

# Uso de virus de poliedrosis nuclear para el control de moscas sierra de coníferas



Dr. Christopher Lucarotti

XIX Simposio Nacional de  
Parasitología Forestal  
Zapopan, Mexico



# Contenido

- Virus - Baculovirus.
- Abeto balsámico (*Abies balsamea*) en el oeste de Terranova, Canadá.
- La mosca sierra del abeto balsámico - *Neodiprion abietis* (Hymenoptera: Diprionidae).
- Pruebas de campo de NeabNPV (Abietiv) en Terranova.
- Registro, comercialización y mercadeo de Abietiv.
- Resumen

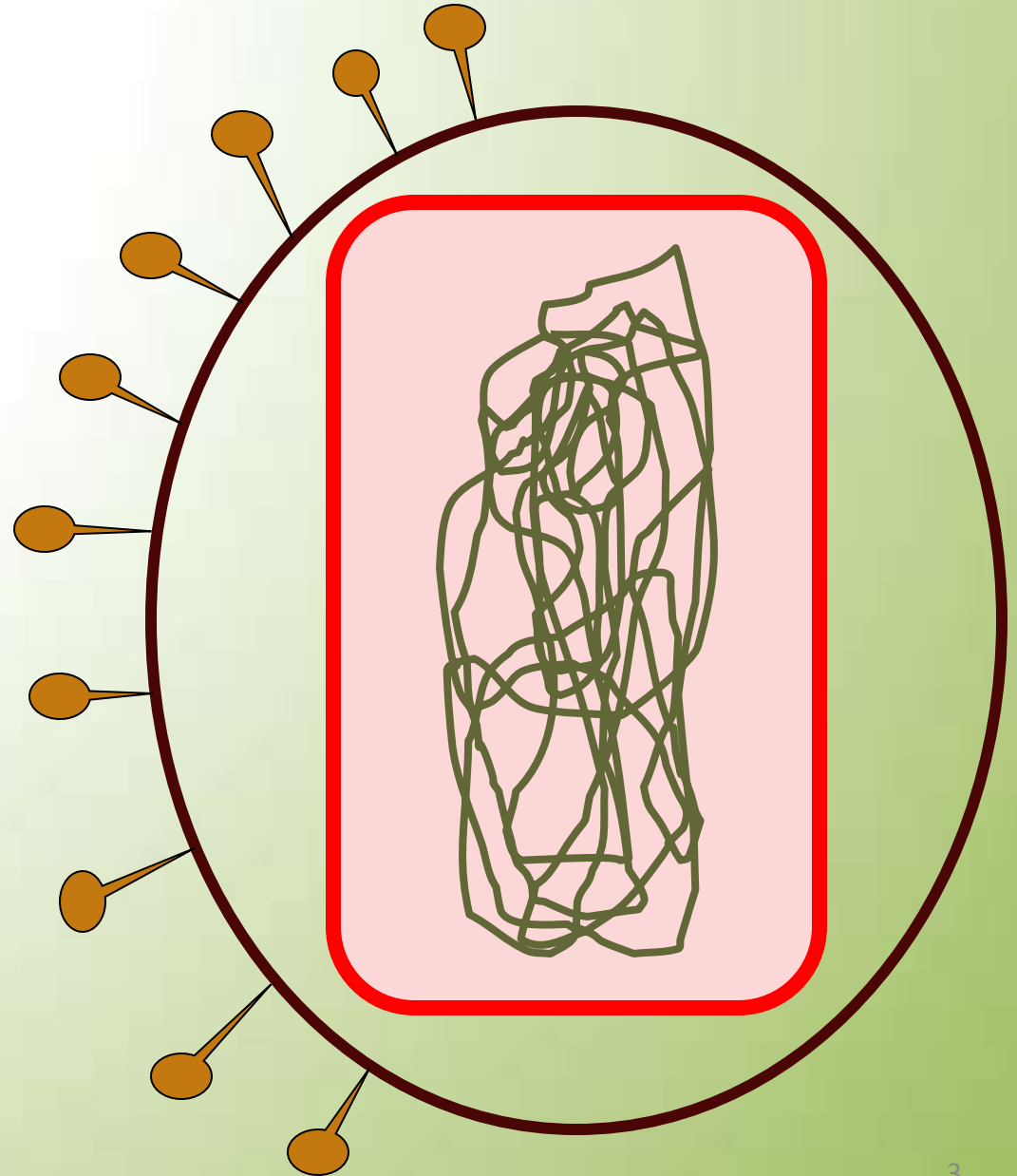
# Estructura básica de los virus

Ácido nucleico, ya sea ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN)

Capa proteica -  
nucleocapside

Con membrana envoltoria,  
o sin ella (Descubierta)

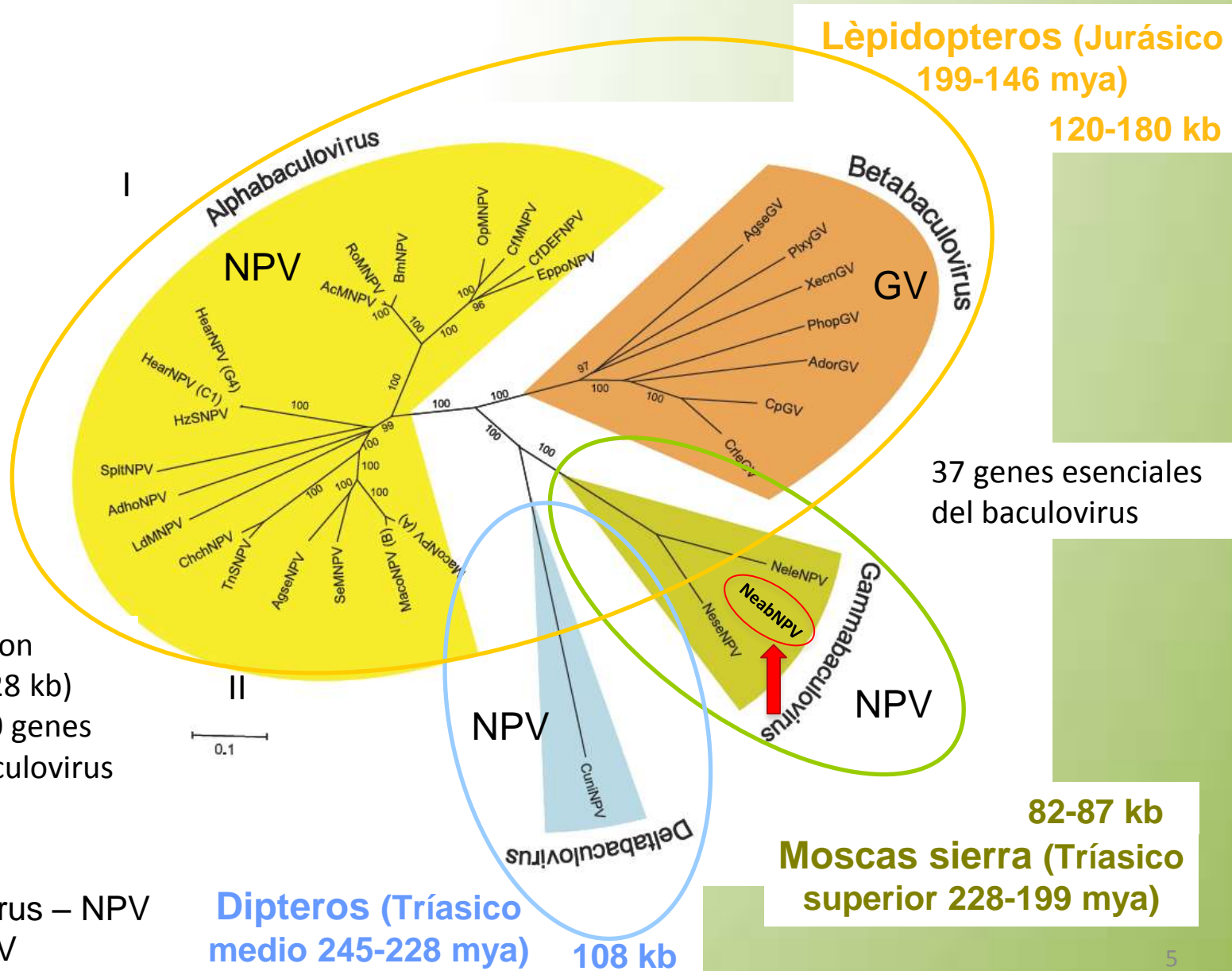
Glicoproteínas asociadas  
a la envoltura



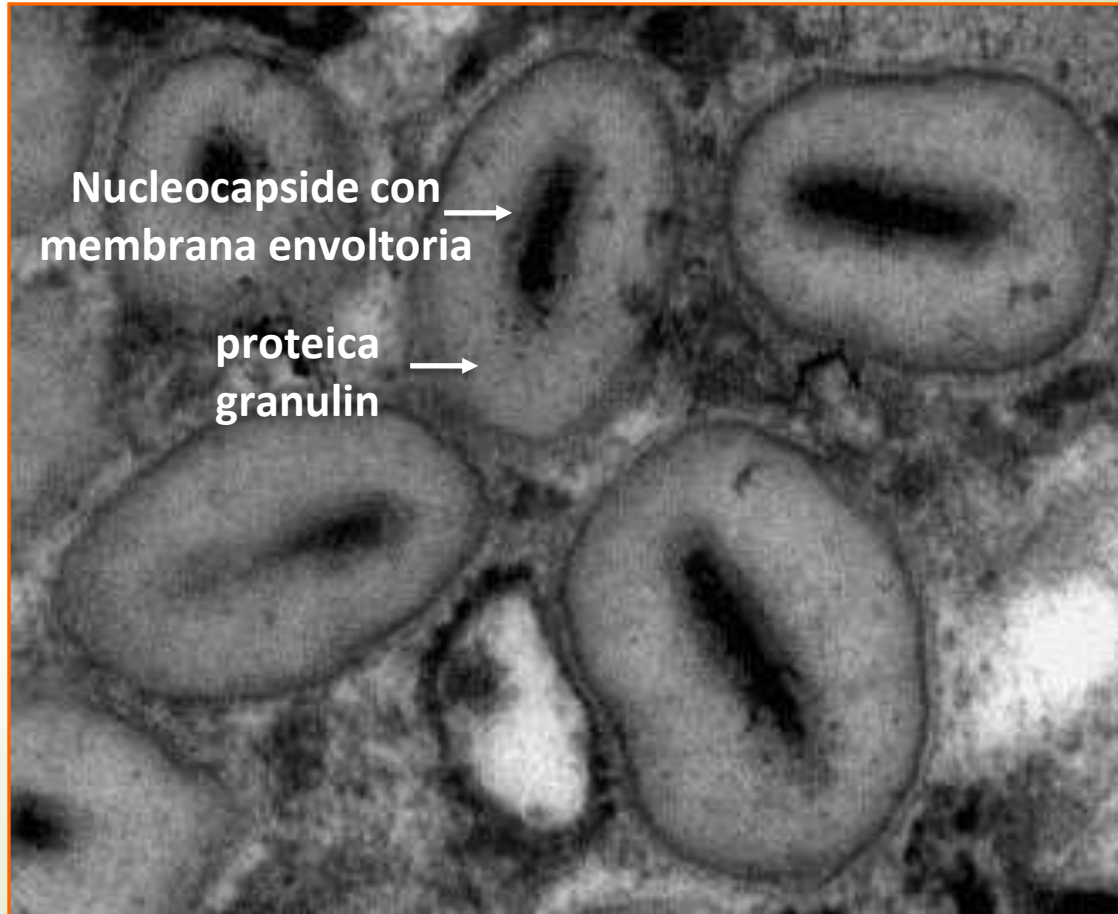
# Baculoviridae

- Virus de ADN de doble cadena
- Nucleocapsides ocluidas por proteínas
- Solamente en insectos
- Nucleopoliedrovirus (NPV) y granulovirus (GV).
- Sin relación a otros virus de plantas o animales
- Muchos se conocen ser causantes de epizootias
- La mayoría son altamente específicos al huésped
- Tamaño genómico de 80 a 180 Kb
- Algunos son accesibles para uso en tecnología recombinante

# Clasificación del baculovirus



# Estructura básica de los Granulovirus (GV) - Betabaculovirus

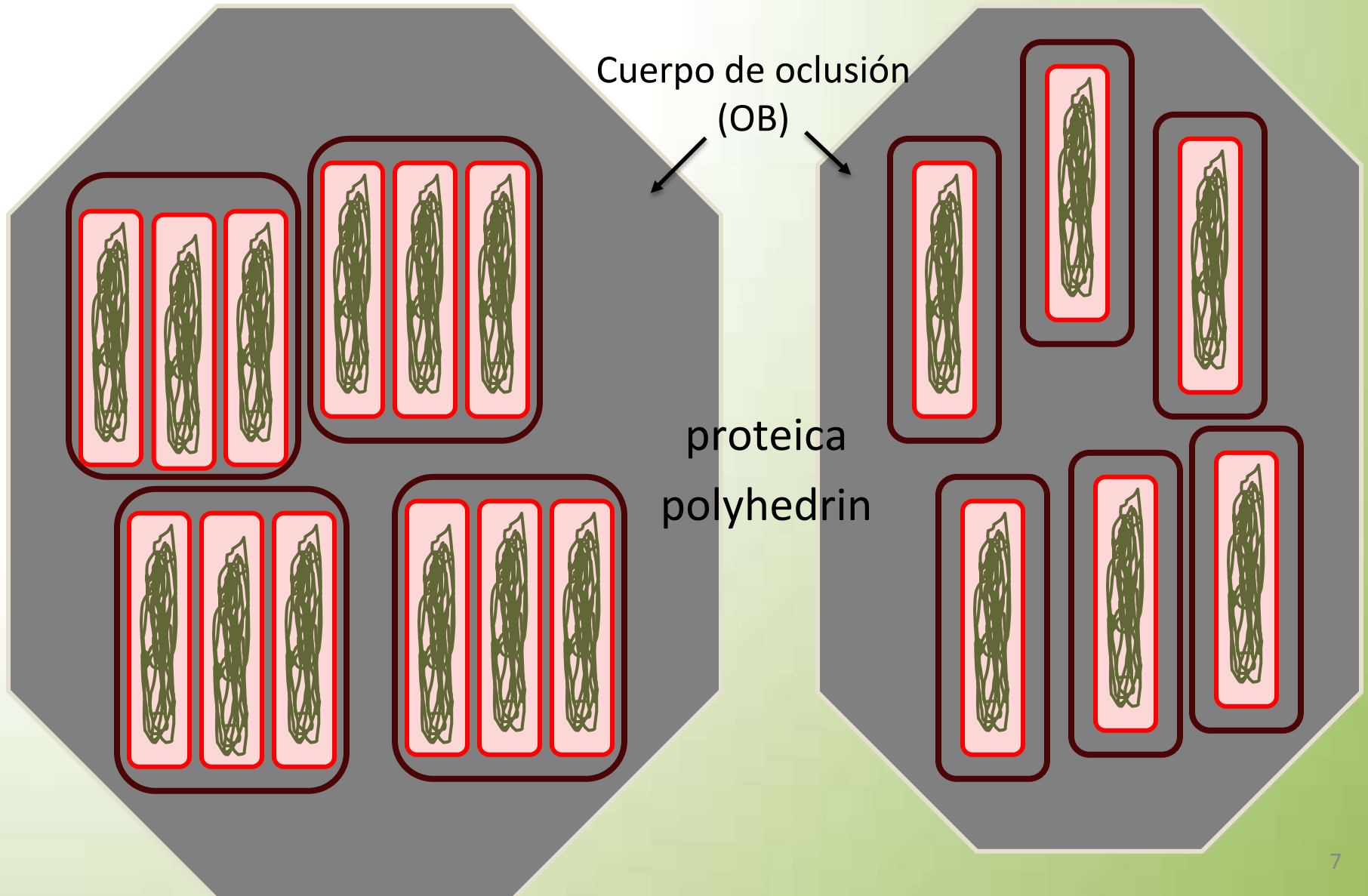


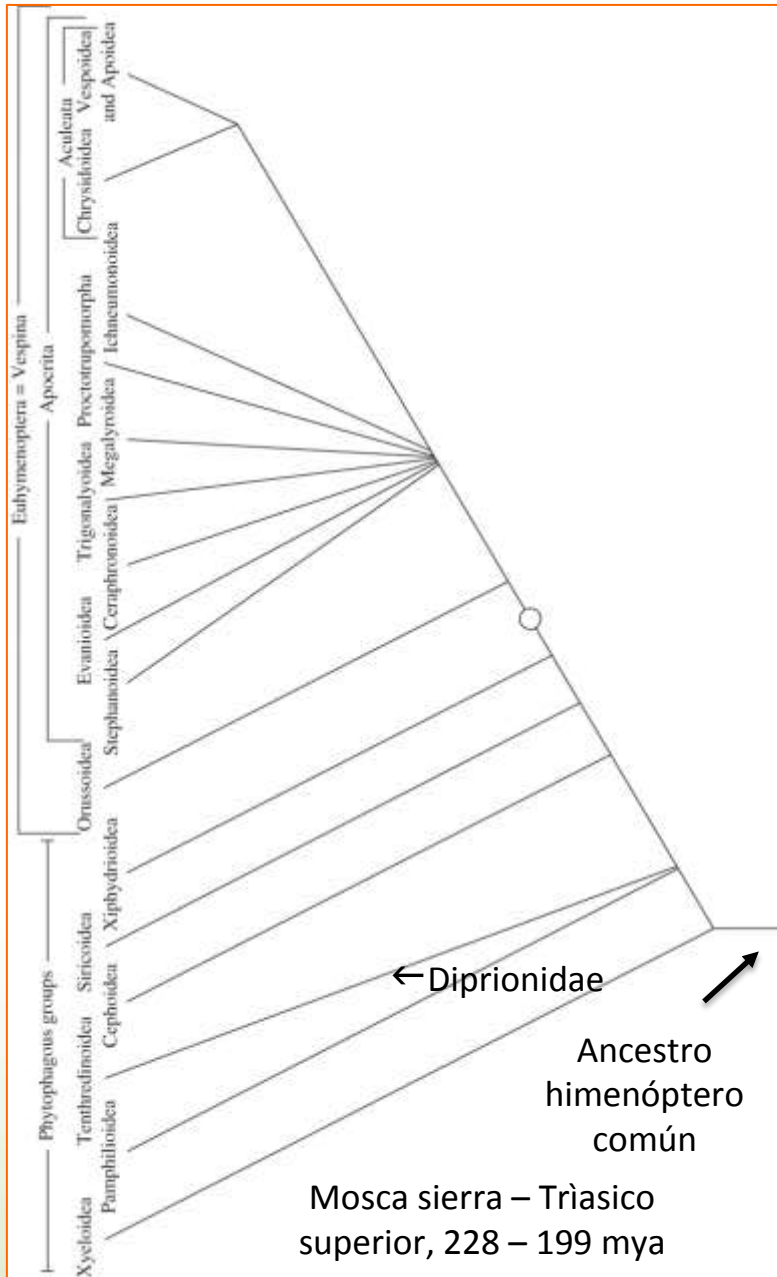
# Estructura básica de los nucleopoliedrovirus (NPV)

## Alfabaculovirus y gamabaculovirus

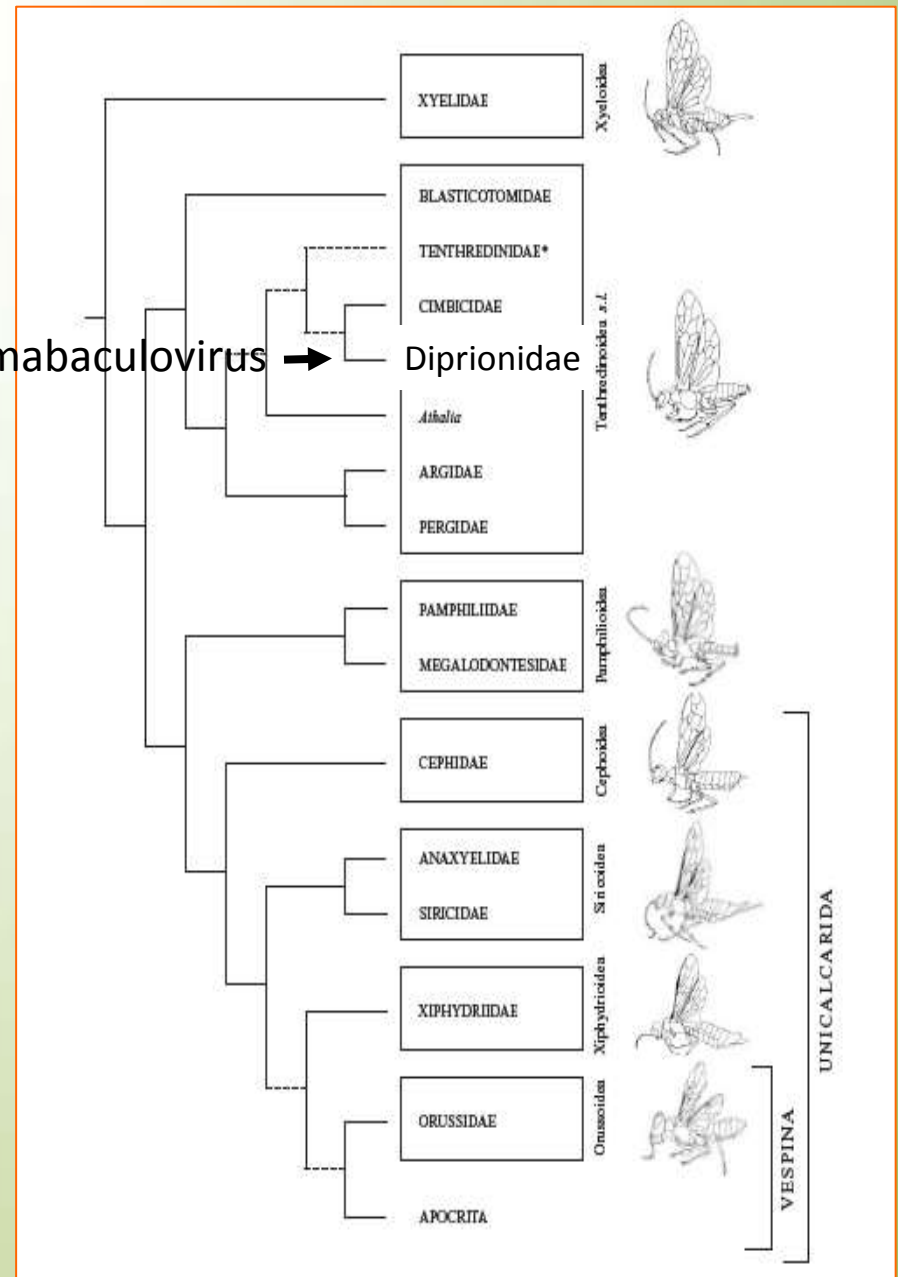
1. Viriones con envolturas múltiples

2. Viriones de envoltura única





Gammabaculovirus →





# Genoma NPV secuenciado de mosca sierra

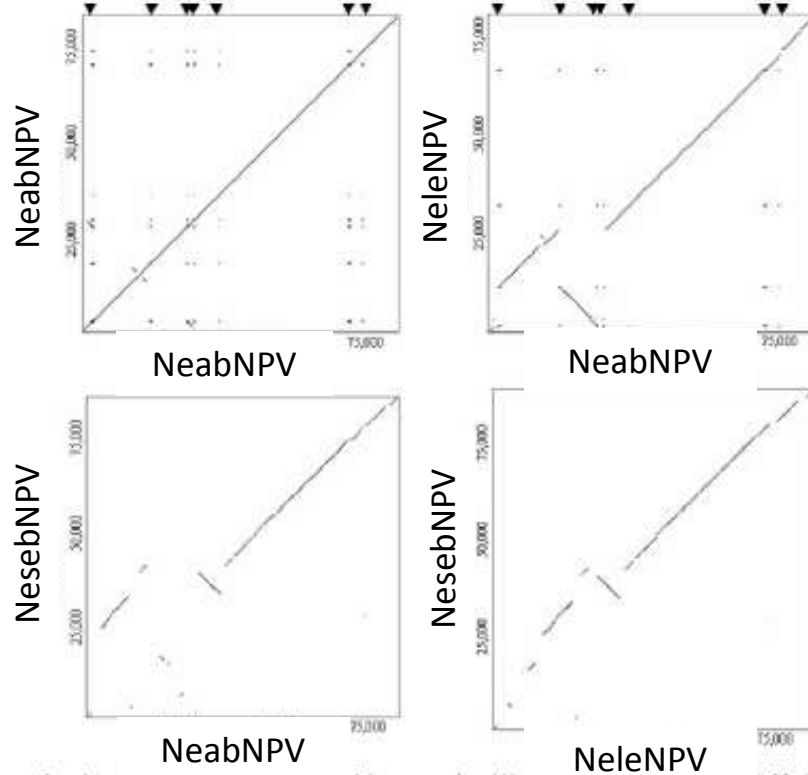


FIG. 3. Genome parity plots. Genome plots were derived by comparing (A) NeabNPV against NeleNPV, (C) NeabNPV against NesebNPV, and (D) NeleNPV against NesebNPV. The axes are labeled with the genome name and the distance (in base pairs). The interspersed repeat sites of NeabNPV are labeled on plots A and B. Triangles above plots A and B represent the locations of interspersed repeats 1 to 7.

Estas tres moscas sierras han sido especies separadas durante 2.5 millones de años

## Sequence and Organization of the *Neodiprion lecontei* Nucleopolyhedrovirus Genome

Hilary A. M. Lauzon,<sup>1</sup> Christopher J. Lucarotti,<sup>2</sup> Peter J. Krell,<sup>3</sup> Qili Feng,<sup>1</sup> Arthur Retnakaran,<sup>1</sup> and Basil M. Arif<sup>1\*</sup>

Canadian Forest Service, Great Lakes Forestry Centre, Sault Ste. Marie, Ontario, Canada P6A 2E5<sup>1</sup>; Canadian Forest Service, Atlantic Forestry Centre, Fredericton, New Brunswick, Canada E3B 5P7<sup>2</sup>; and Department of Microbiology, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada N1G 2W1<sup>3</sup>

## Mosca sierra de cabeza roja NeleNPV Lecontvirus (1983)

Genomic comparison of *Neodiprion sertifer* and *Neodiprion lecontei* nucleopolyhedroviruses and identification of potential hymenopteran baculovirus-specific open reading frames

Hilary A. M. Lauzon,<sup>1</sup> Alejandra Garcia-Maruniak,<sup>2†</sup> Paolo M. de A. Zanotto,<sup>3</sup> José C. Clemente,<sup>3</sup> Elisabeth A. Henriou,<sup>3</sup> Christopher J. Lucarotti,<sup>2</sup> Basil M. Arif<sup>1</sup> and James E. Maruniak<sup>2</sup>

## Mosca sierra de pino europeo NeseNPV (1980s)

## Sequence Analysis and Organization of the *Neodiprion abietis* Nucleopolyhedrovirus Genome

Simon P. Duffy,<sup>1</sup> Aaron M. Young,<sup>1</sup> Benoit Morin,<sup>2</sup> Christopher J. Lucarotti,<sup>2</sup> Ben F. Koop,<sup>1</sup> and David B. Levin<sup>1\*</sup>

Department of Biology, University of Victoria, Victoria, British Columbia, Canada V8W 2Y2,<sup>1</sup> and Canadian Forest Service, Atlantic Forestry Centre, Fredericton, New Brunswick, Canada E3B 5P7<sup>2</sup>

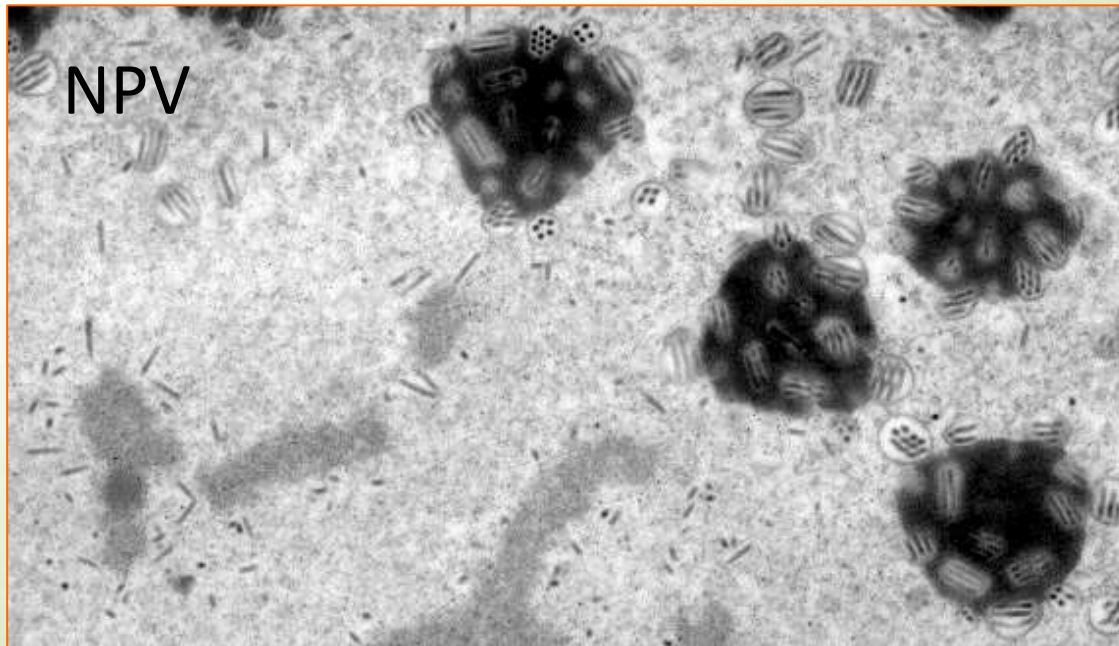
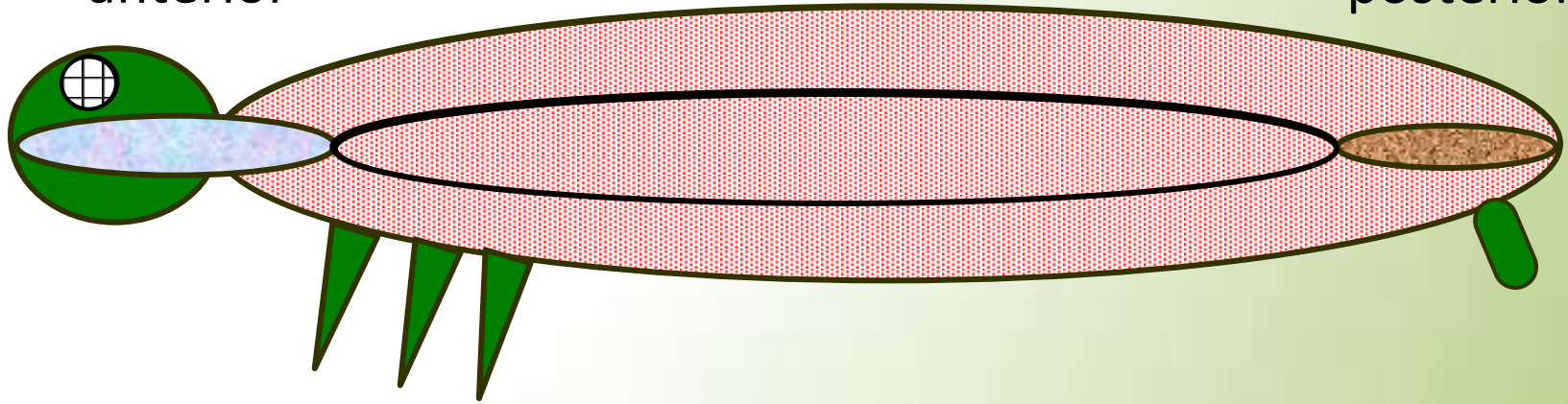
## Mosca sierra del abeto balsámico NeabNPV Abietiv (2009)

# Larva del Lepidópteros

Intestino anterior

Intestino medio

Intestino posterior



10<sup>10</sup> – 10<sup>12</sup>  
OBs/hectáres  
(ha)

## Aplicación y eficacia de NPV contra larvas de lepidópteros

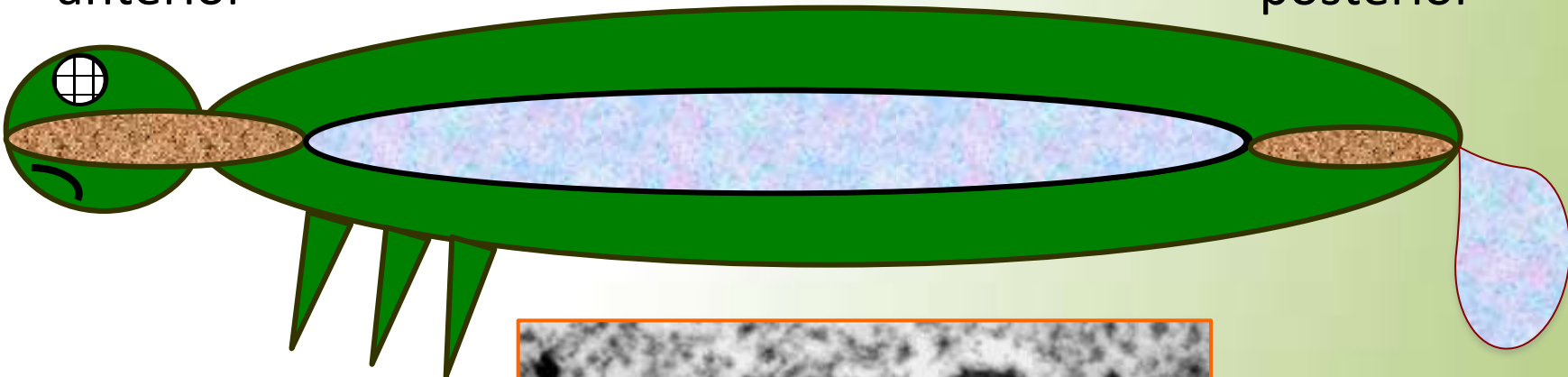
	feeding habit	NPV epizootics	aerial spray OBs/ha	control
Productos registrados	Spruce budworm <i>Choristoneura fumiferana</i>	cryptic solitary	no 2.5 x 10 <sup>10</sup> to 3.4 x 10 <sup>12</sup>	no
	Western spruce budworm <i>C. occidentalis</i>	cryptic solitary	no 2.5 x 10 <sup>11</sup> to 1.7 x 10 <sup>14</sup>	no
	Jack pine budworm <i>C. pinus</i>	cryptic solitary	no 7.5 x 10 <sup>11</sup>	no
TM Biocontrol Virtuss	Douglas-fir tussock moth <i>Orgyia pseudotsugata</i>	open solitary	yes 1.6 x 10 <sup>10</sup> to 2.5 x 10 <sup>11</sup>	yes ←
	White-marked tussock moth <i>O. leucostigma</i>	open solitary	yes 2.5 x 10 <sup>11</sup>	yes ←
Gypchek Disparvirus	Gypsy moth <i>Lymantria dispar</i>	open solitary	yes 5.0 x 10 <sup>11</sup> to 2.5 x 10 <sup>12</sup>	yes ←
	Forest tent caterpillar <i>Malacosoma disstria</i>	open communal	yes & no 4.4 x 10 <sup>9</sup> to 1.8 x 10 <sup>13</sup>	so-so
	Bruce spanworm <i>Operophtera bruceata</i>	open solitary	yes ground only	yes
	Winter moth <i>O. brumata</i>	open solitary	no ground only	no
	Hemlock looper <i>Lambdina fiscellaria</i>	open solitary	no 1.0 x 10 <sup>11</sup>	so-so

# Larva de la mosca sierra

Intestino anterior

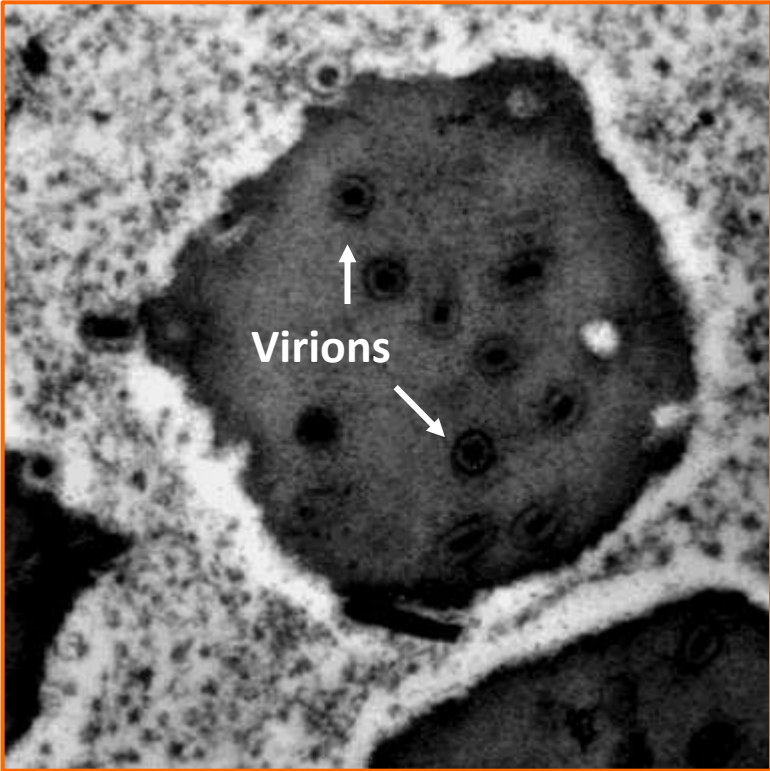
Intestino medio

Intestino posterior



NeabNPV

Cuerpo de oclusión (OB)



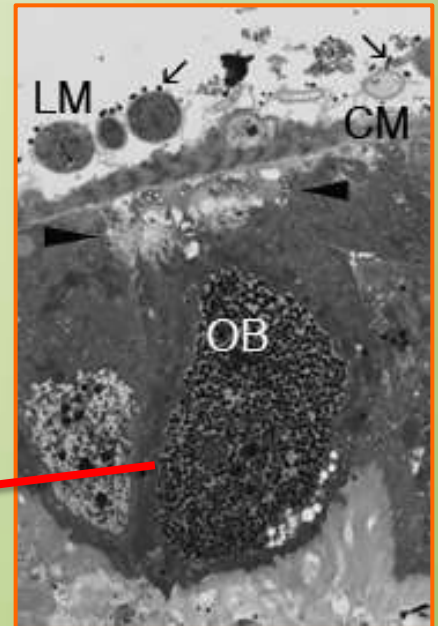
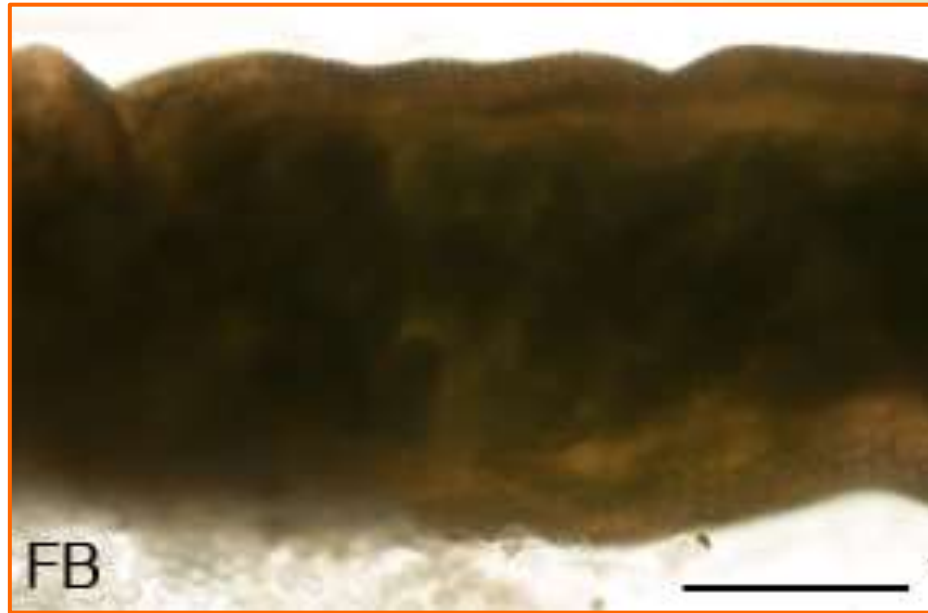
10<sup>9</sup>  
OBs/ha

## Aplicación y eficacia de NPVs contra larvas de mosca sierra

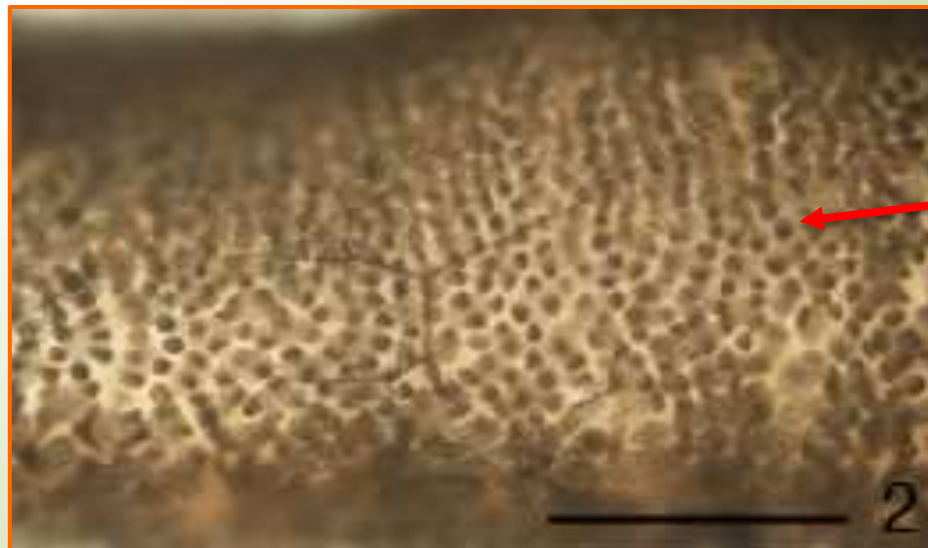
	feeding habit	NPV epizootics	aerial spray OBs/ha	control
Productos registrados	European pine sawfly <i>Neodiprion sertifer</i>	open communal	yes 5.1 x 10 <sup>10</sup> to 3.9 x 10 <sup>11</sup>	yes
Lecontvirus	Redheaded pine sawfly <i>N. lecontei</i>	open communal	yes 1.3 x 10 <sup>9</sup> to 5.5 x 10 <sup>9</sup>	yes ←
	Swaine jack pine sawfly <i>N. swainei</i>	open communal	yes 9.4 x 10 <sup>9</sup> to 7.5 x 10 <sup>10</sup>	yes
	Red pine sawfly <i>N. nanulus</i>	open communal	yes ground only	yes
	Jack pine sawfly <i>N. pratti banksianae</i>	open communal	yes ground only	yes
Abietiv	Balsam fir sawfly <i>N. abietis</i>	open communal	yes 1 – 3 x 10 <sup>9</sup>	yes ←
	European spruce sawfly <i>Gilpinia hercyniae</i>	open solitary	yes ground only	yes

# Intestino medio de las larvas

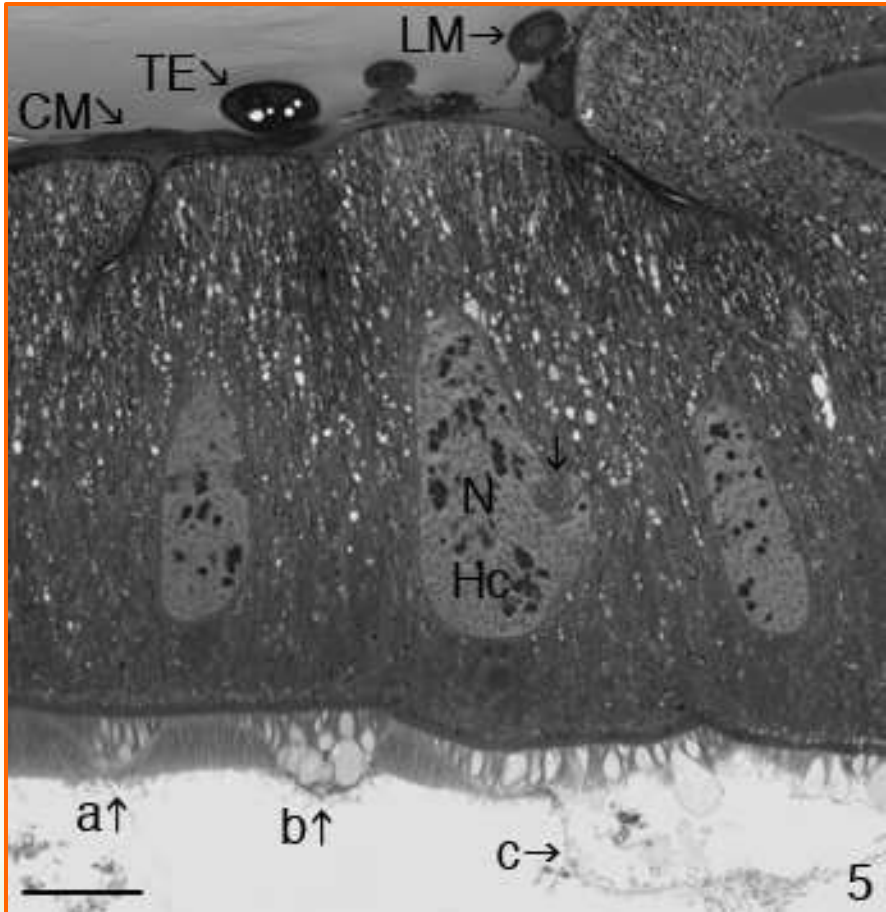
Sano



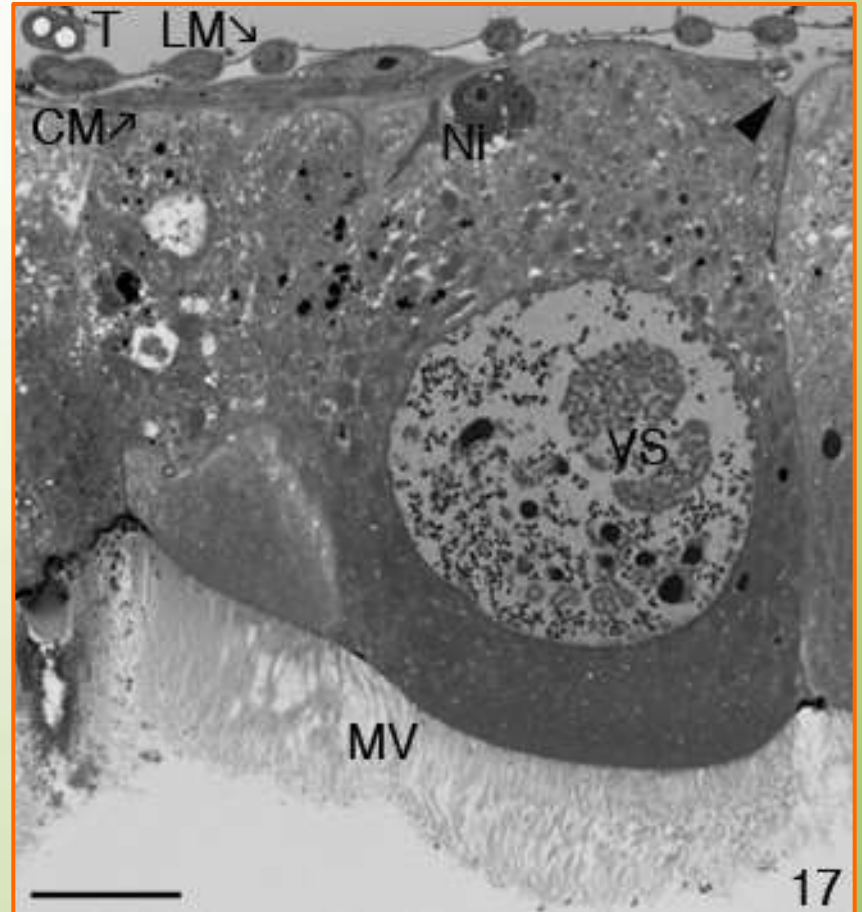
NeabNPV 120+  
horas pos-  
infección (hpi)



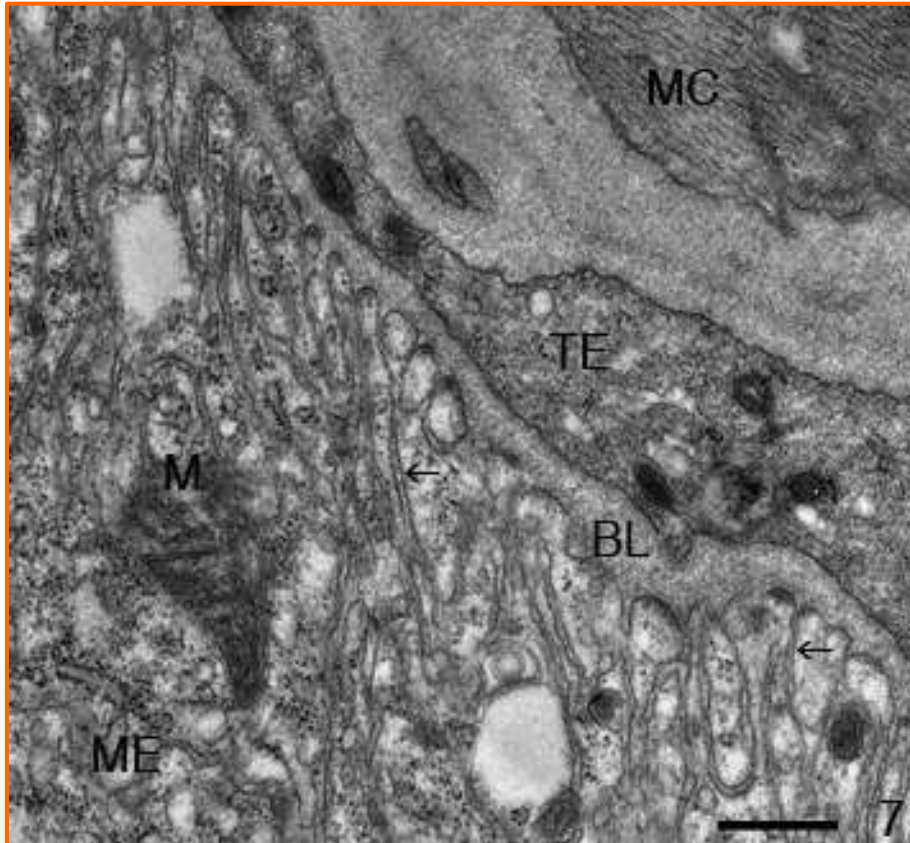
# Sano



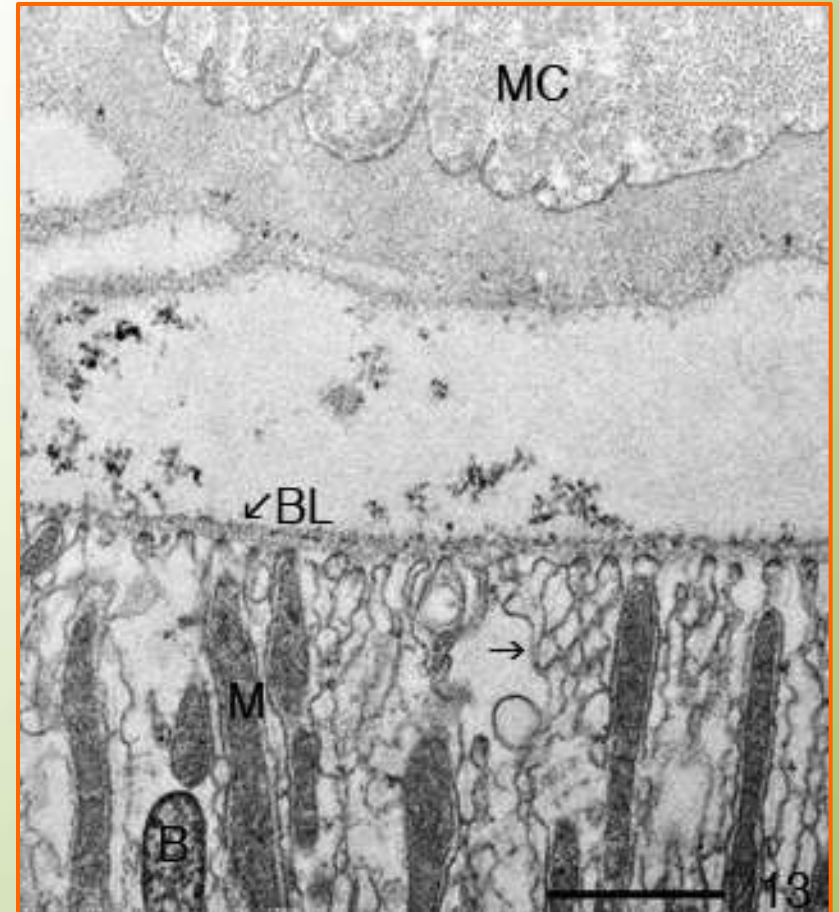
# NeabNPV 72 hpi



Sano



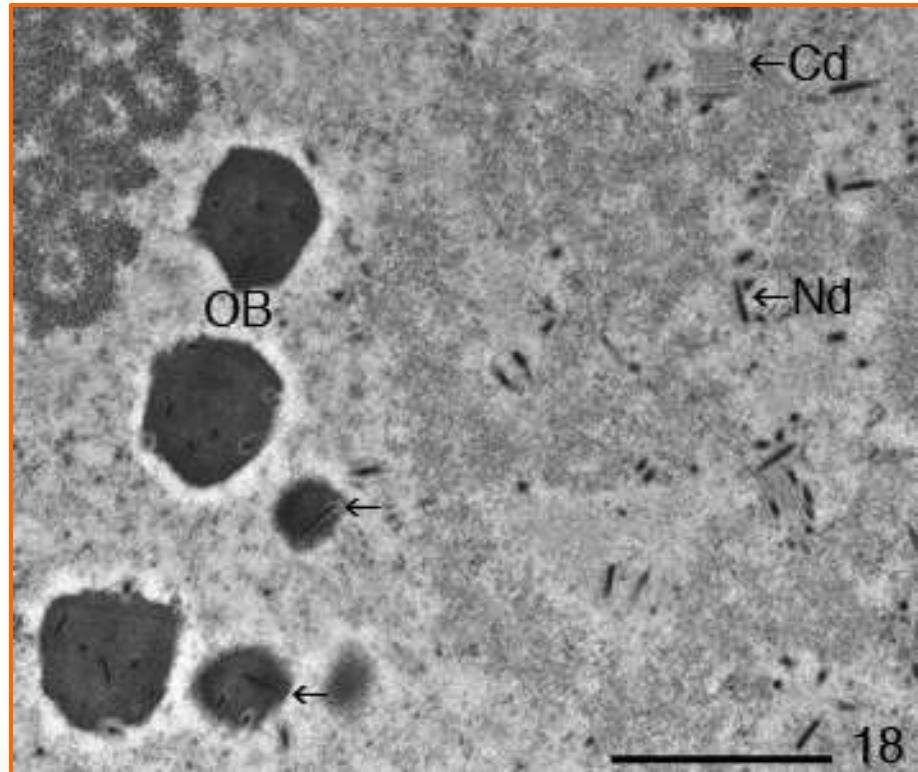
NeabNPV 48 hpi



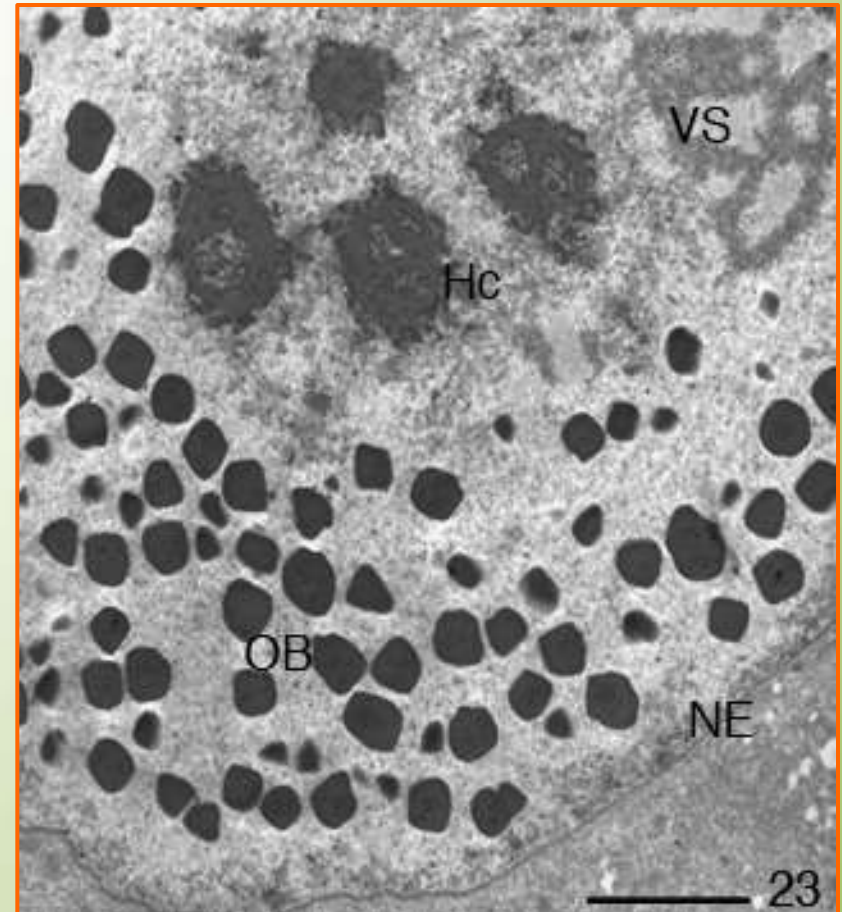
Disolución de la lámina basal



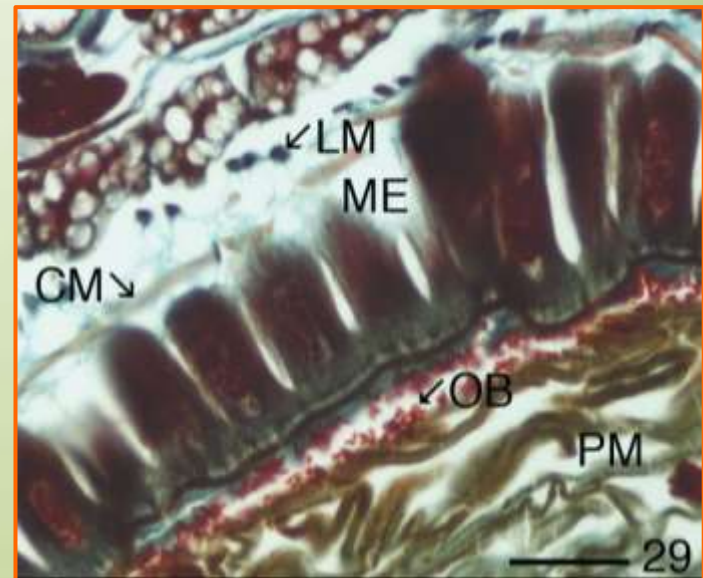
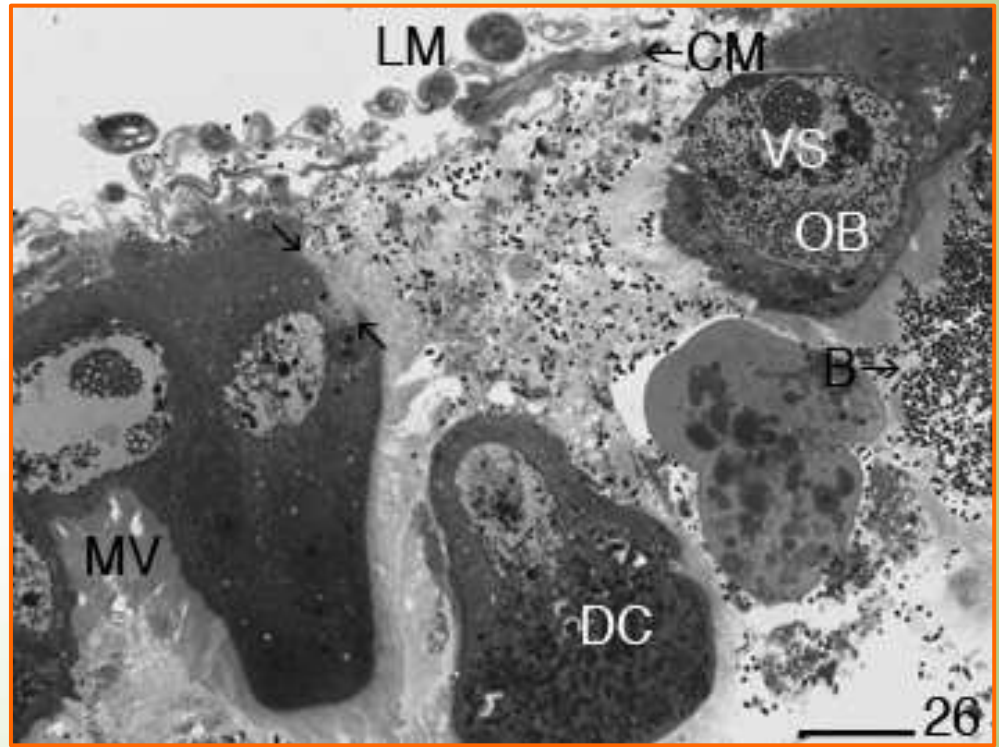
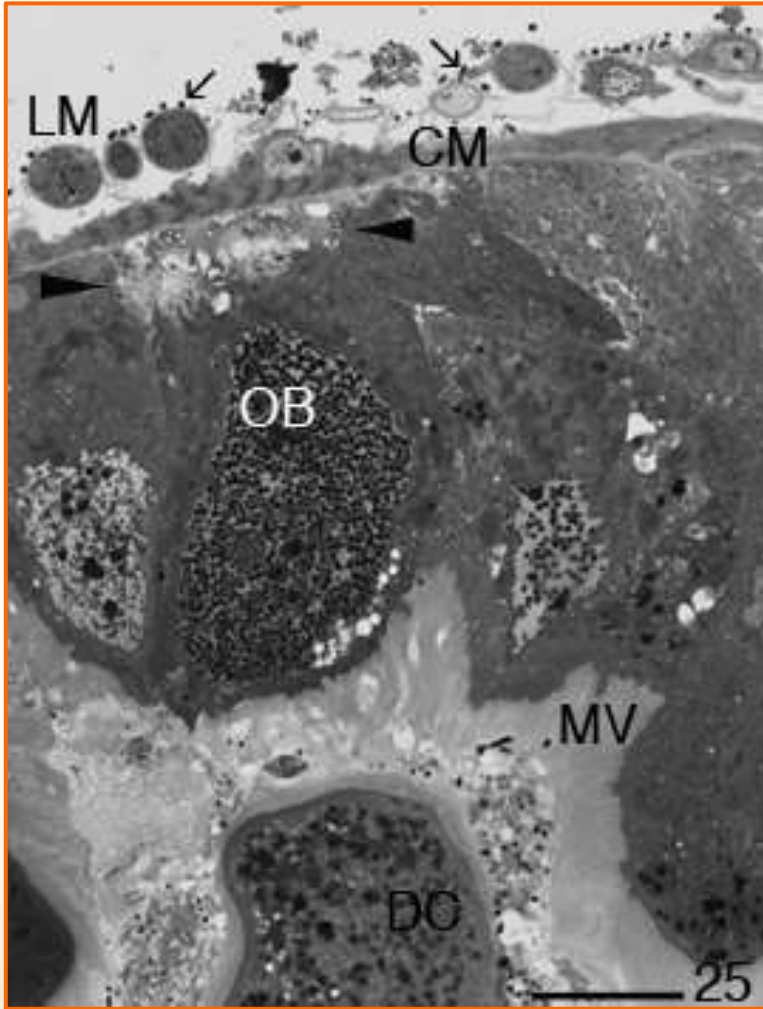
NeabNPV 72 hpi



NeabNPV 96 hpi

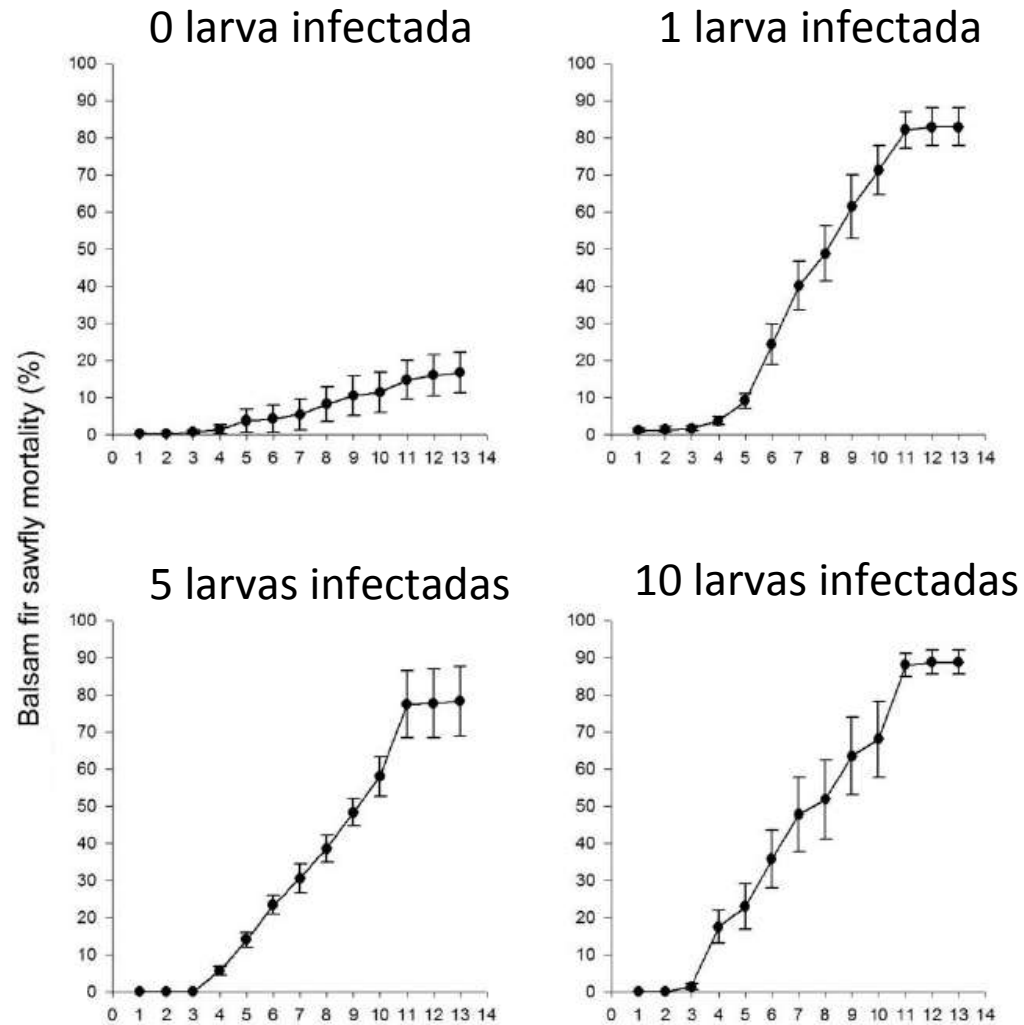


# NeabNPV 120 hpi



**Figure 2.** Mean ( $\pm$  SEM) larval mortality resulting from introducing zero (control), one, five or 10 NeabNPV-treated *N. abietis* larvae into 10 replicate groups for each treatment of first instars isolated on individual balsam fir branches in the laboratory. Each treatment group consisted of a total of 50 larvae at an equivalent density of approximately 1330 larvae/ m<sup>2</sup> balsam fir foliage.

50 larvas / ensayo



Días después de la introducción de larvas infectadas

# Los bosques de Canadá

- Boreal
- Great Lakes – St. Lawrence
- Acadian
- Carolinian
- Subalpine
- Columbia
- Montane
- Coastal
- Nonforest
  - Tundra
  - Grasslands



Terranova  
La mosca sierra del  
abeto balsámico





La mosca sierra del abeto balsámico es un insecto nativo de los bosques en Canadá.

Las larvas comen el follaje un año de edad o mayor.

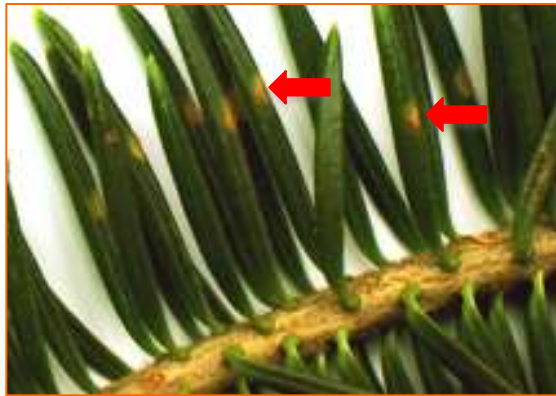
Defoliación de la mosca sierra del abeto balsámico.

Septiembre - octubre

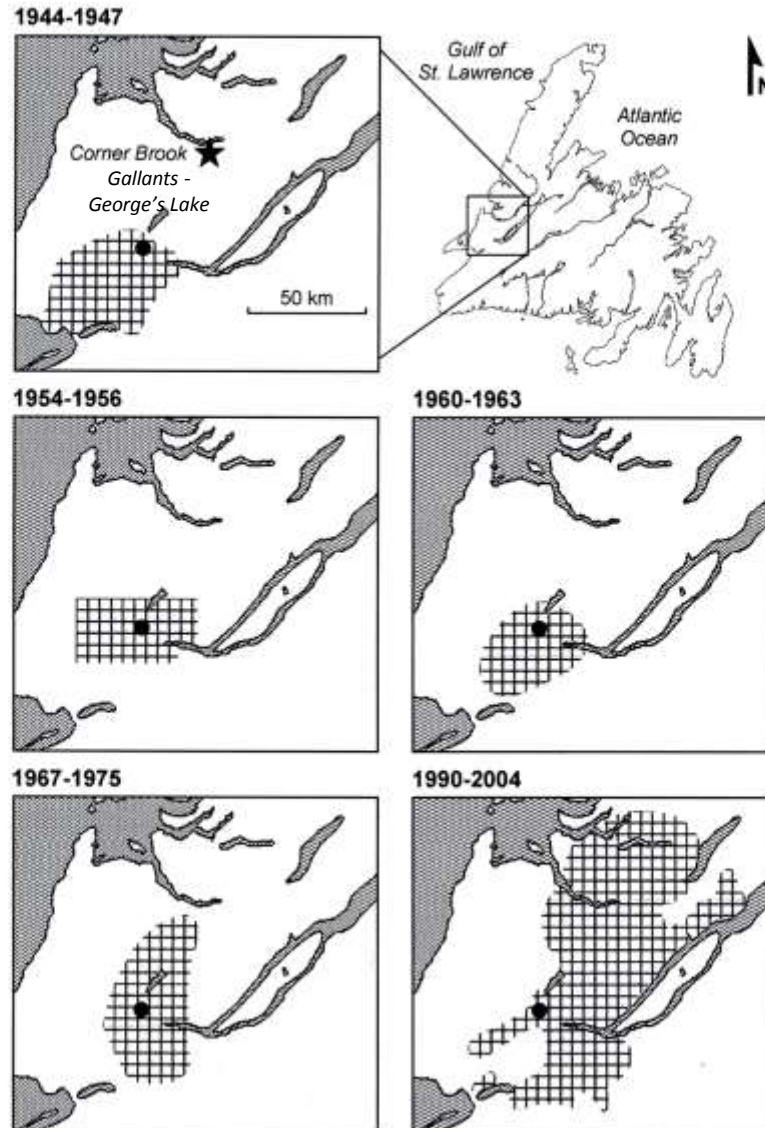


# Mosca sierra del abeto balsámico (*Neodiprion abietis*)

- Oviposición en nuevos retoños entre agosto-septiembre.
- Invernación como huevos (←).
- Eclosión de larvas en junio y julio.
- Las larvas gregarias se alimentan del follaje viejo.
- La pupación, eclosión de adultos y el apareamiento en agosto y septiembre.
- Oviposición.



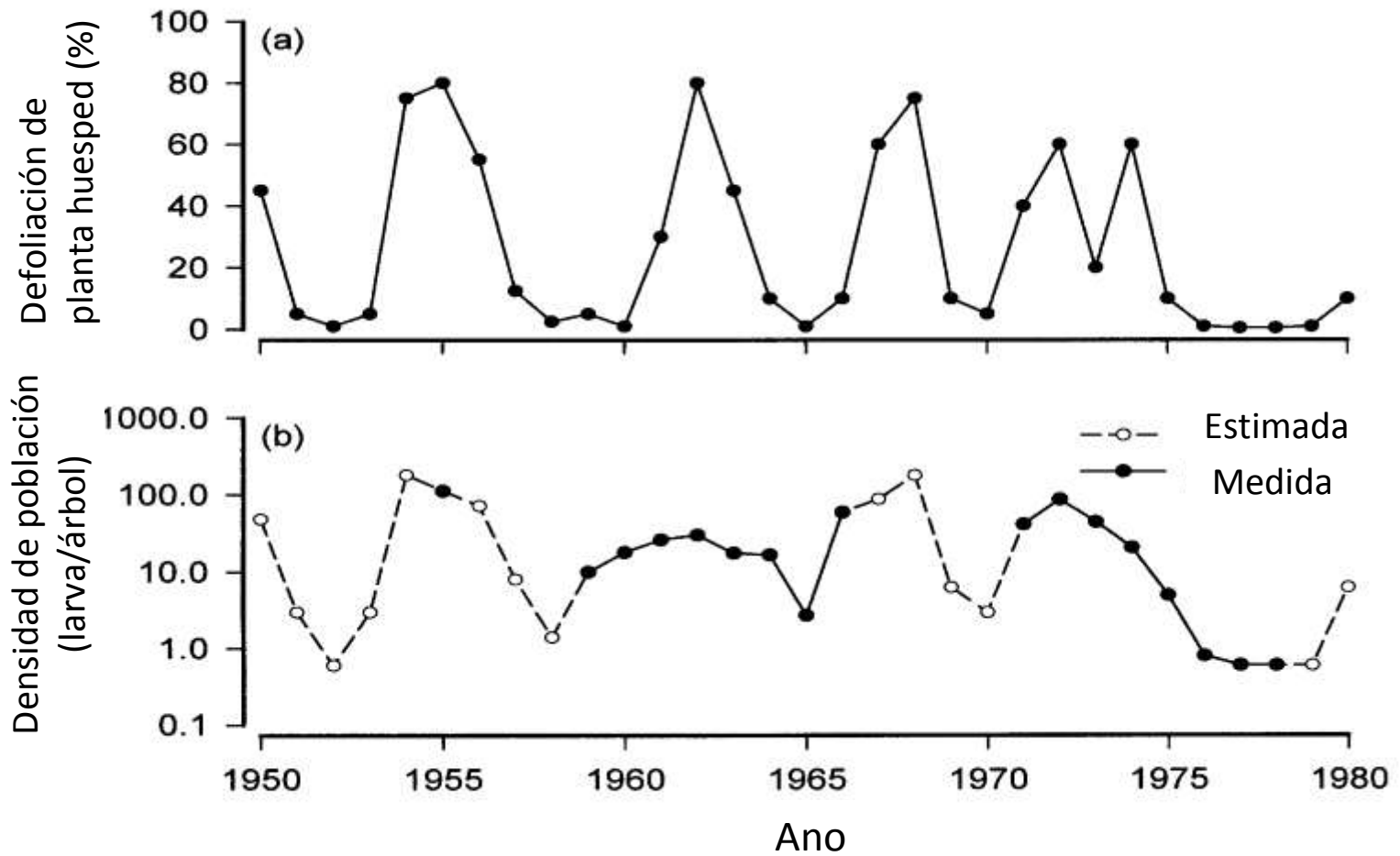
# Defoliación de la mosca sierra del abeto balsámico en el oeste de Terranova 1944-2004



# ¿Por qué?

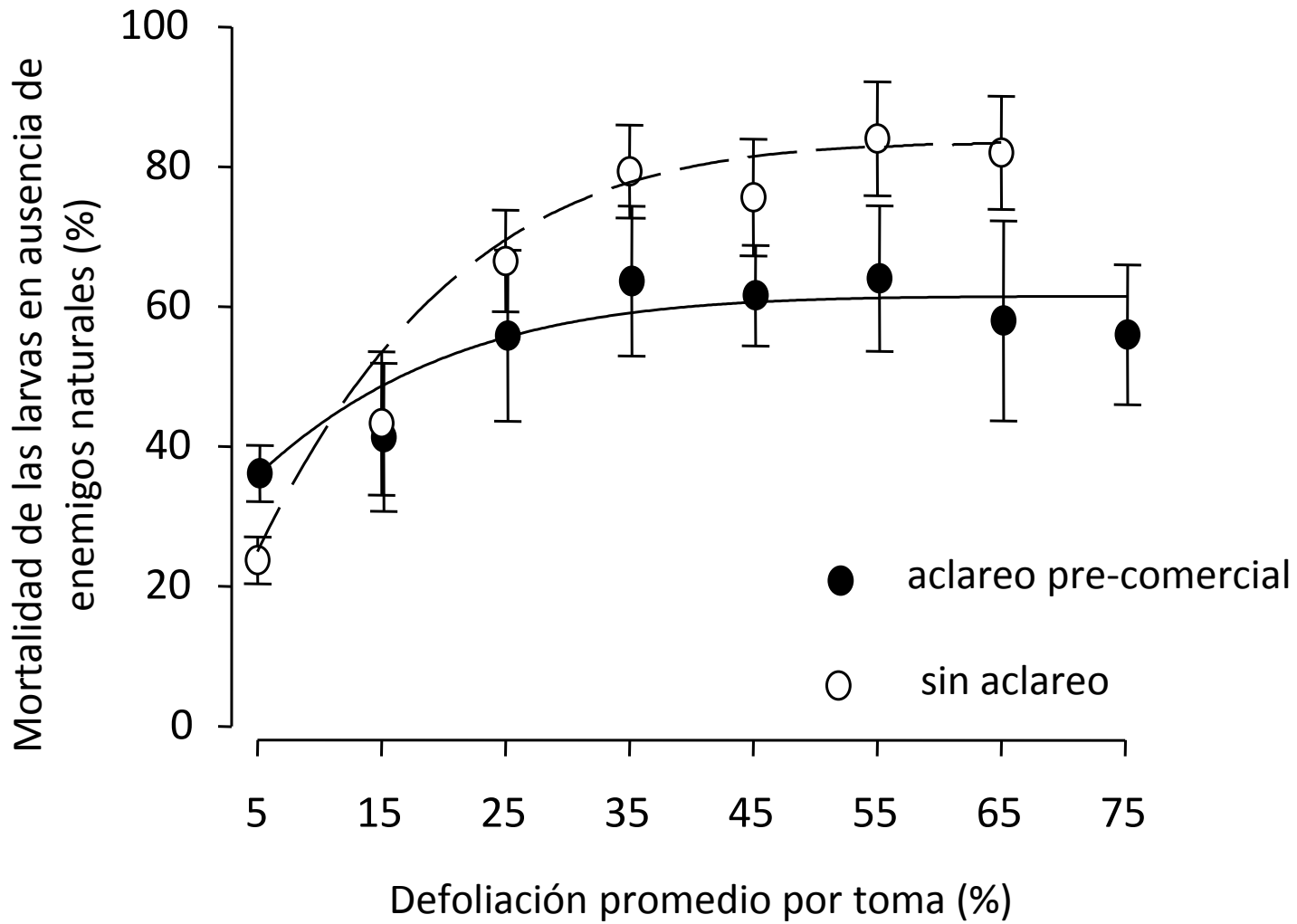
- Abeto balsámico se regenera naturalmente después de la cosecha o fuego.
- En 3 a 5 m de altura, el número de árboles se redujo de 25,000 a 5,000/hectáres – aclareo pre-comercial.
- Aumento de la zona afectada por las moscas sierra del abeto balsámico coincide con mayor aclareo pre-comercial entre 1944 y 2004.



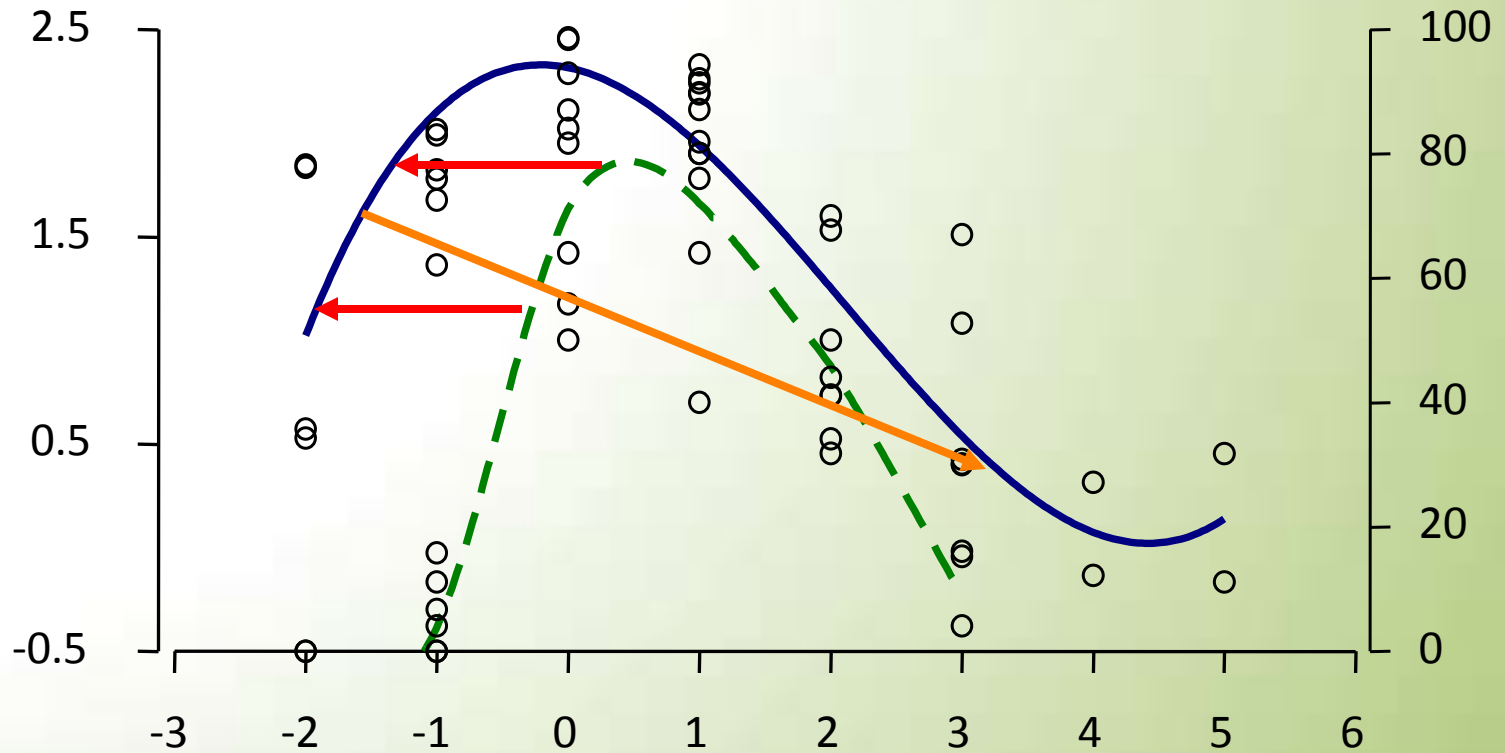


Moreau (2006)

Moreau (2006)



Densidad de mosca sierra



Infección por NPV

Generaciones a partir de pico de densidad de huevos

# Socios y financiamiento

Atlantic Canada Opportunities Agency

SERG - International

Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada

Government of Labrador and Newfoundland



Forest Protection Limited



University of  
New Brunswick

University of  
Victoria

Corner Brook Pulp and Paper

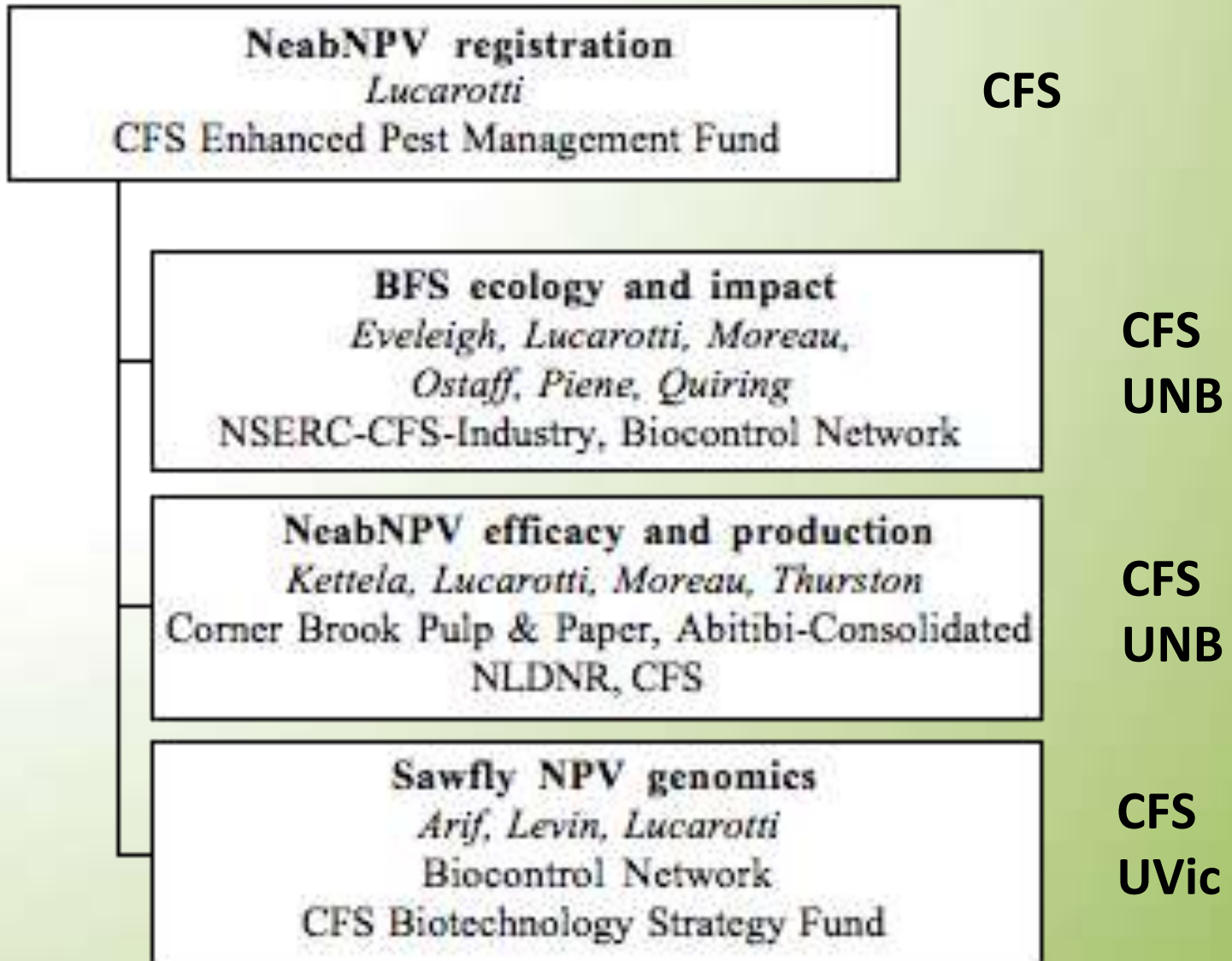
Abitibi Consolidated



Natural Resources  
Canada

Ressources Naturelles  
Canada

# Investigaciones principales del proyecto de moscas sierras de *Abies balsamea* 1996-2009



## Producción de Abietiv

- NeabNPV es generalmente producida en el campo como parte del programa de aplicación aérea.
- Los árboles altamente infestados por la mosca sierra de *Abies balsamea*, son tratados con NeabNPV y las larvas infestadas son cosechadas por aproximadamente una semana 4 días después de la aplicación de NeabNPV.
- Las larvas son recolectadas en costales de 20-kg que contienen follaje, y son almacenadas hasta que todas las larvas están muertas.
- Las ramas son removidas y las larvas muertas secas y las hojas secas son transferidas a bolsas de papel y almacenadas a temperatura ambiente.

# Producción de Abietiv



40 mL ( $1.6 \times 10^{11}$ ) tratarán 160 hectáreas a una tasa de  $1 \times 10^9$  OBs/ha en 2.5 L de melaza acuosa al 20% (portador de virus). El valor de cada tubo de 40 mL es de \$8000.

# Forest Protection Limited

Fredericton International Airport (YFC), Nuevo Brunswick



Lucha contra los incendios forestales  
Aplicación aérea de herbicidas e insecticidas





La mayor parte de las aplicaciones aéreas fueron por medio de aeronaves Cessna 188 "Ag-Truck"

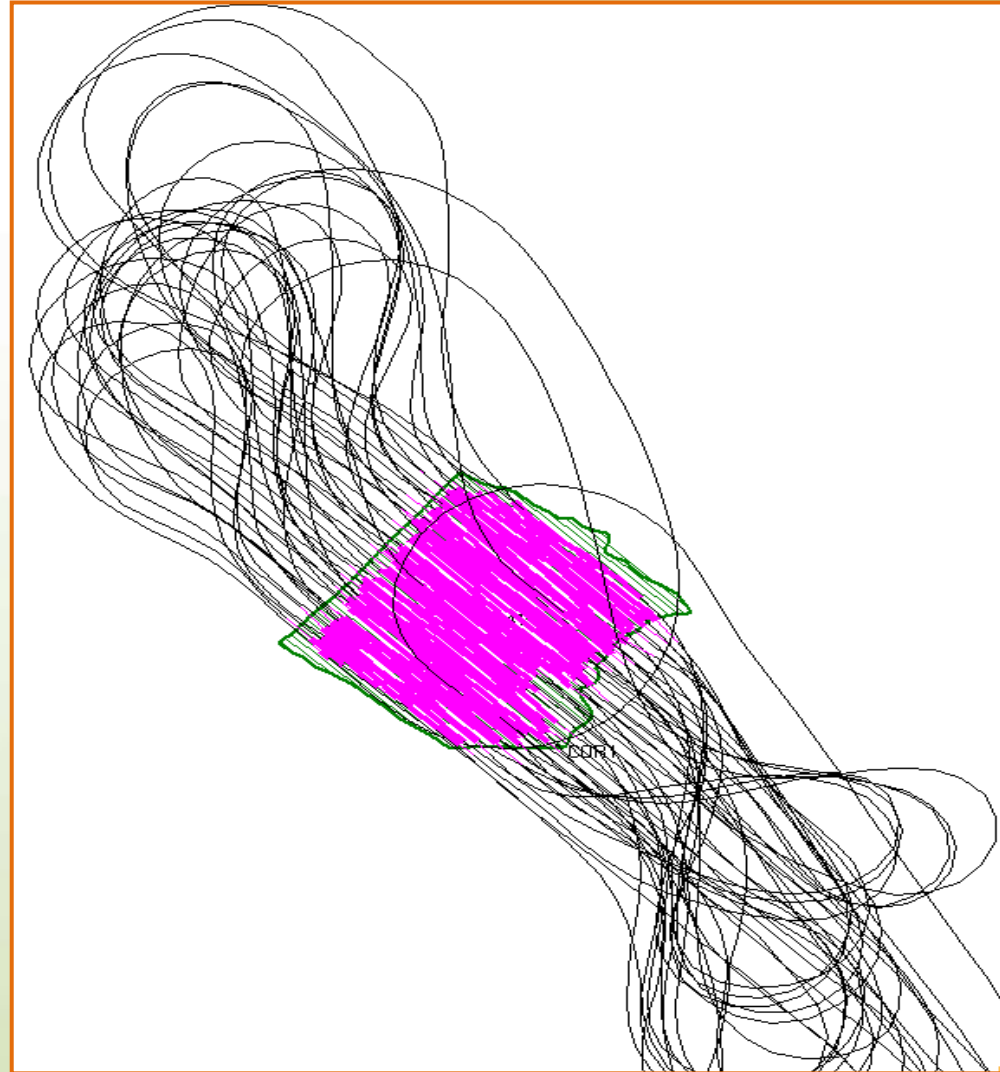


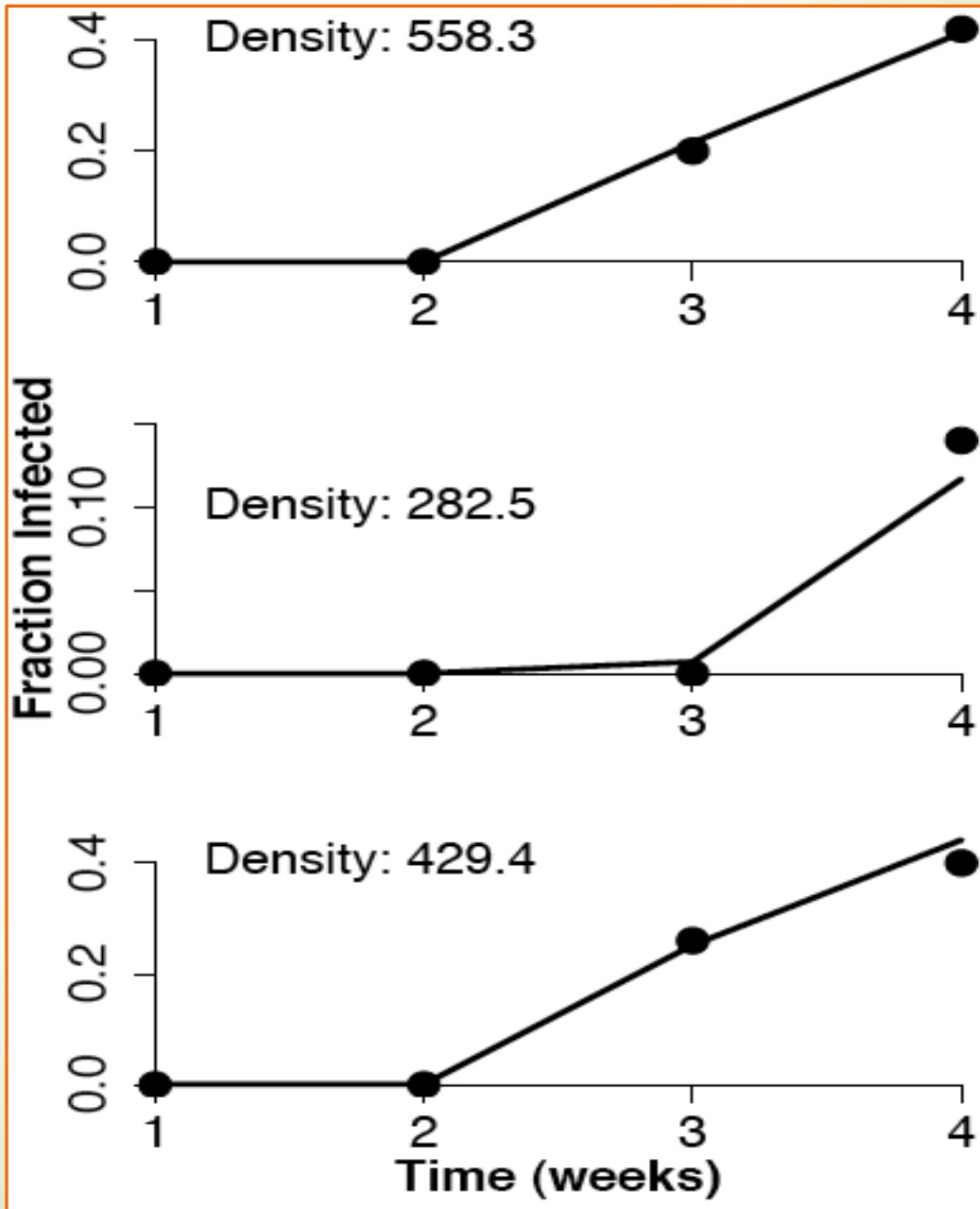
# Aplicaciones tecnológicas individuales

- Software de direccionamiento.
- Altimetros de radar.
- Sistemas de cartografía (GIS) y posicionamiento (GPS).
- On/off boom válvulas controladas.
- Controladores de flujo de velocidad variable.
- Control de caudal, sensores de presión, acelerar.
- Meteorología aerotransportado en aviones aplicación.
- Optimización de depósitos.
- El rastreo por satélite.
- Modelos de depósito de pulverización.
- Todos los datos registrados.

# Navegación de aeronave

- La posición (Latitud/Longitud) de las esquinas de los bloques fueron subidas por medio de archivos electrónicos a la computadora de la aeronave.
- La posición, altura, velocidad, tasa de flujo, RPM del atomizador y otras variables de la aeronave fueron registradas y descargadas al terminar el trabajo .





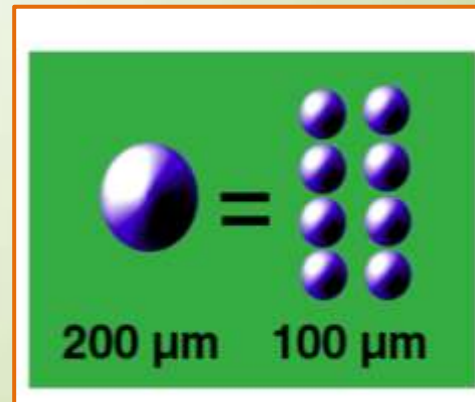
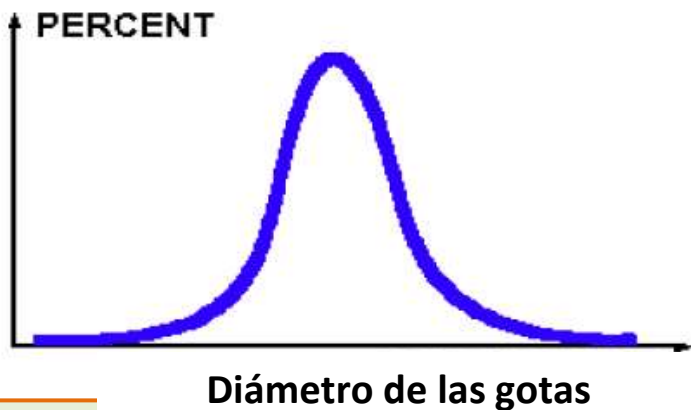
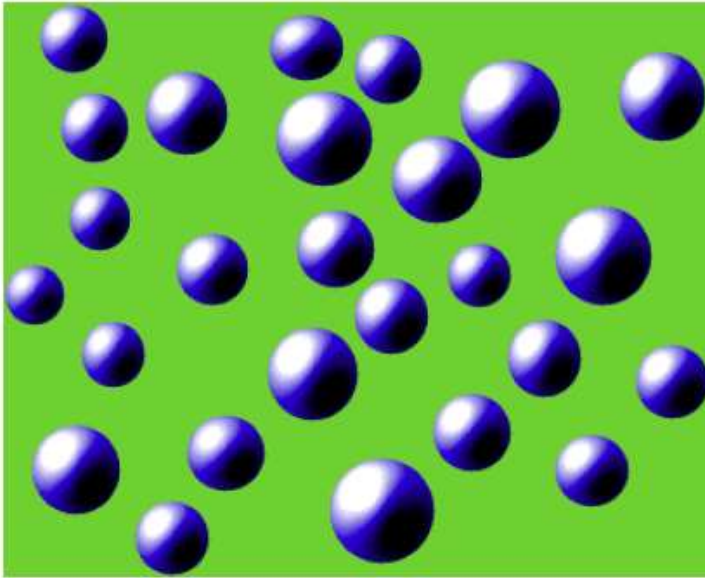
Densidad = número de larvas por rama 45-cm

Nuestra fórmula - melaza acuosa al 20%



# Micronaire AU 4000 atomizador rotatorio

## De un atomizador aéreo

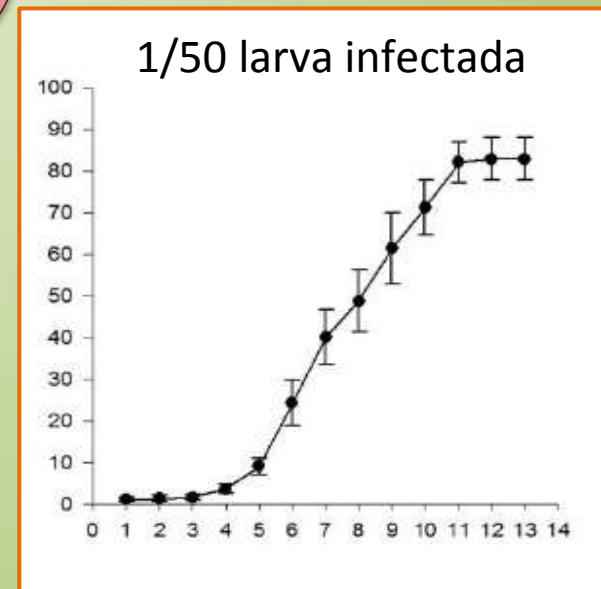


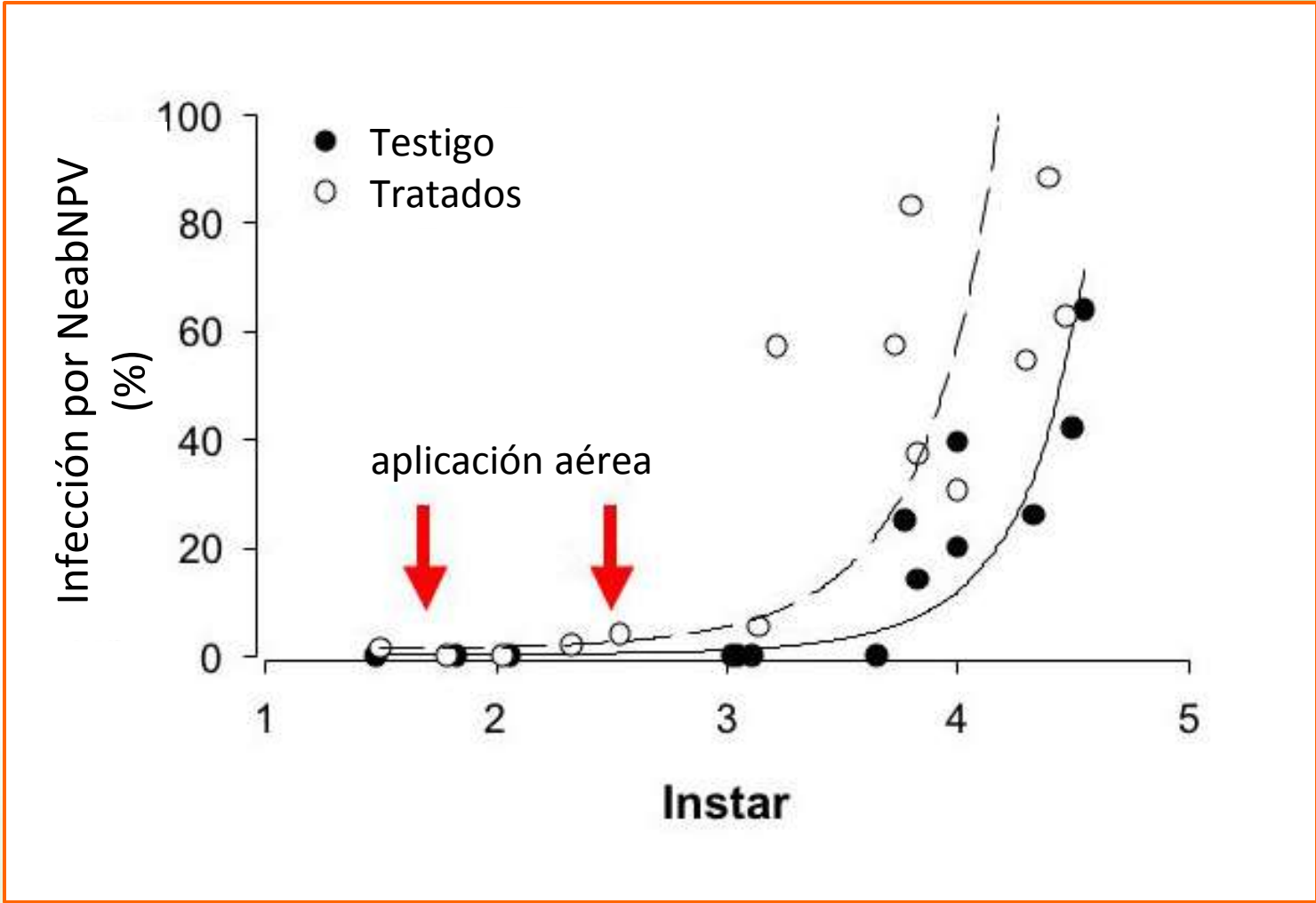
Gotas pequeñas dan mayor gotas/cm<sup>2</sup> que gotas de mayor tamaño.

Las gotas pequeñas (100  $\mu\text{m}$ ) penetran con mayor facilidad al follaje denso.

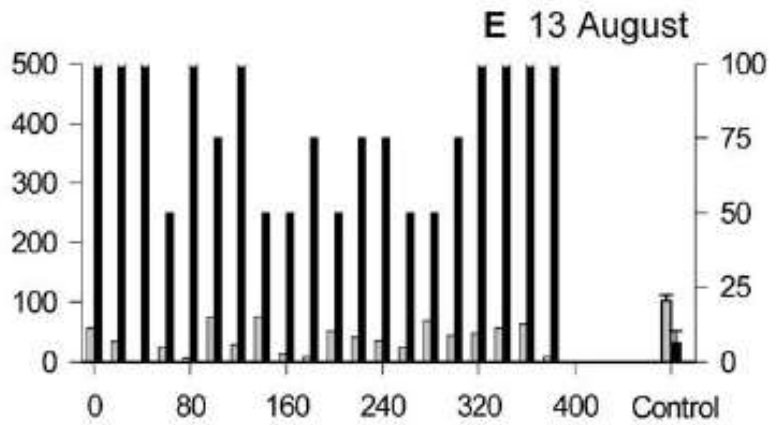
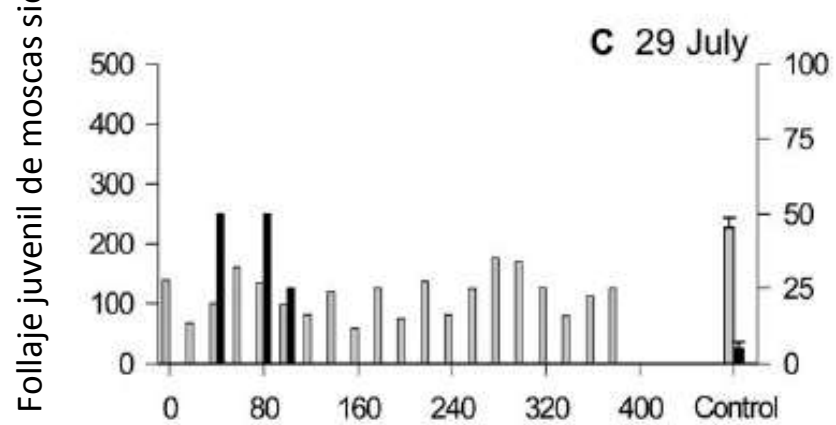
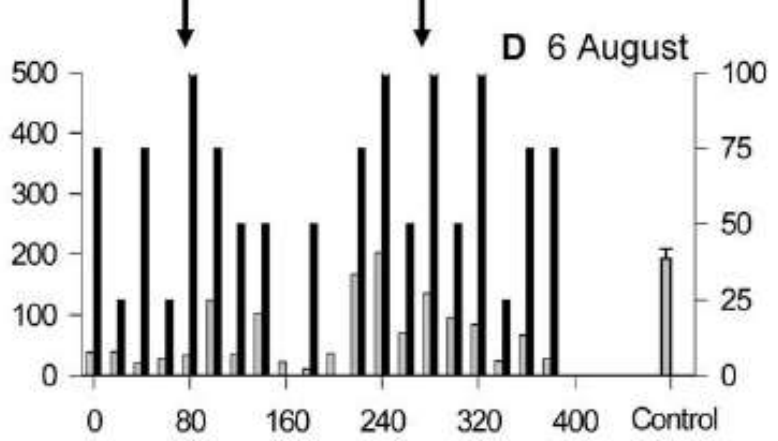
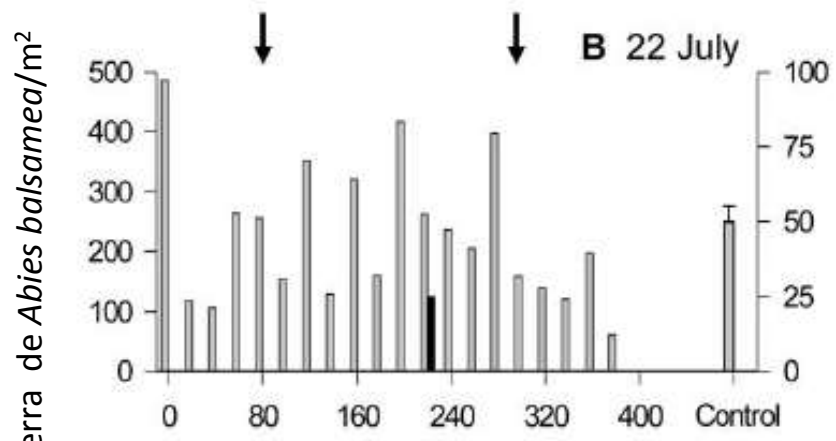
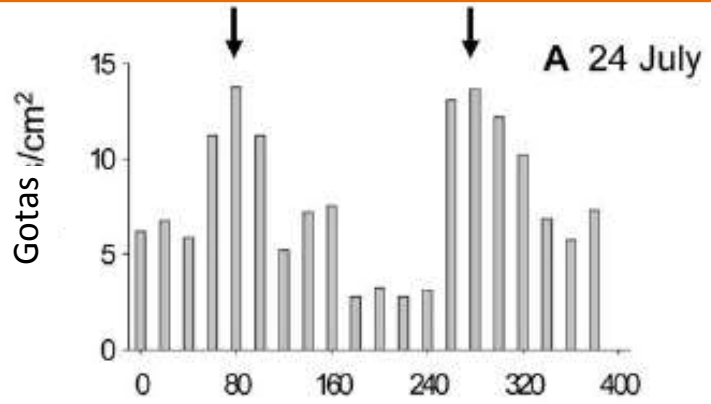
1 OB/4 gotas

1 x 10<sup>9</sup> OBs en 2.5L/ha,  
100 µm gotas  
\$50cdn/ha



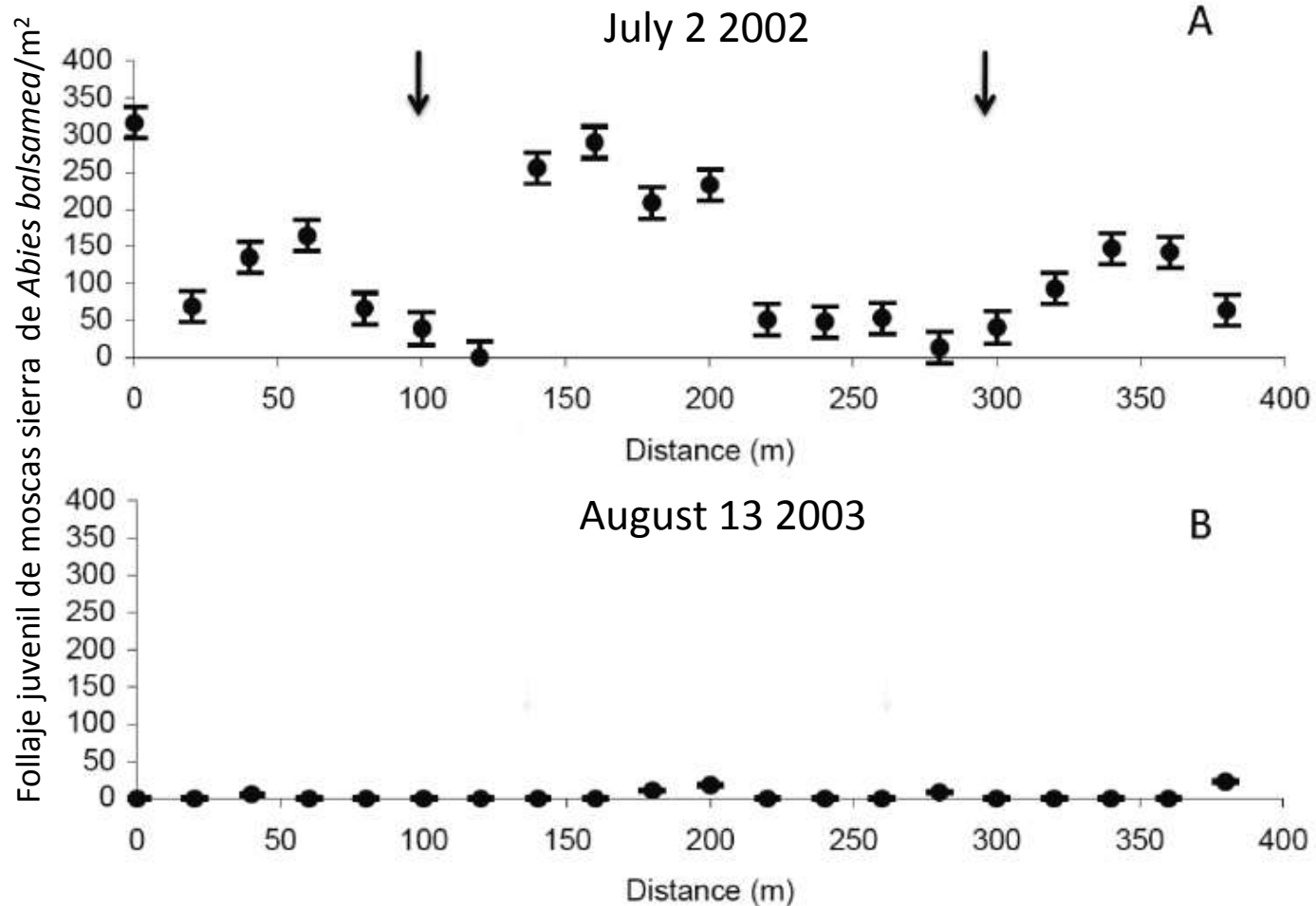






Distance (m)

**Figure 7.** Densities of juvenile balsam fir sawflies at Old Man's Pond on (A) 2 July and (B) 13 August 2003, 1 y after the aerial application of NeabNPV. The densities are represented as mean values ( $\pm$ SEM). Arrows indicate the approximate location of the original spray swaths.



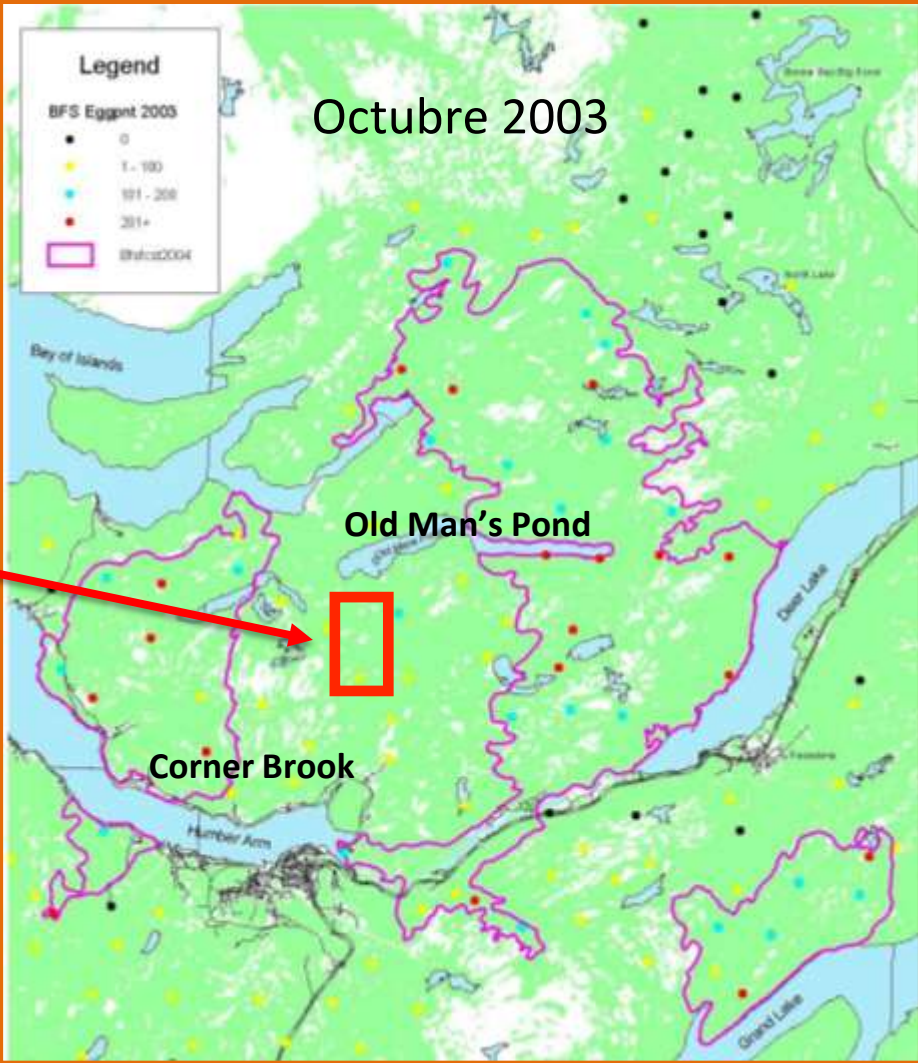
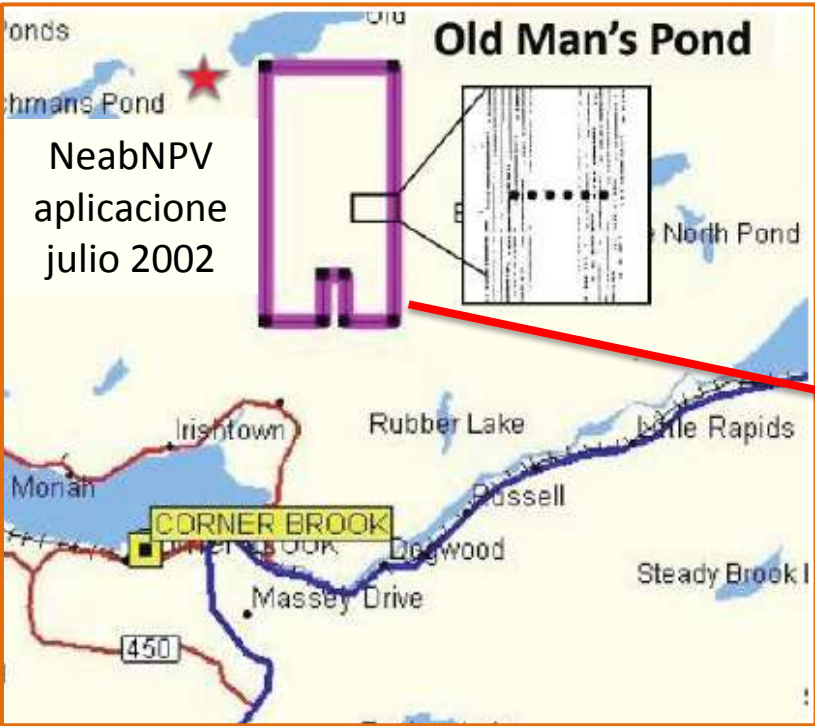
Bloque testigo del año 2000  
en el año 2001



Bloque asperjado C del año 2000  
en el año 2001



# Conteo de huevos de a mosca sierra del abeto balsámico durante otoño de 2003 en el oeste de Terranova

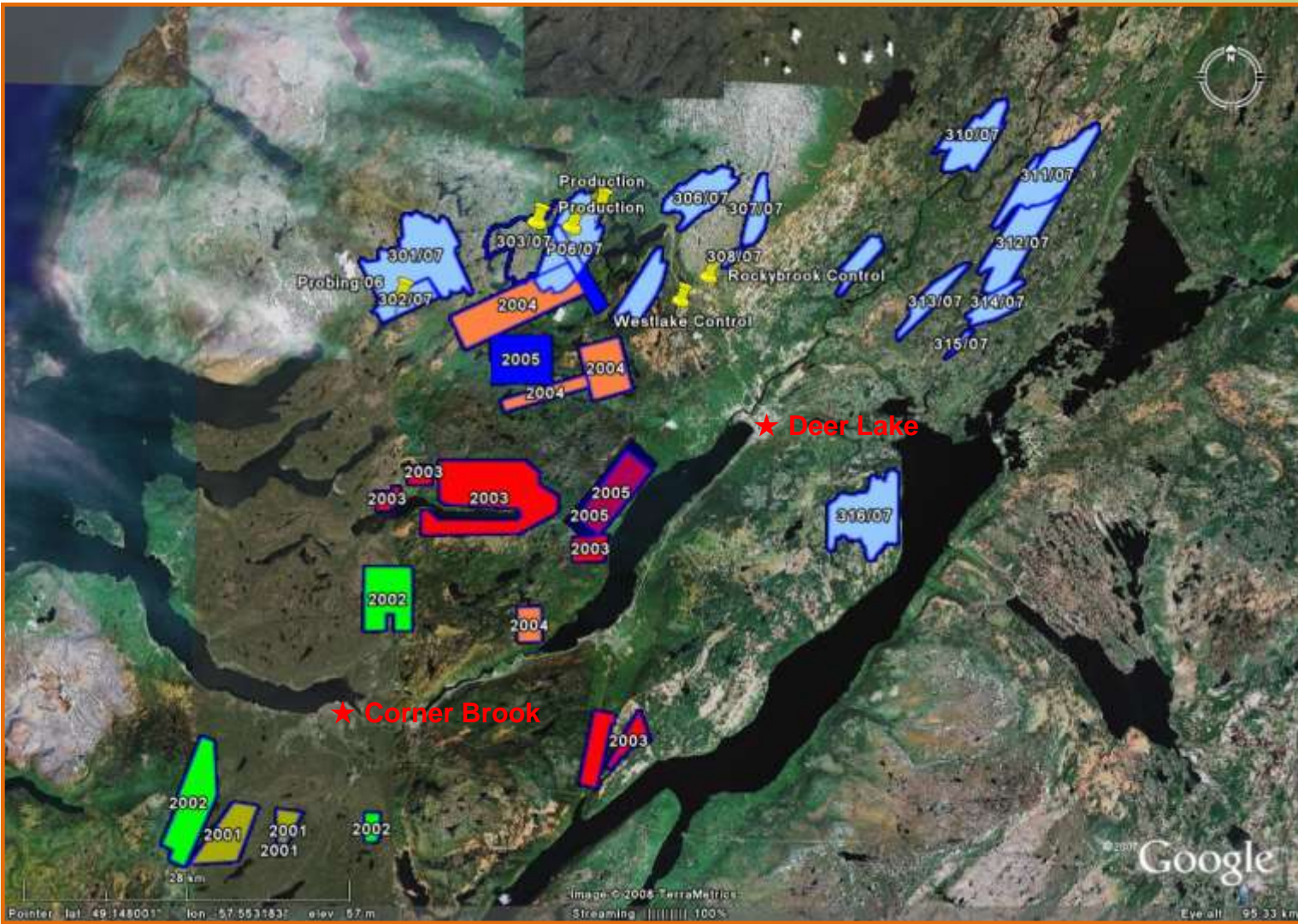


# Aplicaciones de NeabNPV (Abietiv) 2000-2009 en el oeste de Terranova

## Hectáreas tratadas

- 2000 – 150
- 2001 – 2,400
- 2002 – 5,000
- 2003 – 5,000
- 2004 – 5,000
- 2005 – 5,000
- 2006 – 15,000
- 2007 – 15,000
- 2008 – 10,000
- 2009 – 5,000

Total 67,500



2000-2005 estudios de eficacia 22,500 ha

2006-2009 aplicaciones operativas 45,000 ha


# Calendario

- Junio 2004 - Carpeta entregada a Health Canadá para el registro de Abietiv)
- Mayo 25 de 2005 - Acuerdos de licencia entre el Servicio Forestal Canadiense y Forest Protection Limited para la comercialización y mercadeo de Abietiv a través de la compañía secundaria - Sylvar Technologies Inc. (Incorporada en Junio de 2006.)
- Abril 2006 - Registro condicional otorgado por Health Canada.)
- Julio 2006, 2006 y 2009 - Aplicaciones aéreas de Abietiv en Terranova, el cual equivale a más de 45,000 hectáreas.

# Trámites registro



# 2009 Registro completo de Abietiv

	Health Canada	Santé Canada	Your health and safety... our priority.	Votre santé et votre sécurité... notre priorité.
---	------------------	-----------------	--	---

RD2009-05

Registration Decision


***Neodiprion abietis***  
**Nucleopolyhedrovirus**  
**Newfoundland Strain**

**25 March 2009**

*(publié aussi en français)*

This document is published by the Health Canada Pest Management Regulatory Agency. For further information, please contact:

Publications Pest Management Regulatory Agency Health Canada 2720 Riverside Drive A.L. 6605C Ottawa, Ontario K1A 0K9	Internet: <a href="mailto:pmra_publications@hc-sc.gc.ca">pmra_publications@hc-sc.gc.ca</a> <a href="http://www.healthcanada.gc.ca/pmra">www.healthcanada.gc.ca/pmra</a> Facsimile: 613-736-3758 Information Service: 1-800-267-8315 or 613-736-3799 <a href="mailto:pmra_info@hc-sc.gc.ca">pmra_info@hc-sc.gc.ca</a>
--	---







# Resumen

## NeabNPV funcionan

- NeabNPV solamente afecta el intestino medio de las larvas de *Neodiprion abietis*.
- *Neodiprion abietis* alimenta en forma gregaria.
- *Neodiprion abietis* alimenta abiertamente en el follaje.

## Resumen

### Pruebas de campo de NeabNPV (Abietiv) en Terranova

- NeabNPV es fácil de producir.
- Nuestra fórmula (melaza acuosa al 20%) permite un flujo suave de la nave aérea, permitiendo depósitos adecuados en el follaje.
- Una aplicación única ( $1 \times 10^9$  OBs/ha) resulta en una infección aumentada de NeabNPV en la población de larvas durante el año de aplicación.
- NeabNPV continua impactando a la población durante el año posterior a la aplicación.
- NeabNPV debe aplicarse durante la primer y segunda instares para ser más efectiva.
- Existe un límite mínimo de población para que NeabNPV funcione de manera correcta (es decir, puede no funcionar muy bien contra poblaciones de baja densidad).

Gracias

