of CpGV reduced the number of fruits drilled, regardless of the number of applications and dosages evaluated, since its effectiveness was due to the time of application, which was to carry them out just in the day

los primeros estadios larvales de PM, se alimentan por un periodo corto antes de penetrar al fruto, en el cual ya dentro, lo utilizan como alimento y refugio, y salen hasta completar su desarrollo larval, lo que imposibilita su control. Por otra parte las dosis aplicadas en este experimento, se encuentran dentro de las recomendadas por Sheppard y Stairs (1976), y Audemard *et al.* (1992).

Concentraciones menores a las recomendadas comercialmente de CpGV son eficientes en la protección de frutos de manzano del daño provocado por larvas de PM, siempre y cuando sean aplicados el día del nacimiento de la mayoría de las larvas de primer estadio.

when most of the first generation larvae emerged, being quite enough to protect the fruits from damaging. In this regard, Jaques *et al.* (1981) mentioned that the early larval stages of PM fed for a short period before entering the fruit, which when already in they use it for food and shelter, and leave when their larval development is completed. Furthermore, the applied doses in this experiment are within those recommended by Sheppard and Stairs (1976) and Audemard *et al.* (1992).

Lower concentrations than commercially recommended of CpGV are efficient in protecting apple fruits from the damage caused by larvae of PM, as long as it is applied just in the day of most of the first stage larvae emergence.

*End of the English version*



## Literatura citada

- Allaway, G. P. and Payne, C. C. 1984. Host range and virulence of five baculoviruses from lepidopterous hosts. *Ann. Appl. Biol.* 105:29-37.
- Arthurs, S. P. and Lacey, L. A. 2004. Field evaluation of commercial formulations of the codling moth granulovirus: persistence of activity and success of seasonal applications against natural infestations of codling moth in Pacific Northwest apple orchards. *Biological Control* 31:388-397.
- Asser, K. S.; Fritsch, E.; Undorf, S. K.; Kienzle, J.; Eberle, K. E.; Gund, N. A.; Reineke, A.; Zebitz, C. P.; Heckel, D. G.; Huber, J. and Jehle, J. A. 2007. Rapid emergence of baculovirus resistance in codling moth due to dominant, sex-linked inheritance. *Science* 317:1916-1918.
- Audemard, H.; Burgerjon, A.; Baundry, O.; Bergere, D. and Breniaux, D. 1992. Evaluation of 100 trials of carpovirusine, a granulosis virus preparation to control codling moth *Cydia pomonella* L. in apple orchards. *Acta Phytopathol. Entomol. Hungarica* 27:45-49.
- Barnes, M. M. 1991. Tortricids in pome and stone fruits, codling moth occurrence, host race formation and damage. *In: Van Der Geest, L. P. S. and Evenhuis, H. H. (Eds.). Tortricid Pests, Their Biology. Natural Enemies and Control. Elsevier Science. Amsterdam, The Netherlands. 313-327 p.*
- Biache, G.; Guillon, M. and Waffelaert, A. M. 2000. Mise en evidence des effets differes du virus de la granulose du carpocapse dans un programme de lutte integree. *Acta Hort.* 525:277-281.
- Crook, N. E. 1991. Baculoviridae: subgroup B. *In: Kurstak, E. (Ed.). Viruses of invertebrates. Marcel Dekker INC., NY. 73-110 p.*
- Dunley, J. E and Welter, S. C. 2000. Correlated insecticide cross-resistance in azinphosmethyl resistant codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Econ. Entomol.* 93:955-962.
- Federici, B. 1997. Baculovirus pathogenesis. *In: Miller, K. L. (Ed.): The Baculoviruses. Plenum Press. New York. 33-60 pp.*
- Gröner, A. 1986. Specificity and safety of baculoviruses. *In: Granados, R. R. and Federici, B. A. (Eds.). The biology of baculoviruses. Biological Properties and Molecular Biology. CRC Press, Boca Raton, FL. 1:177-202.*
- Huber, J and Dickler, E. 1977. Codling moth granulosis virus: its efficiency in the field in comparison with organophosphorus insecticides. *J. Econ. Entomol.* 70:557-561.
- Hunter, F. F. R.; Entwistle, P. F.; Evans, H. F and Crook, N. E. 1998. *Insect viruses and pest management. John Wiley and Sons, Chichester, UK. 620 p.*
- Ibarra, J. E. y Del Rincón, Ma. C. 2001. Capacidad insecticida de los baculovirus. *In: los baculovirus y sus aplicaciones como bioinsecticidas en el control biológico de plagas. Phytoma. 203-220 p.*
- Jaques, R. P.; Laing, J. E.; Maclellan, C. R. and Proverbs, M. D. 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.; Hardman, J. M.; Laing, J. E.; Smith, R. F. and Bend, E. 1994. Orchard trials in Canada on control of *Cydia pomonella* by granulosis virus. *Entomophaga*. 39:281-292.
- Jehle, J. A.; Blissard, G. W.; Bonning, B. C.; Cory, J. S.; Herniou, E. A.; Rohrmann, G. F.; Theilmann, D. A.; Thiem, S. M. and Vlak, J. M. 2006. On the classification and nomenclature of baculoviruses: A proposal for revision. *Arch. Virol.* 151:1257-1266.
- Luque, T.; Finch, R.; Crook, N.; O'Reilly, D. R. and Winstanley, D. 2001. The complete sequence of the *Cydia pomonella* granulovirus genome. *J. Gen. Virol.* 82:2531-2547.
- Sánchez, V. V. M.; Cerda, G. P. A.; Martínez, D. F. y Landeros, F. J. 2000. Manejo integrado de la palomilla de la manzana *Cydia pomonella* L: Manual para productores. UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 34 p.
- Statistical Analysis System (Institute. SAS). 2002. "SAS User's Guide. Version 9.0." SAS Institute, Cary, NC USA.
- Sauphanor, B.; Brosse, V.; Bouvier, J. C.; Speich, P.; Micoud, A. and Martinet, C. 2000. Monitoring resistance to diflubenzuron and deltamethrin in French codling moth populations (*Cydia pomonella*). *Pest. Manag. Sci.* 56:74-82.
- Sauphanor, B.; Berling, M.; Toubon, J. F.; Reyes, M.; Delnatte, J. and Allemoz, P. 2006. Carpopapse des pommes: cas de résistance au virus de la granulose en vergers biologiques. *Phytoma Def. Veg.* 590:24-27.
- Sheppard, R. F. and 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.
- Stará, J. and Kocourek, F. 2003. Evaluation of efficacy of *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) to control the codling moth (*Cydia pomonella* L., Lep.: Tortricidae) in field trials. *Plant Protec. Sci.* 39:117-125.
- Tanada, Y. 1994. A granulosis virus of codling moth, *Carpocapsa pomonella* (Linnaeus) (Olethreutidae, Lepidoptera). *J. Insect. Pathol.* 8:378-380.
- Thiem, M. S. 1997. Prospects for altering host range for baculovirus bioinsecticides. *Curr. Opin. Biotech.* 8:317-322.