

CARACTERIZACIÓN CUANTITATIVA DE LA DIAPAUSA DE PALOMILLA DE LA MANZANA *Cydia pomonella* L. EN CUAUHTÉMOC, CHIHUAHUA, MÉXICO

DIAPAUSE QUANTITATIVE CHARACTERIZATION OF THE CODLING MOTH *Cydia pomonella* L. IN CUAUHTÉMOC, CHIHUAHUA, MÉXICO

Juan L. Jacobo-Cuellar¹, Gustavo Mora-Aguilera², Manuel R. Ramírez-Legarreta¹, Jorge Vera-Graziano², Víctor M. Pinto³, José López-Collado², Martha E. Ramírez-Guzmán³ y Lorenzo A. Aceves-Navarro⁴

¹Campo Experimental Sierra de Chihuahua. INIFAP. 31500. Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México. (jacoboc27@prodigy.net.mx). ²Entomología y Acarología. y ³Estadística. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. ⁴Campus Tabasco. Colegio de Postgraduados. 86570. Carretera Cárdenas-Huimanguillo. Cárdenas, Tabasco.

RESUMEN

Los insectos de áreas templadas han desarrollado un proceso de adaptación (diapausa) para sobrevivir a condiciones adversas y sincronizar el ciclo de vida activo con condiciones ambientales favorables. En esta investigación se modeló la inducción y la finalización de la diapausa de la palomilla de la manzana (*Cydia pomonella* L.) en función de unidades fototérmicas (UF). El proceso de inducción se modeló con dos criterios: primero sin un estímulo de señalización; segundo con la reducción de la temperatura máxima como estímulo inductivo. Con el primer criterio se generó el modelo $Y=1-\exp(-UF/1379.2)^{2.99}$, donde Y = proporción de la población larval que entra a diapausa y UF = unidades fototérmicas contabilizadas desde el 15 de junio (día juliano 166). Con el segundo criterio se generó el modelo $Y=1-\exp(-UF/409.8)^{1.02}$ desde la señalización de temperatura a partir de la acumulación de 400 UF. Se pronosticó que 50% de los insectos entraron a diapausa después de 1220 y 194 UF para el primer y segundo modelo. La diferencia máxima entre los valores observados y estimados fue 4 d. En el proceso de finalización se empleó el criterio de señalización de un incremento en la temperatura mínima respecto al umbral de 0 °C a partir de la acumulación de 300 UF. La culminación de la diapausa se ajustó al modelo $Y=1-\exp(-UF/409.8)^{2.88}$ con el cual se pronosticó que 50% de emergencia ocurrió a las 360 UF, y una diferencia máxima de 4 d entre los valores observados y estimados. Estos resultados señalan un efecto de la temperatura en el proceso de señalización e interacción de esta variable con el fotoperíodo para la inducción y finalización de la diapausa.

Palabras clave: *Cydia pomonella*, manzano, unidades fototérmicas.

INTRODUCCIÓN

La palomilla de la manzana (*Cydia pomonella* L.) es una de las principales plagas que afectan al manzano (Cardé y Minks, 1995). En el Estado de

ABSTRACT

Insects in temperate areas have developed an adaptation process (diapause) to survive adverse conditions and synchronize their active life cycle with favorable environmental conditions. In this study the induction and conclusion of diapause of the codling moth (*Cydia pomonella* L.) in relation to photothermic units were modeled. The induction process was modeled using two criteria: first, without a stimulus of signal; second, with the reduction of maximum temperature as an inductive stimulus. With the first criteria, the following model was generated: $Y=1-\exp(-PU/1379.2)^{2.99}$, where Y = proportion of the larval population that enters diapause, and PU = photothermic units recorded from June 15 (Julian day 166). With the second criteria the following model was generated: $Y=1-\exp(-UF/409.8)^{1.02}$ from the signaling of temperature, starting with the accumulation of 400 PU. It was predicted that 50% of insects entered diapause after 1220 and 194 PU for the first and second model. The maximum difference between values observed and calculated was 4 d. In the concluding process, the criteria of signaling the increase in the minimum temperature was employed with respect to the threshold of 0 °C starting with the accumulation of 300 PU. The culmination of diapause was adjusted to the model $Y=1-\exp(-PU/409.8)^{2.88}$, which was used to predict that 50% of emergence occurred at 360 PU, and the maximum difference between observed and calculated values was 4 d. These results indicate the effect of temperature on the process of signaling and interaction of this variable with the photoperiod for the induction and conclusion of diapause.

Key words: *Cydia pomonella*, apple, photothermic units.

INTRODUCTION

The codling moth (*Cydia pomonella* L.) is one of the principal pests that affect apple (Cardé and Minks, 1995). In the State of Chihuahua, it is present in all of the municipalities with apple orchards, with 0.2 to 40% damage in fruit (Jacobo and Ramírez, 1999).

Recibido: Noviembre, 2003. Aprobado: Noviembre, 2004.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 39: 221-229, 2005.

Chihuahua incide en todos los municipios con huertos de manzano, con 0.2 a 40% de daños en fruto (Jacobo y Ramírez, 1999).

La diapausa en insectos es un sistema de invernación para condiciones ambientales cíclicas y extremas con: a) una fase preparatoria inducida por fotoperíodo 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 (Murray y Wilson, 1993). El fotoperíodo, 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 fotoperíodo y la temperatura predominan en la mayoría de los insectos (Taylor y Spalding, 1988).

Dos procesos diferenciados pueden pronosticarse a través de modelos cuantitativos y son relevantes para controlar la palomilla de la manzana: la inducción y la finalización de la diapausa. Aunque se ha generado información de la diapausa de *Cydia pomonella* L., la variabilidad expresada como respuesta del insecto a condiciones ambientales adversas limita la extrapolación de resultados en condiciones diferentes (Leather *et al.*, 1993).

La inducción de la diapausa de la palomilla de la manzana descrita con un solo criterio y con una ecuación lineal (Riedl y Croft, 1978) puede ser inadecuada porque subestima la naturaleza flexible y adaptativa del insecto. García *et al.* (1988) emplearon la ecuación de Riedel y Croft (1978) y detectaron una diferencia de 30% entre la proporción observada y calculada de la población de palomilla de la manzana que entró a diapausa. Una alternativa es emplear variables predictoras compuestas, que integran factores operantes en diferentes niveles biológicos, como las unidades fototérmicas (UF) que incluyen la temperatura y el fotoperíodo para su cálculo. Los estudios cuantitativos de esta plaga considera el proceso inductivo, aunque el proceso de finalización de la diapausa puede ser fundamental.

En consecuencia, la hipótesis en este trabajo fue que la ocurrencia temporal de la inducción, finalización y progreso de la diapausa puede explicarse cuantitativamente con base en unidades fototérmicas. Se plantearon los siguientes objetivos: a) conocer la ocurrencia temporal de la inducción de diapausa en larvas completamente desarrolladas de este insecto y la emergencia de adultos invernantes; b) generar un modelo de pronóstico de la inducción y finalización de la diapausa con base en la acumulación de unidades fototérmicas en condiciones de campo en la región manzanera de la Sierra de Chihuahua.

Diapause in insects is a system of overwintering for cyclic and extreme environmental conditions with: a) a preparatory phase induced by photoperiod and temperature and involving defined metabolic changes; b) the insects do not feed during the winter; c) on the return of a favorable environment for restarting the biological cycle, an accumulation of heat is needed (Murray and Wilson, 1993). The photoperiod, temperature, humidity, nutrition and phenology of the host can act as signals for diapause and determine its occurrence, time, and duration (Leather *et al.*, 1993); photoperiod and temperature predominate in the majority of the insects (Taylor and Spalding, 1988).

Two differentiated processes can be predicted through quantitative models, and are relevant for controlling the codling the moth: the induction and finalization of diapause. Although information has been generated on the diapause of *Cydia pomonella* L., the variability expressed as a response of the insect to adverse environmental conditions limits the extrapolation of results in different conditions (Leather *et al.*, 1993).

The induction of diapause of the codling moth described with only one criteria and with one linear equation (Riedl and Croft, 1978), may be inadequate because it underestimates the flexible and adaptive nature of the insect. García *et al.* (1988) used the equation of Riedl and Croft (1978) and detected a difference of 30% between the observed and calculated proportion of the codling moth population that entered diapause. One alternative is to employ compound prediction values, which integrate factors operating on different biological levels, such as the photothermic units (PU) which include temperature and photoperiod for its calculation. The quantitative studies of this pest consider the inductive process, although the finalization process of diapause could be fundamental.

Consequently, the hypothesis of this study was that the seasonal occurrence of the induction, finalization and progress of diapause can be explained quantitatively based on photothermic units. The following objectives were outlined: a) to know the seasonal occurrence of the induction of diapause in completely developed larvae of this insect and the emergence of overwintering adults; b) to generate a prediction model of the induction and finalization of diapause based on the accumulation of photothermic units under field conditions in the apple growing region of the Sierra of Chihuahua.

MATERIALS AND METHODS

Experimental site

The experiment was carried out in the Quinta Lupita, municipality of Cuauhtémoc, Chihuahua, in an orchard of 2 ha, 20 years old and

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El experimento se hizo en la Quinta Lupita, municipio de Cuauhtémoc, Chihuahua, en un huerto de 2 ha, de 20 años y con las variedades Golden Delicious y Red Delicious sobre portainjertos de semilla y riego por microaspersión; se ubica a 28° 24' N y 106° 52' O (Orozco *et al.*, 1990).

La temperatura máxima y mínima diaria del 15 de junio al 25 de septiembre de 2001 se obtuvo de una estación meteorológica automatizada (WEATHER MONITOR II^{MR}), de la Unión de Fruticultores de Chihuahua (UNIFRUT), localizada a 100 m del sitio experimental. Se calculó el fotoperíodo, días grado y unidades fototérmicas con un programa que calcula índices agroclimáticos "SICA" (Medina, 1989)⁴. Para las UF se emplearon las temperaturas críticas de 10 y 31 °C (Pitcairn *et al.*, 1992).

Recolección de material biológico, inducción y emergencia de organismos diapáusicos

Para recolectar larvas completamente desarrolladas de palomilla de la manzana, se seleccionaron al azar 100 árboles; en cada uno se colocó una banda de cartón corrugado comercial (20 cm ancho) alrededor del tronco del árbol y a 20 cm sobre el nivel del suelo (Carrillo *et al.*, 1997). El cartón corrugado permaneció del 15 de junio al 25 de septiembre de 2001, y se reemplazó cuando se había deteriorado por viento, lluvia, humedad del riego o por manejo del huerto. Los cartones se revisaron dos veces por semana, las larvas recolectadas se transportaron al laboratorio, se colocaron en trozos (0.5 mm de anchura por 20 mm de longitud) de cartón corrugado dentro de recipientes de cristal de 10 mL (tres ejemplares por recipiente) con tapa de tela organza. Cada recipiente se identificó con un número progresivo y fecha, y se colocó en un contenedor de madera (40 cm de anchura, 100 cm de longitud, 60 cm altura). Para permitir la aireación, en el extremo 40×60 cm de la caja se colocó una malla mosquitera. Después de procesar la muestra, el contenedor se colocó en la base de uno de los árboles para simular las condiciones naturales para la diapausa. El material recolectado se revisó diariamente para registrar el número de ejemplares que continuaban su desarrollo. Se anotó el número de ejemplares recolectados y el número de emergidos por fecha de recolección; se registró el número de larvas que no continuaron su desarrollo y se consideraron como diapáusicas (Murray and Wilson, 1993).

Los ejemplares diapáusicos se mantuvieron durante el otoño e invierno de 2001 en los recipientes y contenedor. El 25 de febrero de 2002 se introdujo en el contenedor un higrotermógrafo (Modelo THDX, DICKSON). Durante la primavera de 2002 se registró la fecha de emergencia para cada ejemplar; aunque el estado de pupa resulta de la finalización de la diapausa, por razones prácticas se consideró la emergencia del adulto como el indicador del proceso.

with the varieties Golden Delicious and Red Delicious on rootstock obtained from seed and irrigated by microaspersion; located at 28° 24' N and 106° 52' W (Orozco *et al.*, 1990).

The maximum and minimum daily temperatures from June 15 to September 25 of 2001 were obtained from an automatized meteorological station (WEATHER MONITOR IITM), of the Unión de Fruticultores de Chihuahua (UNIFRUT), located 100 m from the experimental site. Photoperiod, degree day and photothermic units were calculated using a program that calculates agroclimatic indices "SICA" (Medina, 1989)⁴. For the PU the critical temperatures of 10 and 31 °C were used (Pitcairn *et al.*, 1992).

Collection of biological material, induction and emergence of diapause organisms

To collect completely developed larvae of the codling moth, 100 trees were randomly selected, a strip of corrugated commercial cardboard (20 cm wide) was placed around the trunk of each tree and at a height of 20 cm from the ground (Carrillo *et al.*, 1997). The corrugated cardboard remained in place from June 15 to September 25, and was replaced when it had deteriorated from the wind, rain, irrigation moisture or orchard management. The cardboard was checked twice a week, and the collected larvae were taken to the laboratory and placed on pieces of corrugated cardboard (0.5 mm wide by 20 cm long), within 10 mL glass recipients (three specimens per recipient) with an organza cloth cover. Each recipient was identified with a progressive number and date, and placed in a wooden container (40 cm width, 100 cm length, 60 cm height). To permit air flow, a mosquito netting was placed at the 40×60 end of the box. After processing the sample, the container was placed at the base of one of the trees to simulate the natural conditions for diapause. The collected material was checked daily to record the number of specimens that continued their development. The number of specimens collected and the number of emerged specimens were recorded for each collection date; record was made of the number of larvae that did not continue development and were considered diapause (Murray and Wilson, 1993).

The diapause specimens were maintained during the fall and winter of 2001 in the recipients and container. On February 25, 2002, a hygrothermograph (Model THDX, DICKSON) was introduced into the container. During the spring of 2002 the date of emergence was recorded for each specimen; although the stage of the pupa results from the finalization of diapause, for practical reasons the emergence of the adult was considered as the indicator of the process.

Statistical analysis

The seasonal trapping of the codling moth larvae was analyzed with tables of frequency and graphs, as a function of time, with which the induction and finalization of diapause were determined. With exploratory graphic and regression analysis, the relationship was

⁴ Medina, G. G. 1989. SICA: Un sistema de información para caracterizaciones agroclimáticas. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx. 61 p.

Análisis estadístico

El trapeo estacional de las larvas de palomilla de la manzana se analizó con tablas de frecuencia y gráficas, en función del tiempo, con las cuales se determinó la inducción y finalización de la diapausa. Con análisis exploratorio gráfico y de regresión se calculó la asociación entre: inducción de diapausa y UF, emergencia de palomillas y unidades fototérmicas. La modelación de la fluctuación de las variables de interés se exploró con modelos lineales y no lineales con la versión 6.08 de SAS (SAS, 1992). El modelo no lineal fue una modificación del de Weibull (Pennypacker *et al.*, 1980), que es flexible a los parámetros $Y=1-\exp(-UF/b)^c$; donde Y = proporción de larvas diapáusicas en el proceso de inducción, o proporción de adultos emergentes en el proceso de finalización; UF = unidades fototérmicas; b = estimador de la tasa de crecimiento en su forma inversa ($1/b$); c = un parámetro en función de la forma de la curva. Se seleccionaron los modelos que mejor ajustaron a cada variable con base en el coeficiente de determinación, bondad de ajuste entre valores observados y estimados con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, varianza mínima, aleatoriedad y normalidad de residuales (Sprenst y Smeeton, 2001). La inducción a diapausa se modeló con base en dos criterios: 1) Al considerar todos los ejemplares, sin distinción de diapausa obligada o facultativa; 2) considerar una señalización por descenso de temperatura máxima. La finalización de la diapausa se modeló a partir de un incremento respecto al umbral de la temperatura mínima ≥ 0 °C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inducción de diapausa

En todas las fechas de recolección se detectaron larvas que entraron a diapausa; el número de ejemplares fluctuó entre 13 y 54 desde el 18 de junio (día juliano 169) al 16 de julio (día juliano 197) y los ejemplares diapáusicos oscilaron entre 5 y 44.7%. A partir del 19 de julio (día juliano 200) hubo un incremento gradual y consistente de 34 ejemplares recolectados (15.2% entró a diapausa), hasta 524 ejemplares (todos entraron a diapausa) recolectados el 11 de septiembre.

Con el criterio de análisis sin distinción de diapausa facultativa u obligada, la fluctuación de la inducción de diapausa fue de tipo sigmoidal y no se ajustó a un modelo lineal. Sin embargo, usando las UF se ajustó al modelo modificado de Weibull resultando: $Y=1-\exp(-UF/1379.2)^{2.99}$, donde UF = unidades fototérmicas contabilizadas a partir del 15 de junio (día juliano 166); $R^2 = 0.94$ ($p \leq 0.05$) (Figura 1). Con base en la prueba de Kolmogorov-Smirnov se determinó ajuste significativo con 95% de confianza entre los valores observados y estimados. La prueba de rachas de Wald-Wolfowitz confirmó la distribución aleatoria de los residuales.

Iniciando la cuantificación de UF a partir del 15 de junio (día juliano 166), con el modelo propuesto se calculó que 50% de inducción a diapausa coincidió

calculado between: induction of diapause and PU, emergence of moths and photothermic units. The modeling of the fluctuation of the variables of interest was explored with linear and non-linear models with the 6.08 version of SAS (SAS, 1992). The non-linear model was a modification of that of Weibull (Pennypacker *et al.*, 1980), which is flexible to the parameters $Y=1-\exp(-PU/b)^c$; where Y = the proportion of diapause larvae in the induction process, or proportion of emerging adults in the finalization process; PU = photothermic units; b = estimator of the growth rate in its inverted form ($1/b$); c = a parameter as a function of the curve shape. A selection was made of the models that best fit each variable based on the determination coefficient, goodness of fit between the observed values and those estimated with the Kolmogorov-Smirnov test, minimal variance, randomness and normality of residuals (Sprenst and Smeeton, 2001). The induction of diapause was modeled based on two criteria: 1) Considering all of the specimens, without distinction of obligated or facultative diapause; 2) considering a signal for decrease of maximum temperature. The finalization of the diapause was modeled from an increase with respect to the minimum temperature threshold of ≥ 0 °C.

RESULTS AND DISCUSSION

Induction of diapause

In all of the collection dates, larvae which had entered diapause were detected; the number of specimens fluctuated between 13 and 54 from June 18 (Julian day 169) to July 16 (Julian day 197), and the diapause specimens oscillated between 5 and 44.7%. From June 19 (Julian day 200) there was a gradual and consistent increase of 34 collected specimens (15.2% entered diapause), to 524 specimens (all entered diapause) collected on September 11.

With the criteria of the analysis without distinction of facultative or obligated diapause, the fluctuation of the induction of diapause was of the sigmoidal type and did not adjust to a linear model. However, using the PU, it adjusted to the modified Weibull model, resulting in: $Y=1-\exp(-PU/1379.2)^{2.99}$, where PU = photothermic units recorded starting on June 15 (Julian day 166); $R^2 = 0.94$ ($p \leq 0.05$) (Figure 1). Based on the Kolmogorov-Smirnov test, significant fit was determined with 95% reliability between the observed and calculated values. The Wald-Wolfowitz run test confirmed the random distribution of the residuals.

Initiating the quantification of PU starting on June 15 (Julian day 166), with the proposed model it was calculated that 50% of diapause induction coincided with the accumulation of 1220 PU, which occurred between July 23 and 26 (Julian days 204-207), whereas 95% of diapause induction was calculated at 1990 PU, which occurred between August 23 and 28 (Julian days 235-240) (Figure 1). The prediction for these proportions had a difference of less than 4 d between the time of the observed values and the time of the calculated values.

con la acumulación de 1220 UF, lo cual ocurrió entre el 23 y 26 de julio (días julianos del 204 al 207), mientras que 95% de inducción de la diapausa se calculó a 1990 UF, lo que ocurrió entre el 23 y 28 de agosto (días julianos 235 al 240) (Figura 1). El pronóstico para estas proporciones tuvo una diferencia menor a 4 d entre el tiempo de los valores observados y el tiempo de los calculados.

Con el criterio de señalización de inducción de diapausa por descenso de temperatura máxima, durante julio se redujo de 30 °C a 18.9 °C, valor obtenido del intervalo de la media \pm dos desviaciones estándar. Dicha reducción en la temperatura máxima se consideró una señal ambiental suficiente para accionar el mecanismo de diapausa en la población de larvas (Lees, 1980). Esta señalización ambiental tuvo efecto inductivo 10 d después, con base en la exploración gráfica donde se detectó un incremento gradual y consistente. Hubo 400 UF en este período (Figura 2).

Para verificar este descenso de temperatura en la región manzanera de Chihuahua como criterio de señalización, se revisaron registros climáticos de cinco años previos, confirmando una reducción promedio de 5 °C (± 2 °C).

Con el criterio inductivo indicado, la diapausa se inició el 19 de julio y terminó el 25 de septiembre. La fluctuación de la inducción de diapausa fue monótona y también se relacionó de forma no lineal con las UF (Figura 3), describiéndose de manera significativa con el modelo modificado de Weibull: $Y = 1 \exp(-UF/276.9)^{1.02}$; ($R^2 = 0.99$; $p \leq 0.05$); las UF se contabilizaron a partir de la acumulación de 400 de estas unidades (19 de julio). Con base en la prueba de Kolmogorov-Smirnov se determinó ajuste significativo con 95% de confianza entre los valores observados y calculados. La prueba de rachas confirmó la distribución aleatoria de los residuales.

Con el modelo propuesto se calculó que 50% de la inducción a diapausa ocurrió cuando se acumularon 194 UF y con el 27 de julio (día juliano 207), mientras que 95% de inducción de diapausa coincidió con 810 UF el 28 de agosto (día juliano 240). El pronóstico para estas proporciones tuvo una diferencia menor a 4 d entre los valores observados y los calculados.

Los dos modelos propuestos simulaban satisfactoriamente la inducción de diapausa, pero una posible ventaja del segundo puede ser la definición de la variable climática (Tmax) que señala la inducción de la diapausa en palomilla de la manzana, y dependerá de la fecha de ocurrencia del descenso en la temperatura máxima durante los primeros días de julio. Las evidencias históricas corroboraron la reducción drástica de la temperatura máxima entre el 1 y el 14 de julio, por lo que se justifica este criterio.

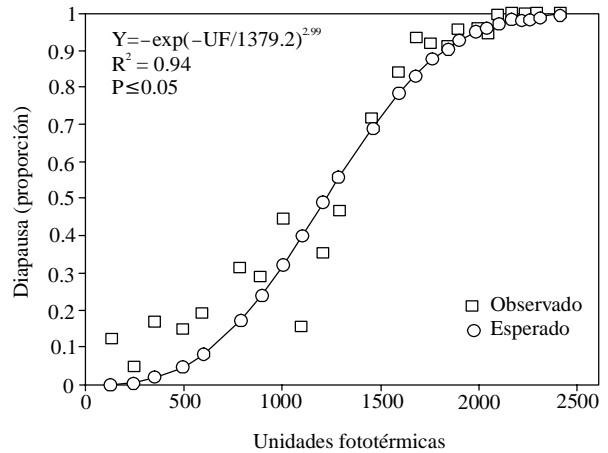


Figura 1. Inducción de diapausa en palomilla de la manzana en función a unidades fototérmicas contabilizadas a partir del 15 de junio (día juliano 166).

Figure 1. Diapause induction in codling moth as a function of photothermic units recorded starting on June 15 (Julian day 166).

With the criteria of signaling of the induction of diapause by decrease of maximum temperature, during July it was reduced from 30 °C to 18.9 °C, value obtained from the interval of the mean \pm two standard deviations. This reduction in the maximum temperature was considered an environmental signal sufficient for starting the diapause mechanism in the larvae population (Lees, 1980). This environmental signaling had an inductive effect 10 d later, based on the graphic exploration where a gradual and consistent increase was detected. There were 400 PU in this period (Figure 2).

To verify this decrease in temperature in the apple growing region of Chihuahua as criteria of signaling, climatic records of five previous years were reviewed, thus confirming an average reduction of 5 °C (± 2 °C).

With the indicated inductive criteria, diapause was initiated on July 19 and finished on September 25. The fluctuation of the induction of diapause was monotonous and was related in a non-linear form to the PU (Figure 3), described significantly with the modified Weibull model: $Y = 1 \exp(-PU/276.9)^{1.02}$; ($R = 0.99$; $p \leq 0.05$); the PU were counted from the accumulation of 400 of these units (July 19). Based on the Kilmogorov-Smirnov test, significant fit was determined with 95% of reliability between the observed and estimated values. The run test confirmed the random distribution of the residuals.

With the proposed model it was estimated that 50% of the diapause induction occurred when 194 PU were accumulated, and with the 27 of July (Julian day 207), whereas 95% of diapause induction coincided with 810 PU on August 28 (Julian day 240). The prediction for these proportions had a difference of less than 4 d between the observed and calculated values.

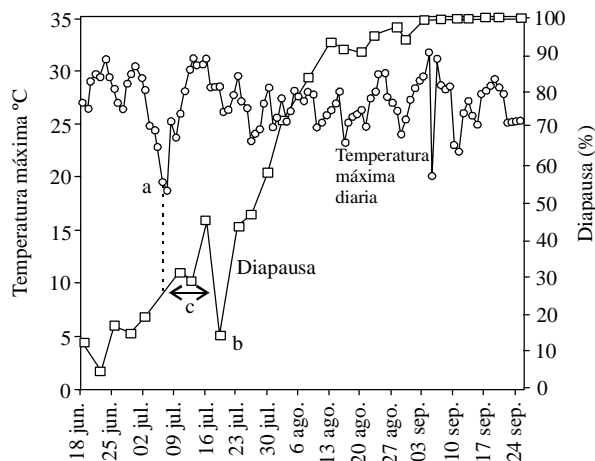


Figura 2. Porcentaje de larvas diapáusicas y temperatura máxima diaria durante julio-septiembre; a = señal ambiental de inducción; b = inicio de diapausa por inducción; c = período de tiempo entre señal e inicio de inducción (400 unidades fototérmicas).

Figure 2. Percentage of diapausic larvae and maximum daily temperature during July-September; a = environmental induction signal; b = start of diapause by induction; c = time period between the signal and onset of induction (400 photothermic units).

La temperatura puede actuar como un estímulo inductor de la diapausa que prepara al insecto para los próximos cambios estacionales (Leather *et al.*, 1993). Con este fundamento se definió la reducción de la temperatura máxima como señal ambiental que la palomilla de la manzana percibe como referencia de las condiciones ambientales desfavorables e inicio de la preparación para la diapausa.

El inicio de la inducción de la diapausa puede ser variable, y dependerá de la reducción significativa en la temperatura máxima como señal ambiental y la acumulación de 400 UF requeridas para que la señal se exprese biológicamente en la aparición de dicha diapausa. DeWild (1962) indicó que temperaturas altas tienden a retrasar la diapausa en algunas especies, y Morris (1967), reportó la inducción de diapausa en larvas de *Hyphantria cunea* expuestas a temperaturas menores de 22 °C y longitudes del día menores a 14.3 h. García *et al.* (1988) señalaron interacción entre la temperatura media y el fotoperíodo sobre la variación temporal de la incidencia de la diapausa, y no sobre la señal de inducción y término de la misma.

Emergencia de organismos diapáusicos

La ocurrencia consistente de temperaturas mínimas mayor a 0 °C se consideró como señal climática para que las larvas diapáusicas inicien la activación postdiapáusicas (Lees, 1980). Se determinó que el inicio de la aparición de adultos de palomilla de la manzana

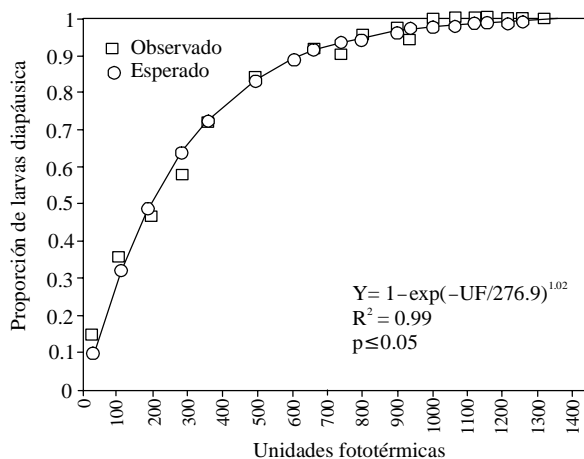


Figura 3. Inducción de diapausa en palomilla de la manzana observada y calculada con el modelo modificado de Weibull en función de unidades fototérmicas contabilizadas a partir del 19 de julio (día juliano 200).

Figure 3. Diapause induction in codling moth observed and calculated with the modified Weibull model as a function of photothermic units recorded starting July 19 (Julian day 200).

The two proposed models satisfactorily simulated diapause induction, but a possible advantage of the second could be the definition of the climatic variable (Tmax) that signals the induction of diapause in codling moths, and it will depend on the date of occurrence of the decrease in the maximum temperature during the first days of July. The historical evidence confirmed the drastic reduction in maximum temperature between July 1 and 14, thus justifying this criteria.

Temperature can act as an induction stimulus of diapause that prepares the insect for the following seasonal changes (Leather *et al.*, 1993). With this foundation, the decrease in maximum temperature was defined as an environmental signal that the codling moth perceives as a reference of the unfavorable environmental conditions and initiation of the preparation for diapause.

The start of the induction of diapause can be variable, and will depend on the significant decrease in the maximum temperature as an environmental signal and the accumulation of 400 PU required for the signal to be biologically expressed in the appearance of diapause. DeWild (1962) indicated that high temperatures tend to retard diapause in some species, and Morris (1967) reported the induction of diapause in larvae of *Hyphantria cunea* exposed to temperatures lower than 22 °C and less than 14.3 h of daylength. García *et al.* (1988) indicated the interaction between the mean temperature and the photoperiod on the seasonal variation of the incidence of diapause, and not on its signal and finish.

ocurrió a 300 UF después de la ocurrencia de una temperatura mínima superior al umbral de 0 °C, el 21 de abril. Durante este período de acumulación de UF se inició la pupación; después del inicio de emergencia ocurrió un incremento paulatino y consistente hasta 700 UF. La curva de emergencia de adultos fue sigmoideal, muy similar en su forma al comportamiento general de la entrada a diapausa (Figura 1 y 4) ($c=2.99$ vs 2.88), por lo que también se relacionó en forma no lineal con UF, ajustándose al modelo modificado de Weibull: $Y=1-\exp(-UF/409.8)^{2.88}$, ($R^2=0.99$; $p\leq 0.05$); donde UF = unidades fototérmicas, contabilizadas a partir de la acumulación de 300 UF posteriores a la ocurrencia de una temperatura superior al umbral de 0 °C. Con base en la prueba de Kolmogorov-Smirnov se determinó ajuste significativo con 95% de confianza entre los valores observados y calculados, y con la prueba de rachas se definió aleatoriedad de los residuales (Figura 4). Con el modelo propuesto se calculó que 50% y 95% de emergencia ocurrieron con 360 y 600 UF, mientras que 50% de emergencia ocurrió entre 367 y 435 UF y 95% entre 628 y 705 UF. El pronóstico para estas proporciones tuvo una diferencia menor a 4 d entre el tiempo de los valores observados y el tiempo de los calculados.

A pesar de la diversidad de variables involucradas en la diapausa, se ha pretendido relacionar el patrón de respuesta de la diapausa de la palomilla de la manzana con el fotoperíodo (Riedl y Croft, 1978), la temperatura (Leather *et al.*, 1993), y el fotoperíodo interaccionando con la temperatura (Fantinou *et al.*, 1995). Estos trabajos se han realizado en condiciones controladas, que dan idea de la ocurrencia del fenómeno, pero los resultados tienen aplicación limitada cuando se contrastan con las condiciones de campo (García *et al.*, 1988). Parte de la explicación puede atribuirse a las condiciones complejas de campo, donde se conjuga una diversidad de variables: la sensibilidad al fotoperíodo en diversas etapas de desarrollo del insecto, la respuesta diferencial de los insectos a fotoperíodos cercanos al umbral crítico de inducción, la sensibilidad espectral a la luz crepuscular, la interacción entre fotoperíodo y otras variables climáticas, y la asincronía de edad de los individuos y su variabilidad genética. Por ello, destaca que en algunos estudios se intenta definir experimentalmente los efectos de variables individuales sobre la inducción de la diapausa en condiciones naturales vs la integración de más de una variable, como ocurre con las UF.

En ambientes controlados, diversos estímulos naturales y artificiales pueden ocasionar el rompimiento de la diapausa; por tanto, la relación de resultados en estos ambientes con los de campo debe hacerse cuidadosamente. Con frecuencia el insecto desarrolla más de un mecanismo para detectar el retorno de condiciones favorables. Según Mansing (1971), la acción del fotoperíodo no debe

Emergence of diapausic organisms

The consistent occurrence of minimal temperatures above 0 °C is considered to be the climatic signal for the diapausic larvae to initiate postdiapausic activation (Lees, 1980). It was determined that the initiation of the appearance of adult codling moths occurred at 300 PU after the occurrence of a minimum temperature above the threshold of 0 °C, on April 21. During this period of PU accumulation, the pupation began; after the initiation of emergence, there was a gradual and constant increase to 700 PU. The emergence curve of adults was sigmoideal, very similar in form to the general behavior of the diapause onset (Figures 1 and 4) ($c=2.99$ vs 2.88), thus it was also related in a non-linear form to PU, adjusting itself to the modified Weibull model: $Y=1-\exp(-PU/409.8)^{2.88}$, ($R^2=0.99$; $p\leq 0.05$); where PU = photothermic units, recorded starting from the accumulation of 300 PU after the occurrence of a temperature higher than the threshold of 0 °C. Based on the Kolmogorov-Smirnov test, significant adjustment was determined with 95% of reliability between the observed and estimated values, and with the run test, randomness of the residuals was defined (Figure 4). With the proposed model it was calculated that 50% and 95% of emergence occurred with 360 and 600 PU, whereas 50% emergence occurred between 367 and 435 PU and 95% between 628 and 705 PU. The prediction for these proportions had a difference of less than 4 d between the time of the observed values and that of the calculated values.

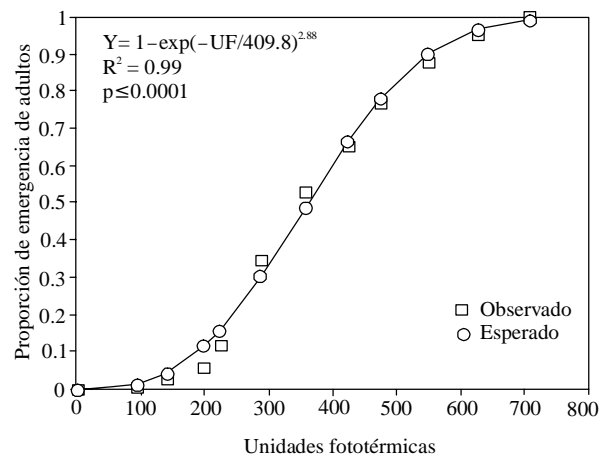


Figura 4. Proporción de emergencia de adultos de palomilla de la manzana después del período de diapausa observados y calculados con el modelo modificado de Weibull en función unidades fototérmicas contabilizadas a partir del 21 de abril (día juliano 111).

Figure 4. Proportion of emergence of adult codling moths after the period of diapause observed and calculated with the modified Weibull model as a function of photothermic units recorded starting on April 21 (Julian day 111).

considerarse como inmediata, ya que el estímulo se ejerce en forma indirecta a través del sistema nervioso y órganos endócrinos.

En estudios de campo se ha demostrado la influencia del fotoperíodo en la finalización de la diapausa en insectos, pero se ha cuestionado su incorporación como variable única (Rock y Shafer, 1983). En el presente trabajo se considera la temperatura mínima como señal del retorno de las condiciones favorables o finalización de la diapausa, y de UF como variable incluyente de la temperatura y fotoperíodo que explica la inducción de la reactivación de la actividad biológica larval. Adicionalmente, si bien el proceso de inducción a la diapausa se puede pronosticar con dos modelos cuantitativos, dependiendo si se considera o no la señalización inductiva, la finalización de la diapausa requiere necesariamente tomar en cuenta una señal inductiva; por tanto, fue necesario sólo un modelo de pronóstico.

La ocurrencia, frecuencia, severidad y duración de las condiciones adversas pueden variar cuando se consideran diferentes años o áreas geográficas. Los organismos deberán responder con ajustes fisiológicos y bioquímicos particulares para sobrevivir a dichas condiciones adversas. Consecuentemente, tiene cabida el señalamiento de la variabilidad temporal en el inicio, progreso y término de la diapausa, por lo que las señales de inducción y finalización, así como los modelos propuestos, deben ser validados.

Evidencias empíricas y experimentales en la región manzanera de Chihuahua (García, 1980)⁵ permiten señalar que los criterios y suposiciones consideradas son válidas, y pueden tener un impacto práctico en el manejo de esta plaga.

CONCLUSIONES

La inducción a la diapausa ocurrió durante todo el periodo de estudio y tuvo un comportamiento constante a partir del 19 de julio de 2001. La culminación de la diapausa o emergencia de adultos se inició el 21 de abril del 2002.

La inducción y finalización de la diapausa se pronosticó con modelos no lineales que incluyeron la temperatura y fotoperíodo, integradas como UF, como variables predictoras. El modelo de inducción y de finalización empleó como señal el descenso e incremento de la temperatura, evidenciando la importancia de esta variable. La señal de inducción y finalización requirió 400 y 300 UF para iniciar o culminar el proceso diapáusico. Las ecuaciones generadas permitieron el pronóstico de 50 y 95% de inducción y finalización de la diapausa con una diferencia menor a 4 d entre el tiempo de los valores

Despite the diversity of variables involved in diapause, an attempt has been made to relate the response pattern of diapause of the codling moth to the photoperiod (Riedl and Croft, 1978), temperature (Leather *et al.*, 1993) and photoperiod interacting with temperature (Fantinou *et al.*, 1995). These studies have been carried out under controlled conditions, that give an idea of the occurrence of the phenomenon, but the results have a limited application when contrasted with field conditions (García *et al.*, 1988). Part of the explanation can be attributed to the complex conditions of the field, where a diversity of variables interact: the sensitivity of the photoperiod in different developmental stages of the insect, the differential response of the insects to photoperiods close to the critical threshold of induction, the spectral sensitivity to twilight, the interaction between photoperiod and other climatic variables and the asynchrony of age of the individuals and their genetic variability. Therefore, it is interesting to note that in some studies an attempt is made to experimentally define the effects of individual variables on diapause induction under natural conditions vs the integration of more than one variable, as occurs with the PU.

In controlled environments, diverse natural and artificial stimuli can cause the interruption of diapause; therefore, the relationship of results in these environments with those of the field should be made carefully. The insect frequently develops more than one mechanism for detecting the return of favorable conditions. According to Mansing (1971), the action of the photoperiod should not be considered as immediate, given that the stimulus acts indirectly through the nervous system and endocrine organs.

In field studies, the influence of the photoperiod on the finalization of diapause in insects has been demonstrated, but its incorporation as a unique variable has been questioned (Rock and Shafer, 1983). In our study, minimum temperature has been considered as the signal of the return of favorable conditions or the finalization of diapause, and PU as an inclusive variable of temperature and photoperiod that explains the induction of the reactivation of the larval biological activity. In addition, although the process of diapause induction can be predicted with two quantitative models, depending on whether the inductive signaling is considered, the finalization of diapause requires the consideration of an inductive signal; therefore, only one prediction model was necessary.

The occurrence, frequency, severity and duration of adverse conditions can vary when different years or geographic areas are considered. The organisms must

⁵ García S.C. 1980. Desarrollo fenológico de la palomilla de la manzana *Laspeyresia pomonella* L. en la región Sierra de Chihuahua. Tesis de Licenciatura. Departamento de fitotecnia. UACH. Chapingo, Méx. 97 p.

observados y los calculados. Esta tendencia se mantuvo para las diferentes proporciones poblacionales.

LITERATURA CITADA

- Cardé, R. T., and A. K. Minks. 1995. Control of moth pests by mating disruption: successes and constraints. *Ann. Rev. Entomol.* 40: 559-585.
- Carrillo, R., P. Astorga, and M. Neira. 1997. Diapause in field populations of codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) under southern Chile conditions. *Revista Sumario* 24: 23-26.
- DeWild, J. 1962. Photoperiodism in insects and mites. *Ann. Rev. Entomol.* 7: 1-26.
- Fantinou, A. A., M. G. Karandinos, and J. A. Tsitsipis. 1995. Diapause induction in the *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) effect of photoperiod and temperature. *Environ. Entomol.* 24(6): 1458-1466.
- García, S. C., H. Podoler, and M. E. Whalon. 1988. Effects of temperature on diapause induction in the codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Olethreutidae). *Environ. Entomol.* 17(4): 626-628.
- Jacobo, C. J. L., y M. R. Ramírez L. 1999. Importancia, biología y control de la palomilla de la manzana (*Cydia pomonella* L.). Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Sierra de Chihuahua. Folleto Técnico No. 9. Chihuahua, México. 27 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.
- Lees, A. D. 1980. Insect diapause-stability and change. *Nature* 286: 446.
- Mansing, A. 1971. Physiological classification of dormancies in insects. *Can. Entomol.* 103: 983-1009.
- Morris, R. F. 1967. Factors inducing diapause in *Hypantiria cunea*. *Can. Entomol.* 99: 522-529.
- Murray, D. A. H., and A. G. L. Wilson. 1993. Methods for studying diapause. *In: Heliothis: Research Methods and Prospects*. Zalucki, M. P. (ed) Springer-Verlag. New York. 243 p.
- Orozco, V. F., P. Ortíz F., y M. E. Domínguez D. 1990. Caracterización agroecológica de las zonas agrícolas del estado de Chihuahua. 3-5 pp. *In: Cuadro Básico de Fertilización*. SARH-INIFAP-CIFAP. Campo Experimental Sierra de Chihuahua. Chihuahua Méx. Publicación Especial No. 3. 48 p.
- Pennypacker, S. P., H. D. Knoble, C. E. Antle, and L. V. Madden. 1980. A flexible model for studying plant disease progression. *Phytopathology* 70: 232-235.
- 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.
- Riedl, H., and B. Croft. 1978. The effects of photoperiod and effective temperatures on the seasonal phenology of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. Entomol.* 110: 455-470.

respond with particular physiological and biochemical adjustments in order to survive these adverse conditions. Consequently, the signaling of the seasonal variability at the onset, duration and end of diapause is feasible; thus, the signals of induction and finalization, as well as the proposed models, should be validated.

Empirical and experimental evidence in the apple growing region of Chihuahua (García, 1980)⁵ make it possible to point out that the criteria and suppositions considered are valid, and may have a practical impact on the management of this pest.

CONCLUSIONS

The induction of diapause occurred during the entire period of study and had a constant behavior starting on July 19, 2001. The culmination of diapause or emergence of adults initiated on April 21, 2001.

The induction and finalization of diapause was predicted with non-linear models which included temperature and photoperiod, integrated as PU, as prediction variables. The model of induction and finalization employed as a signal the descent or increase of temperature, evidencing the importance of this variable. The signal of induction and finalization required 400 and 300 PU for the initiation or culmination of the diapausic process. The generated equations allowed the prediction of 50 and 90% of induction and finalization of the diapause with a difference of less than 4 d between the time of the observed and estimated values. This trend was maintained for the different populational proportions.

—End of the English version—



- Rock, G. C., and P. L. Shafer. 1983. Tufted apple budmoth (Lepidoptera: Tortricidae). Effects of constant daylengths and temperatures on larval diapause development. *Environ. Entomol.* 12: 71-75.
- SAS Institute. 1992. Version 6.08. SAS Institute Inc. Cary, NC. USA. 1028 p.
- Sprent, P., and N. C. Smeeton. 2001. *Applied Nonparametric Statistical Methods*. 3rd edit. Text in Statistical Science. Chapman & Hall CRC. USA. 461 p.
- Taylor, F., and J. B. Spalding. 1988. Fitness functions for alternative development pathways in the timing of diapause induction. *Am. Natural.* 131: 678-699.