

European and Mediterranean Plant Protection Organization  
Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes

# **Normes OEPP EPPO Standards**

Diagnostic protocols for regulated pests  
Protocoles de diagnostic pour les organismes  
réglementés

PM 7/9(1)



European and Mediterranean Plant Protection Organization  
1, rue Le Nôtre, 75016 Paris, France

## Approval

EPPO Standards are approved by EPPO Council. The date of approval appears in each individual standard. In the terms of Article II of the IPPC, EPPO Standards are Regional Standards for the members of EPPO.

## Review

EPPO Standards are subject to periodic review and amendment. The next review date for this EPPO Standard is decided by the EPPO Working Party on Phytosanitary Regulations.

## Amendment record

Amendments will be issued as necessary, numbered and dated. The dates of amendment appear in each individual standard (as appropriate).

## Distribution

EPPO Standards are distributed by the EPPO Secretariat to all EPPO member governments. Copies are available to any interested person under particular conditions upon request to the EPPO Secretariat.

## Scope

EPPO Diagnostic Protocols for Regulated Pests are intended to be used by National Plant Protection Organizations, in their capacity as bodies responsible for the application of phytosanitary measures to detect and identify the regulated pests of the EPPO and/or European Union lists.

In 1998, EPPO started a new programme to prepare diagnostic protocols for the regulated pests of the EPPO region (including the EU). The work is conducted by the EPPO Panel on Diagnostics and other specialist Panels. The objective of the programme is to develop an internationally agreed diagnostic protocol for each regulated pest. The protocols are based on the many years of experience of EPPO experts. The first drafts are prepared by an assigned expert author(s). They are written according to a 'common format and content of a diagnostic protocol' agreed by the Panel on Diagnostics, modified as necessary to fit individual pests. As a general rule, the protocol recommends a particular means of detection or identification which is considered to have advantages (of reliability, ease of use, etc.) over other methods. Other methods may also be mentioned, giving their advantages/disadvantages. If a method not mentioned in the protocol is used, it should be justified.

## References

- EPPO/CABI (1996) *Quarantine Pests for Europe*, 2nd edn. CAB International, Wallingford (GB).
- EU (2000) Council Directive 2000/29/EC of 8 May 2000 on protective measures against the introduction into the Community of organisms harmful to plants or plant products and against their spread within the Community. *Official Journal of the European Communities* L169, 1–112.

## Approbation

Les Normes OEPP sont approuvées par le Conseil de l'OEPP. La date d'approbation figure dans chaque norme. Selon les termes de l'Article II de la CIPV, il s'agit de Normes régionales pour les membres de l'OEPP.

## Révision

Les Normes OEPP sont sujettes à des révisions et des amendements périodiques. La prochaine date de révision de cette Norme OEPP est décidée par le Groupe de travail pour l'étude de la réglementation phytosanitaire.

## Enregistrement des amendements

Des amendements seront préparés si nécessaire, numérotés et datés. Les dates de révision figurent (si nécessaire) dans chaque norme individuelle.

## Distribution

Les Normes OEPP sont distribuées par le Secrétariat de l'OEPP à tous les Etats membres de l'OEPP. Des copies sont disponibles, sous certaines conditions, auprès du Secrétariat de l'OEPP pour toute personne intéressée.

## Champ d'application

Les protocoles de diagnostic de l'OEPP pour les organismes réglementés sont destinés aux Organisations Nationales de Protection des Végétaux, en leur qualité d'autorités responsables de l'application de mesures phytosanitaires pour la détection et l'identification des organismes nuisibles réglementés des listes de l'OEPP et/ou de l'Union européenne.

L'OEPP a initié en 1998 un nouveau programme de préparation de protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés de la région OEPP (y compris l'UE). Le travail est réalisé par le Groupe d'experts OEPP sur le diagnostic et d'autres Groupes d'experts spécialisés. L'objectif du programme est de développer, pour chaque organisme nuisible réglementé, un protocole de diagnostic approuvé internationalement. Les protocoles reposent sur les nombreuses années d'expérience des experts de l'OEPP. La première version d'un protocole est préparée par un expert. Elle est rédigée suivant le 'format et contenu communs d'un protocole de diagnostic' approuvé par le Groupe d'experts sur le diagnostic, modifié, le cas échéant, dans les cas individuels. En règle générale, un protocole recommande un moyen de détection ou d'identification particulier considéré avoir des avantages sur les autres (du point de vue de la fiabilité, la facilité d'utilisation, etc.). D'autres méthodes sont parfois mentionnées, en précisant leurs avantages/inconvénients. Des justifications doivent être fournies si on utilise une méthode qui n'est pas mentionnée dans le protocole.

## Références

- EPPO/CABI (1996) *Organismes de quarantaine pour l'Europe*, 2ème edn. CAB International, Wallingford (GB).
- FAO (1997) *Convention internationale pour la protection des végétaux* (nouveau texte révisé). FAO, Rome (IT).
- OEPP/EPPO (1999) Normes OEPP PM 1/2(8) Listes A1 et A2 d'organismes de quarantaine de l'OEPP. In: *Normes OEPP PMI Mesures phytosanitaires générales*, pp. 5–17. OEPP/EPPO, Paris (FR).

FAO (1997) *International Plant Protection Convention* (new revised text).  
FAO, Rome (IT).  
OEPP/EPPO (1999) EPPO Standards PM 1/2 (8): EPPO A1 and A2 lists of quarantine pests. In *EPPO Standards PM1 General phytosanitary measures*, 5–17. OEPP/EPPO, Paris (FR).

## Definitions

*Regulated pest*: a quarantine pest or regulated non-quarantine pest.

*Quarantine pest*: a pest of potential economic importance to the area endangered thereby and not yet present there, or present but not widely distributed and being officially controlled.

## Outline of requirements

EPPO Diagnostic Protocols for Regulated Pests provide all the information necessary for a named pest to be detected and positively identified by a general expert (i.e. an entomologist, mycologist, virologist, bacteriologist, etc.) but not necessarily a specialist on the organism or its taxonomic group. Each protocol begins with some short general information on the pest (its appearance, relationship with other organisms, host range, effects on host, geographical distribution and its identity) and then gives details on the detection, identification, comparison with similar species, requirements for a positive diagnosis, list of institutes or individuals where further information on that organism can be obtained, references (on the diagnosis, detection/extraction method, test methods).

Many protocols include laboratory tests involving the use of chemicals or apparatus which may present a certain hazard. In all cases, local safety procedures should be strictly followed.

Named trade products have been shown to work in these protocols. Other similar products may be equally effective.

## Existing EPPO Standards in this series

Five EPPO diagnostic protocols have already been approved and published. Each standard is numbered in the style PM 7/4 (1), meaning an EPPO Standard on Phytosanitary Measures (PM), in series no. 7 (Diagnostic Protocols), in this case standard no. 4, first version. The existing standards are:

- PP 7/1 (1) *Ceratocystis fagacearum*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 41–44.
- PP 7/2 (1) *Tobacco ringspot nepovirus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 45–51.
- PP 7/3 (1) *Thrips palmi*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 53–60.
- PP 7/4 (1) *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 61–69.
- PP 7/5 (1) *Nacobbus aberrans*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 71–77.

UE (2000) Directive du Conseil 2000/29/EC du 8 mai 2000 concernant les mesures de protection contre l'introduction dans la Communauté d'organismes nuisibles aux végétaux ou aux produits végétaux et contre leur propagation à l'intérieur de la Communauté. *Journal Officiel des Communautés Européennes* L169, 1–112.

## Définitions

*Organisme nuisible réglementé*: organisme de quarantaine ou organisme réglementé non de quarantaine.

*Organisme de quarantaine*: organisme nuisible qui a une importance potentielle pour l'économie de la zone menacée et qui n'est pas encore présent dans cette zone ou bien qui y est présent mais n'y est pas largement disséminé et fait l'objet d'une lutte officielle.

## Vue d'ensemble

Les protocoles de diagnostic de l'OEPP pour les organismes réglementés donnent toutes les informations nécessaires à la détection et l'identification d'un organisme nuisible donné par un expert généraliste (c'est à dire un entomologiste, mycologue, virologue, bactériologiste, etc.), et pas nécessairement par un spécialiste de l'organisme ou du groupe taxonomique. Chaque protocole débute avec de brèves informations générales sur l'organisme nuisible (aspect, relations avec d'autres organismes, gamme d'hôte, effets sur l'hôte, répartition géographique et identité), puis donne des détails sur la détection, l'identification la comparaison avec des espèces similaires, les exigences pour un diagnostic positif, une liste d'instituts ou d'individus susceptibles de fournir des informations supplémentaires sur cet organisme, des références (sur le diagnostic, la méthode de détection/extraction, les méthodes de test).

Ces protocoles font souvent appel à des analyses de laboratoire basées sur l'utilisation de produits chimiques ou d'appareils qui peuvent présenter un certain danger. Il est important, dans tous les cas, de suivre rigoureusement les procédures locales de sécurité.

L'efficacité des produits commerciaux qui sont mentionnés dans les protocoles est reconnue. D'autres produits similaires peuvent aussi être efficaces.

## Normes OEPP déjà existantes dans cette série

Cinq protocoles de diagnostic OEPP ont déjà été approuvés et publiés. Chaque norme est individuellement numérotée: par exemple la norme PM 7/4(1) est une Norme OEPP sur les mesures phytosanitaires (PM), appartenant à la série 7 (protocoles de diagnostic); il s'agit dans ce cas de la Norme 4, 1ère version. Les normes existantes sont:

- PP 7/1 (1) *Ceratocystis fagacearum*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 41–44.
- PP 7/2 (1) *Tobacco ringspot nepovirus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 45–51.
- PP 7/3 (1) *Thrips palmi*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 53–60.
- PP 7/4 (1) *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 61–69.
- PP 7/5 (1) *Nacobbus aberrans*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 71–77.

**Diagnostic protocols for regulated pests**  
**Protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés**

## ***Cacoecimorpha pronubana***

### **Specific scope**

This standard describes a diagnostic protocol for *Cacoecimorpha pronubana*.

### **Specific approval and amendment**

First approved in 2001-09.

---

### **Introduction**

*Cacoecimorpha pronubana* belongs to the family *Tortricidae* and is the only species in the genus *Cacoecimorpha*. The larvae are polyphagous, feeding on a wide range of ornamental trees, shrubs, fruit and vegetables, particularly those grown under protected cultivation. Host plants include: *Achillea*, *Berberis*, *Bergenia*, *Chaenomeles*, *Citrus*, *Cotoneaster*, *Dianthus caryophyllus*, *Euonymus japonicus*, *Euphorbia*, *Fragaria*, *Hippophae*, *Laurus nobilis*, *Lavandula*, *Ligustrum*, *Lonicera*, *Lycopersicon esculentum*, *Mahonia*, *Malus*, *Philadelphus*, *Pinus halepensis*, *Prunus*, *Pyracantha*, *Pyrus*, *Rhododendron*, *Robinia*, *Rosa*, *Rubus idaeus*, *Spiraea*, *Symphoricarpos*, *Weigela*. The larvae feed on leaves and petals, binding them together with silken webbing, and can also be found boring into flower buds and damaging the skins of fruits. The species originates in the Mediterranean where it is widespread but also occurs in some more northern European countries (Germany, Ireland, Luxembourg, Netherlands, UK). It is also recorded in South Africa and the USA (Oregon).

### **Identity**

**Name:** *Cacoecimorpha pronubana* (Hübner)

**Synonyms:** *Tortrix pronubana* Hübner

*Cacoecimorpha ambustana* Hübner

*Cacoecimorpha hermineana* Duponchel

*Cacoecimorpha insolatana* Lucas

*Cacoecia pronubana* Hübner

**Taxonomic position:** Insecta: Lepidoptera: *Tortricidae*: *Tortricinae*: *Archipini*.

**Bayer computer code:** TORTPR

**Phytosanitary categorization:** EPPO A2 list no. 104

### **Detection**

Egg masses are usually found on the upper surface of leaves and first instar larvae mine within leaves. Later instars can be found feeding on

### **Champ d'application spécifique**

Cette norme décrit un protocole de diagnostic pour *Cacoecimorpha pronubana*.

### **Approbation et amendement spécifiques**

Approbation initiale en 2001-09.

---

### **Introduction**

*Cacoecimorpha pronubana* appartient à la famille des *Tortricidae*. Il s'agit de la seule espèce du genre *Cacoecimorpha*. Les larves sont polyphages et s'alimentent sur une vaste gamme d'arbres et arbustes d'ornement, ainsi que de fruits et légumes, en particulier sous abri. Les plantes hôtes comprennent: *Achillea*, *Berberis*, *Bergenia*, *Chaenomeles*, *Citrus*, *Cotoneaster*, *Dianthus caryophyllus*, *Euonymus japonicus*, *Euphorbia*, *Fragaria*, *Hippophae*, *Laurus nobilis*, *Lavandula*, *Ligustrum*, *Lonicera*, *Lycopersicon esculentum*, *Mahonia*, *Malus*, *Philadelphus*, *Pinus halepensis*, *Prunus*, *Pyracantha*, *Pyrus*, *Rhododendron*, *Robinia*, *Rosa*, *Rubus idaeus*, *Spiraea*, *Symphoricarpos*, *Weigela*. Les larves s'alimentent sur les feuilles et les pétales, les rassemblant entre eux par des toiles en soie. Elles peuvent également creuser les bourgeons floraux et endommager la peau des fruits. Cette espèce est originaire de la région méditerranéenne, où elle est largement répandue, mais elle est également présente dans des pays d'Europe du nord (Allemagne, Irlande, Luxembourg, Pays-Bas, Royaume-Uni). Elle a aussi été signalée en Afrique du sud et aux Etats-Unis (Oregon).

### **Identité**

**Nom:** *Cacoecimorpha pronubana* (Hübner)

**Synonymes:** *Tortrix pronubana* Hübner

*Cacoecimorpha ambustana* Hübner

*Cacoecimorpha hermineana* Duponchel

*Cacoecimorpha insolatana* Lucas

*Cacoecia pronubana* Hübner

**Classement taxonomique:** Insecta: Lepidoptera: *Tortricidae*: *Tortricinae*: *Archipini*.

**Code informatique Bayer:** TORTPR

**Catégorisation phytosanitaire:** Liste A2 de l'OEPP no. 104

### **Détection**

Les ooplaques sont généralement pondues à la face supérieure des feuilles, dans lesquelles les larves de premier stade creusent des mines.

the terminal or lateral leaves which they roll up and bind together with silk, resulting in a characteristic crooked growth. Larvae can also be found feeding on flower buds and can sometimes be detected by the presence of silken webbing on petals, or by the flowers having a characteristic swollen appearance. The presence of light-brown to blackish patches on the surface of citrus fruit is another indication of the presence of *C. pronubana* larvae. Adults, males especially, can sometimes be found flying during sunny days, and can immediately be recognized by their bright orange hindwings. When at rest, moths are less distinctive as the wings are held roof-wise over the body, with only the greyish brown forewings showing. Sex pheromone lures and related attractants have been developed for *C. pronubana* adult males [Z11-14Ac (Descoins *et al.*, 1985), Z11-14OH (Witzgall, 1990)] and are very effective at detecting and monitoring the presence of this species.

### Identification

The adults of *C. pronubana* are distinctive and can be readily identified with experience or by comparison with preserved specimens, whose identification should have been confirmed by an experienced lepidopterist. Adults are best examined pinned under a low power microscope (up to  $\times 80$  magnification). Wing venation can temporarily be observed by placing a drop of ethanol on the upper surface of the wing and examining with lower stage lighting. For a more permanent view of wing venation, the wing should be detached, placed in 70% ethanol and the scales removed with a fine paintbrush. Guidance on pinning specimens, and diagrams showing the labelled wing venation of a typical tortricid, are provided by Holloway *et al.* (1992).

If adults are in poor condition, or where further confirmation is needed, genitalia dissection can be performed. Both male and female genitalia can be used to identify the species. For a method of slide preparation of genitalia, see Appendix I. High-power magnification ( $\times 100$ ) may be required to discern certain features. Further information on the general structure, terminology, preparation and dissection of genitalia can be found in Robinson (1976) and Cribb (1972).

With respect to larvae, diagnostic characters may not be visible in early instars and it is therefore preferable to rear to later instars for identification. The late instar larvae, pupae and pupal cases of *C. pronubana* are distinctive and readily identified with experience or by comparison with voucher specimens. If there is any doubt with the larval or pupal, live specimens should, if possible, be reared to adults for confirmation. Both live and dead larvae can be examined under  $\times 80$  magnification. With live larval and pupal specimens that are to be reared, handling should be kept to minimum and manipulation carried out carefully with a fine paintbrush.

Diagrams illustrating setal nomenclature of larvae are provided by Carter (1984) or Holloway *et al.* (1992). Setal maps for *C. pronubana* are illustrated in Carter (1984) and Fisher (1924) and provided in this text (Figs 1 and 2). To view the larval mandibles, it is necessary to kill the specimen. Eggs cannot be reliably identified and should, if possible, be reared to a later life stage for identification.

### Eggs

Size: 1 mm  $\times$  0.6 mm. Oval to circular, flattened with a reticulate chorion and surrounded by mucilaginous jelly. Initially light-green,

Les stades suivants s'alimentent sur les feuilles terminales ou latérales qu'elles enroulent et rassemblent avec des fils de soie, ce qui entraîne des déformations de la croissance. Les larves s'alimentent également sur les bourgeons floraux et peuvent parfois être repérées par la présence de soie sur les pétales ou par des fleurs anormalement gonflées. La présence de taches de couleur brun clair à noirâtre à la surface des fruits des agrumes est une autre indication de la présence de larves de *C. pronubana*. Les adultes, surtout les mâles, volent parfois pendant les journées ensoleillées et peuvent être immédiatement reconnus à leurs ailes postérieures de couleur orange brillant. Ils sont moins caractéristiques au repos car les ailes sont repliées en forme de toit au-dessus du corps, et seul le brun grisâtre des ailes antérieures est visible. Des appâts utilisant des phéromones sexuelles et autres attractifs ont été développés pour les mâles adultes de *C. pronubana* [Z11-14Ac (Descoins *et al.*, 1985), Z11-14OH (Witzgall, 1990)]; ils sont très efficaces pour détecter et surveiller les populations de cette espèce.

### Identification

Les adultes de *C. pronubana* sont caractéristiques et faciles à identifier par ceux qui connaissent déjà l'espèce ou qui disposent de spécimens de référence. L'identification de ces derniers doit avoir été confirmée par un lépidoptériste expérimenté. Les adultes épinglés sont examinés au microscope (jusqu'au grossissement  $\times 80$ ). La nervation peut être observée temporairement en déposant une goutte d'éthanol à la face supérieure de l'aile et en l'examinant sous une lumière plus faible. Pour une observation plus durable de la nervation, détacher l'aile, la placer dans de l'éthanol à 70% et éliminer les écailles avec un pinceau fin. Holloway *et al.* (1992) décrit l'épinglage des spécimens et présente des diagrammes de la nervation alaire numérotée d'un tortricidé typique.

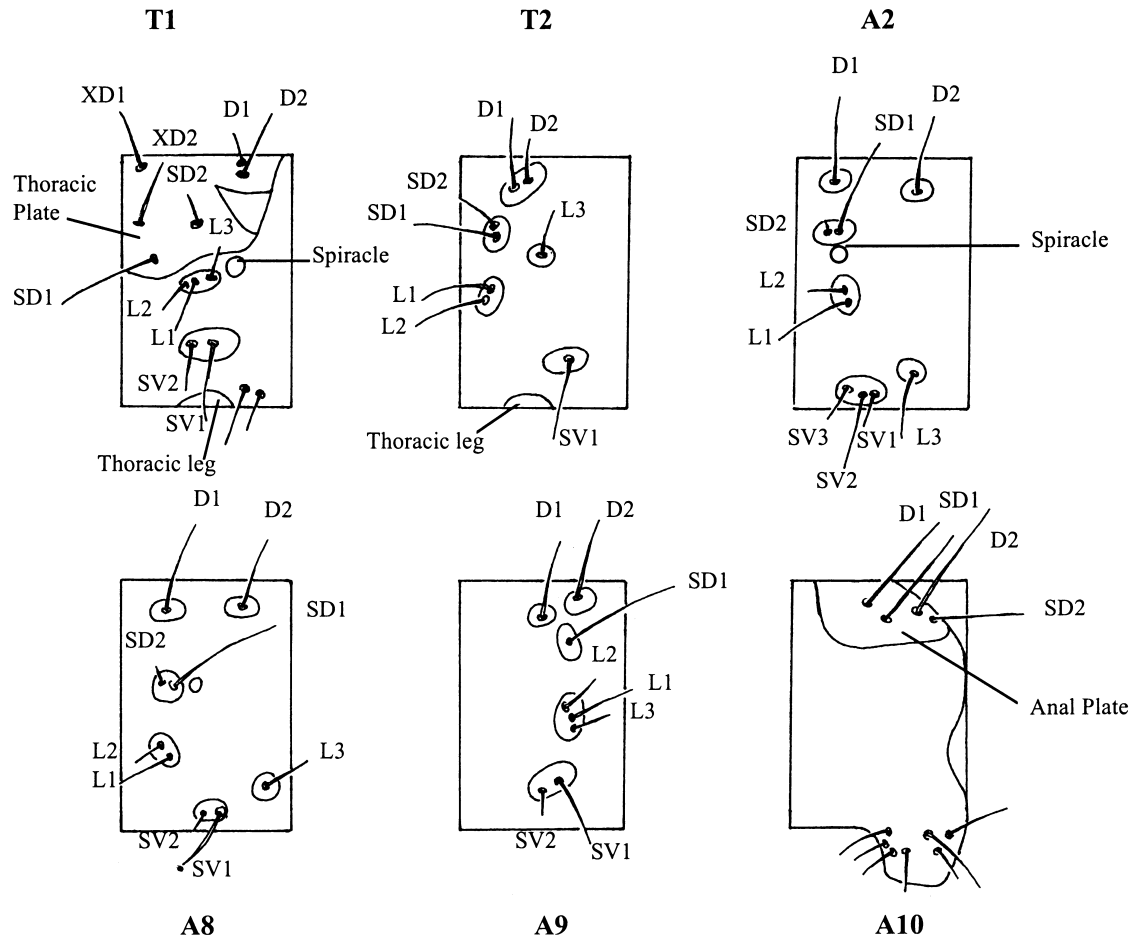
Si les adultes sont en mauvais état, ou si une confirmation est nécessaire, les génitalia peuvent être disséqués. Les génitalia mâle ou femelle peuvent être utilisés pour identifier l'espèce. Une méthode de préparation des génitalia sur lame est présentée à l'annexe I. Un grossissement fort ( $\times 100$ ) est parfois nécessaire pour distinguer certains caractères. Des informations supplémentaires sur la structure générale, la terminologie, la préparation et la dissection des génitalia sont données par Robinson (1976) et Cribb (1972).

En ce qui concerne les larves, les critères de reconnaissance ne sont pas toujours visibles sur les premiers stades et il est donc préférable pour l'identification d'élever jusqu'à des stades plus tardifs. Les larves des stades tardifs, les chrysalides ou les cocons de *C. pronubana* sont caractéristiques et facilement identifiables par expérience ou par comparaison avec des spécimens conservés. Si des doutes persistent sur l'identification des larves ou des chrysalides, des spécimens vivants doivent, si possible, être élevés jusqu'au stade adulte pour pouvoir confirmer l'identification. Les larves peuvent être examinées vivantes ou mortes, au grossissement  $\times 80$ . Les larves vivantes et les chrysalides qui vont être élevées jusqu'au stade adulte doivent être manipulées le moins possible et avec précaution, à l'aide d'un pinceau fin.

Carter (1984) et Holloway *et al.* (1992) présentent un diagramme illustrant la nomenclature des soies des larves. Des cartes des soies pour *C. pronubana* sont illustrées par Carter (1984) et Fisher (1924) et données dans ce texte (Fig. 1 et Fig. 2). Il est nécessaire de tuer les larves pour examiner les mandibules. L'identification des oeufs n'est pas fiable et il faut si possible les élever jusqu'à un stade ultérieur pour pouvoir réaliser l'identification.

### Oeufs

Taille: 1 mm  $\times$  0,6 mm. Ovale à circulaires, aplatis avec un chorion réticulé et recouverts de sécrétion cireuse. Initialement vert clair,



**Fig. 1** *Cacoecimorpha pronubana*: schematic diagram of setae on abdomen and thorax.  
Diagramme schématique des soies sur l'abdomen et le thorax.

becoming yellow. Laid in overlapping batches of 10–200, usually on the upper surface of leaves. A colour figure is provided by Chambon (1986).

#### Larvae

##### *Diagnostic larval characters of Tortricidae*

Holloway *et al.* (1992) provide a key to the family *Tortricidae*. Characters generally consistent for the family, and with *C. pronubana*, are as follows:

- anal comb present, with straight prongs;
- crotchets on prolegs (segments A3–A6) uniserial, arranged in a complete circle;
- setae: L-group on prothorax (T1) trisetose; L1 and L2 adjacent on (abdominal segments) A1–A8; SD1 on A8 anterior to the spiracle (Fig. 1).

##### *Diagnostic larval characters of Cacoecimorpha pronubana*

- length up to 20 mm in the final instar;
- head varying in colour from bright green to yellow–brown, with variable dark brown or black ocellar and posterolateral markings;

devenant jaunes. Déposés en amas imbriqués (= ooplaques) de 10–200 oeufs, généralement à la face supérieure des feuilles. Chambon (1986) présente une illustration en couleur.

#### Larves

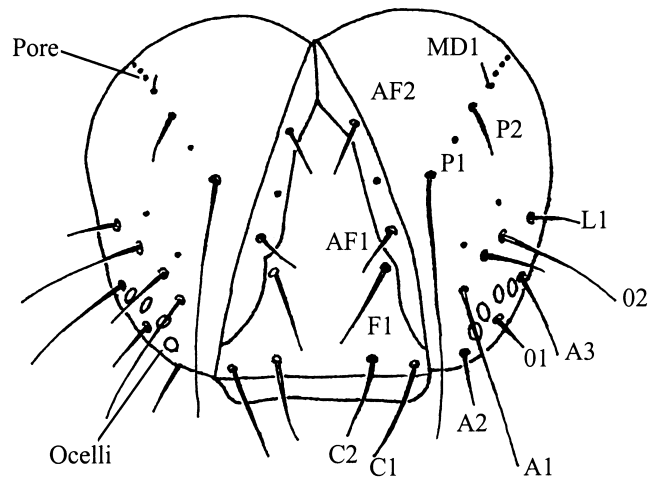
##### *Critères de diagnostic des larves de Tortricidae*

Holloway *et al.* (1992) présente une clé de la famille des *Tortricidae*. Les critères généralement communs à la famille et à *C. pronubana* sont les suivants:

- peigne anal présent, avec des dents droites;
- crochets des fausses-pattes (segments A3–A6) unisériés et formant un cercle fermé;
- soies: groupe L du prothorax (T1) trisetose; L1 et L2 adjacentes sur les segments abdominaux A1 à A8; SD1 antérieure au stigmate sur A8 (Fig. 1).

##### *Critères de diagnostic des larves de Cacoecimorpha pronubana*

- longueur jusqu'à 20 mm au dernier stade;
- tête de couleur variable, de vert brillant à jaune brun, avec des marques variables brun foncé ou noires, ocellaires et postéro-latérales;



**Fig. 2** *Cacoecimorpha pronubana*: schematic diagram of head capsule and setae.  
Diagramme schématique de la capsule céphalique et des soies.

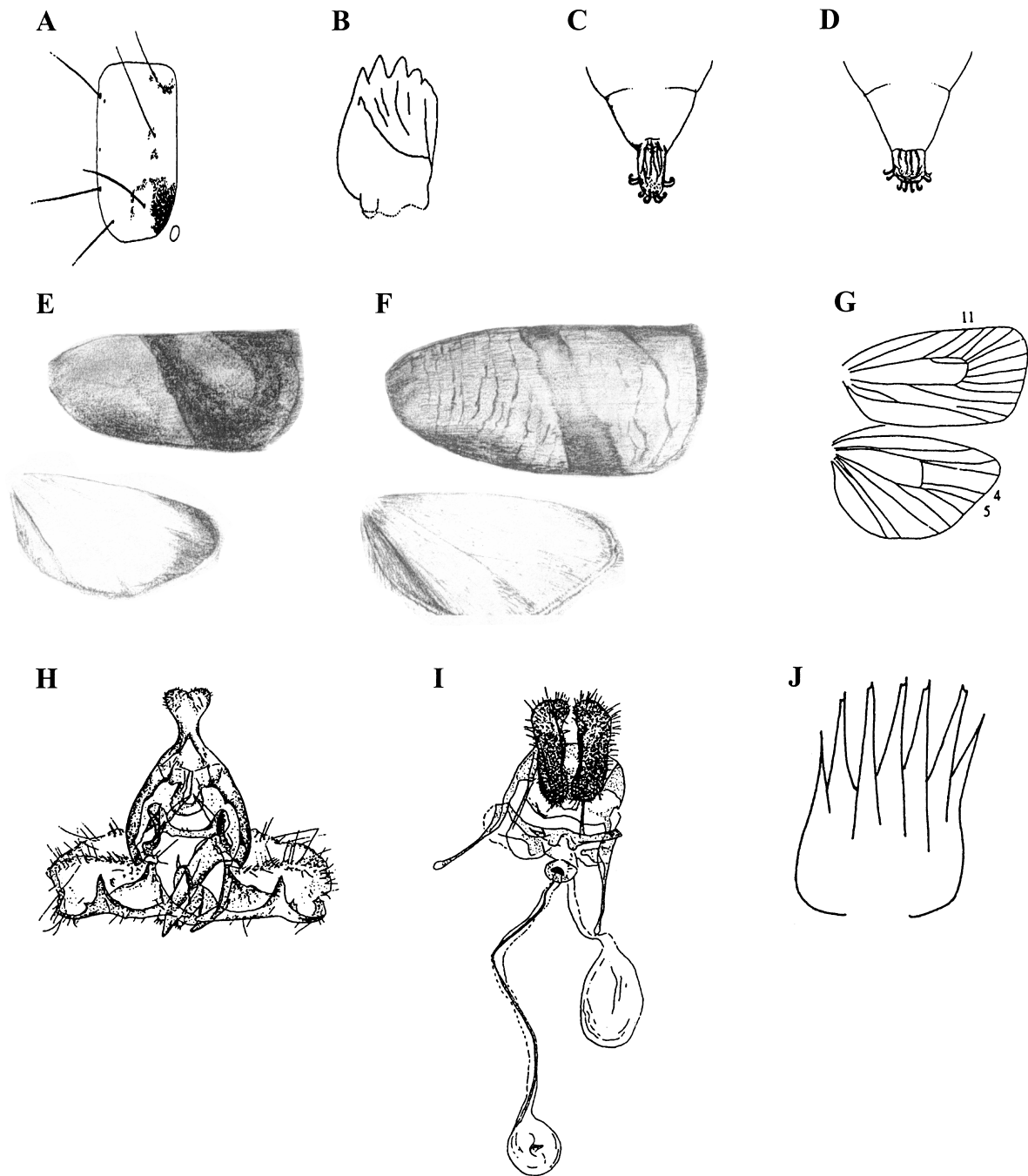
- prothoracic plate yellow or green–brown, usually paler than the rest of the integument, divided medially by a pale line and with distinctive dark elliptical or triangular marking on the posterolateral margin (Fig. 3A); several other smaller and less conspicuous markings also usually present, including one elongate mark on the lateral margin and a dot in the angle formed by the posterior margin and mid-dorsal line. Several irregular brown markings may also be present in the centre of each half of the prothoracic plate (Bradley *et al.*, 1973);
  - integument varying in colour from bright to olive-green and tending to be paler ventrally and on A10;
  - integument covered in microscopic brown spinules giving a granular appearance (Swatschek, 1958);
  - pinaculi shiny, and paler than the rest of the integument;
  - thoracic legs yellow–brown or green, sometimes with black markings;
  - setae whitish, clearly visible against the body surface;
  - spiracles broadly elliptical, with a narrow, dark brown or black peritreme. The spiracles of T1 (prothorax) and A8 are larger and situated more dorsally than spiracles on other body segments (Fisher, 1924);
  - anal plate yellow, green or green–brown, often with brown markings;
  - anal comb green, with six to ten prongs, usually with four long and two short (outer) prongs (Bradley *et al.*, 1973) (Fig. 3J);
  - crotchets on prolegs A3 to A6 in a complete biordinal circle, anal prolegs not arranged this way;
  - mandible with three acute and two blunt ‘teeth’ and a small molar (Fig. 3B).
- It is important to note that colour is highly variable in caterpillars and is only a helpful indicator during diagnosis. Arrangement of setae and the structure of features such as the mandibles are far less variable and consequently more reliable.

Comparisons with larvae of similar species are given further on in this text.

- plaque prothoracique jaune ou vert brun, généralement plus claire que le reste des téguments, divisée en son milieu par un sillon pâle et portant une marque caractéristique elliptique ou triangulaire sur le bord postéro-latéral (Fig. 3A); plusieurs autres marques plus petites et moins visibles sont généralement présentes, dont une marque allongée sur le bord latéral, et un point dans l’angle formé par le bord postérieur et la ligne du milieu du dos. Plusieurs marques irrégulières brunes sont parfois présentes au centre de chaque moitié de la plaque prothoracique (Bradley *et al.*, 1973);
- téguments de couleur variable, de vert brillant à vert olive, avec tendance à être plus clair sur la face ventrale et sur le segment A10;
- téguments couverts de spinules microscopiques brunes donnant une apparence granulée (Swatschek, 1958);
- pinaculum brillants, et plus clairs que le reste des téguments;
- pattes thoraciques brun jaune ou vertes, parfois avec des marques noires;
- soies blanchâtres, clairement visibles à la surface du corps;
- stigmates largement elliptiques, avec un péritrème étroit, brun foncé ou noir. Les stigmates de T1 (prothorax) et A8 sont plus grands et ont une position plus dorsale que les stigmates des autres segments du corps (Fisher, 1924);
- plaque anale jaune, verte ou brun vert, souvent avec des marques sombres;
- peigne anal vert, avec six à dix dents, généralement quatre longues et deux courtes (externes) (Bradley *et al.*, 1973) (Fig. 3J);
- crochets biordinaux en cercle fermé sur les fausses-pattes des segments A3 à A6. Le cercle n’est pas complètement fermé sur les fausses-pattes anales;
- mandibule portant trois ‘dents’ pointues, deux émoussées et une petite mola (Fig. 3B).

Il est important de noter que la couleur des chenilles varie beaucoup et qu’il s’agit seulement d’une indication pour le diagnostic. La disposition des soies et la structure des caractères tels que les mandibules sont beaucoup moins variables et par conséquent plus fiables.

Des comparaisons avec des larves d’espèces similaires sont données plus bas dans le texte.



**Fig. 3** *Cacoecimorpha pronubana*: (A) prothoracic plate: lateral view/plaque prothoracique: vue latérale; (B) left mandible/mandibule gauche; (C) pupal cremaster (ventral view)/crémaster de la chrysalide (vue ventrale); (D) pupal cremaster of *Epichoristodes acerbella* pour comparaison (vue ventrale); (E) male fore and hindwings/ailes antérieures et postérieures du mâle; (F) female fore and hindwings/ailes antérieures et postérieures de la femelle; (G) wing venation/nervation des ailes; (H) male genitalia/génitalia mâles; (I) female genitalia/génitalia femelles; (J) anal comb/peigne anal.

### Pupae

#### *Diagnostic pupal characters of Tortricidae*

Characters generally consistent for the family and with *C. pronubana* are as follows:

### Chrysalides

#### *Critères de diagnostic des chrysalides de la famille des Tortricidae*

Les caractères généralement communs à la famille et à *C. pronubana* sont les suivants:



- abdominal segments A4 to A6 in female, and A4 to A7 in male, movable (Geest & Evenhuis, 1991);
- abdominal segments A3 to A7 dorsally with two rows of sharp, backwardly directed spines;
- presence of setae on the cremaster anterior to the apex (on the anal rise);
- cremaster with eight hooked setae.

#### *Diagnostic pupal characters of Cacoecimorpha pronubana*

- length: 9–12 mm, average 10 mm;
- abdominal segments brown; thorax, head, and wings dark brown, becoming black;
- tergites of A2 to A8 each with two rows of well developed dorsal abdominal spines, plus several yellow bristles on abdominal segments;
- cremaster elongate (Fig. 3C), tapered to a bluntly rounded point with four pairs of hooks, two pairs lateral in position, which arise from the dorsal surface of the cremaster, and two pairs arising terminally from the ventral surface (Fisher, 1924);
- characteristically enclosed within a dense web of silk in a folded leaf.

Comparisons with pupae of similar species are given further on in this text.

#### **Adult**

Keys to *Tortricidae* are provided by Heath & Emmet (1985); Holloway *et al.* (1992) or Medvedev (1989).

#### *Diagnostic adult characters of Tortricidae*

Characters generally consistent for the family, and consistent with *C. pronubana* are as follows:

- antennae filiform;
- head rough-scaled;
- proboscis unscaled;
- presence of ocelli and chaetosemata;
- labial palpi ascending;
- epiphysis (a lappet-like process on the inner aspect of the front tibiae) present; tibial spur formula is 0-2-4;
- hindwings approximately the same width as forewings;
- at rest, resembles a bell in outline.

#### *Diagnostic adult characters of Cacoecimorpha pronubana (male)*

- wingspan 14–18 mm;
- head and thorax red-brown; abdomen brown banded with orange; antennae strongly ciliate (Carter, 1984);
- forewings (Fig. 3E) light brown to red-brown, with dark reticulation; sometimes with blue-grey suffusion; basal, median and subterminal fascia darker brown;
- forewing without costal fold; vein 11 originates distal to the midpoint of the discal cell, with internal vein present (Fig. 3G);
- on forewing, outer margin of basal fascia (transverse band) usually visible, distinct median fascia and broad subterminal fascia present;
- bases of veins 4 and 5 in hindwings separate (Fig. 3G);
- hindwings bright orange; apex, terminal and inner margins and sometimes distal half suffused with dark brown. Cilia yellow-orange (Fig. 3E).

- segments abdominaux A4 à A6 (femelle) et A4 à A7 (mâle) mobiles (Geest & Evenhuis, 1991);
- segments abdominaux A3 à A7 portant dorsalement deux rangées d'épines pointues dirigées vers l'arrière;
- présence de soies sur le crémaster antérieur à l'apex (sur la crête anale);
- crémaster portant huit soies en crochet.

#### *Critères de diagnostic des chrysalides de Cacoecimorpha pronubana*

- longueur 9–12 mm, moyenne 10 mm;
- segments abdominaux bruns; thorax, tête et ailes brun foncé, devenant noirs;
- tergites des segments A2 à A8 portant chacun deux rangées d'épines abdominales bien développées, ainsi que plusieurs soies jaunes sur les segments abdominaux;
- crémaster allongé (Fig. 3C), se terminant en une pointe arrondie portant quatre paires de crochets, deux paires latérales issues de la surface dorsale du crémaster, et deux paires issues de l'extrémité de la surface ventrale (Fisher, 1924);
- typiquement enfermé dans une toile de soie dense dans une feuille repliée.

Des comparaisons avec des chrysalides d'espèces similaires sont données plus bas dans le texte.

#### **Adulte**

Des clés de la famille des *Tortricidae* sont présentées par Heath & Emmet (1985), Holloway *et al.* (1992) et Medvedev (1989).

#### *Critères de diagnostic des adultes des Tortricidae*

Les caractères généralement communs à la famille et à *C. pronubana* sont les suivants:

- antennes filiformes;
- tête à grosses écailles;
- proboscis sans écailles;
- présence d'ocelles et de chaetosemata;
- palpes labiaux ascendants;
- épiphyse (prolongement squamiforme sur la face interne du tibia antérieur) présente; la formule des éperons tibiaux est 0-2-4;
- ailes postérieures environ de la même largeur que les ailes antérieures;
- au repos, silhouette en forme de cloche.

#### *Critères de diagnostic des adultes de Cacoecimorpha pronubana (mâle)*

- envergure 14–18 mm;
- tête et thorax brun rouge; abdomen brun avec des bandes oranges; antennes fortement ciliées (Carter, 1984);
- ailes antérieures (Fig. 3E) brun clair à brun rouge, couvertes d'une réticulation sombre; parfois avec une coloration gris bleu; fascies basales, médianes et subterminales brun foncé;
- aile antérieure sans pli costal; nervure 11 naissant au delà de la moitié apicale de la cellule discale, présence d'une nervure interne (Fig. 3G);
- sur l'aile antérieure, bord externe de la fascie basale (bande transverse) généralement visible, fascie médiane distincte et grande fascie subterminale présentes;
- bases des nervures 4 et 5 des ailes postérieures séparées (Fig. 3G);
- ailes postérieures orange brillant; apex, bordures terminales et internes et parfois moitié apicale colorée avec du brun foncé. Cils jaune-orange (Fig. 3E).

### Diagnostic adult characters of *Cacoecimorpha pronubana* (female)

- wingspan 16–24 mm;
- head, thorax and abdomen as for the male;
- antennae weakly ciliate;
- forewing coloration similar to the male but often paler with darker reticulation (Fig. 3F);
- forewing median fascia weak towards the costa;
- forewing subterminal fascia reduced to a subapical blotch, emitting a variably distinct stria (longitudinal line) from inner margin to tornal area (Bradley *et al.*, 1973);
- hindwings (Fig. 3F) orange, with a brown suffusion often present on the inner margin which is sparse or absent on apex and terminal margins.

### Description of genitalia

A description of the general structure and terminology of lepidopteran genitalia, and details on methods of preparation and dissection, are provided by Robinson (1976) and Cribb (1972).

*Male*: uncus long and broadened, with two lobes (Fig. 3H). Socii straight and undeveloped. Gnathos simple, with poorly expressed caudal hook. Valva reduced, with a long elaborate sacculus: a large spine beyond midpoint, followed by a short one, the apex rounded and free. Transtilla entire, produced and lobed at either side. Anellus very large, with long lobes. Aedeagus very slightly curved; vesica with a few, small, slender spines (Medvedev, 1989; Mourikis & Vassilaina-Alexopoulou, 1972; Pierce & Metcalf, 1922).

*Female*: ductus bursae long and slender (Fig. 3I), with a sclerotized line throughout length. Corpus bursae smaller than appendix bursae, with a pointed signum.

### Comparison with similar species

Eggs, larvae and pupae of *C. pronubana* could be confused with those of *Epichoristodes acerbella* (Walker). Mature *E. acerbella* larvae can be distinguished from *C. pronubana* by the presence of the following characters.

#### Larvae

In *C. pronubana*, the dark marking on the posterolateral margin of the prothoracic plate is elliptical or triangular in shape. In *E. acerbella* this marking extends further towards the head capsule, as a line along the lateral margin of the prothoracic plate. The integument of *E. acerbella* has a dark dorso-central longitudinal line, with a pair of dark subdorsal lines which are generally not apparent in *C. pronubana*. The anal comb is pale brown in *E. acerbella* and green in *C. pronubana*.

#### Pupae

*E. acerbella* pupae have the cremaster tip as broad as wide and with the tip 'squared-off' (Fig. 3D) rather than elongate and with a rounded tip as in *C. pronubana* (Fig. 3C).

#### Adults

Adults of *E. acerbella* are easily distinguished by their distinctive greyish hindwings (*C. pronubana* bright orange).

### Critères de diagnostic des adultes de *Cacoecimorpha pronubana* (femelle)

- envergure 16–24 mm;
- tête, thorax et abdomen comme chez le mâle;
- antennes faiblement ciliées;
- ailes antérieures de même couleur que celles du mâle, mais souvent plus claires avec une réticulation plus foncée (Fig. 3F);
- fascie médiane de l'aile antérieure peu prononcée vers la costa;
- fascie subterminale de l'aile antérieure réduite à une tache subapicale d'où part une strie plus ou moins distincte (ligne longitudinale) entre la marge interne et la zone tornale (Bradley *et al.*, 1973);
- ailes postérieures (Fig. 3F) oranges, avec une coloration brune souvent présente sur la bordure interne, et clairsemée ou absente sur les bordures apicales et terminales.

### Description des génitalia

Une description de la structure générale et de la terminologie des génitalia, et des détails sur les méthodes de préparation et de dissection, sont présentés par Robinson (1976) et Cribb (1972).

*Mâle*: uncus long et élargi, avec deux lobes (Fig. 3H). Socii droits et peu développés. Gnathos simple, avec un crochet caudal peu développé. Valve réduite, avec un sacculus long et compliqué: grosse épine au delà du milieu suivie d'une courte épine, apex arrondi et libre. Transtilles entières, naissant et lobées de chaque côté. Anellus très large avec des lobes longs. Aedeagus très légèrement recourbé. Vesica portant quelques petites épines fines (Medvedev, 1989; Mourikis & Vassilaina-Alexopoulou, 1972; Pierce & Metcalf, 1922).

*Femelle*: ductus bursae long et mince (Fig. 3I), avec une ligne sclérisée tout le long. Corpus bursae plus petits que l'appendix bursae, avec un signum pointu.

### Comparaison avec des espèces similaires

Les oeufs, larves et chrysalides de *C. pronubana* peuvent être confondus avec ceux d'*Epichoristodes acerbella* (Walker). Les larves matures d'*E. acerbella* peuvent être distinguées de celles de *C. pronubana* par la présence des caractères suivants.

#### Larves

Chez *C. pronubana*, la marque noire du bord postérolatéral de la plaque thoracique est de forme elliptique ou triangulaire. Chez *E. acerbella*, cette marque s'étend en avant vers la capsule céphalique, sous forme d'une ligne le long du bord de la plaque. Les téguments d'*E. acerbella* portent une ligne longitudinale foncée dorso-centrale et une paire de lignes subdorsales foncées qui ne sont généralement pas visibles chez *C. pronubana*. Le peigne anal est brun clair chez *E. acerbella* et vert chez *C. pronubana*.

#### Chrysalides

L'extrémité du crémaster des chrysalides d'*E. acerbella* est aussi large que long. L'extrémité est tronquée (Fig. 3D) plutôt qu'allongée et arrondie comme chez *C. pronubana* (Fig. 3C).

#### Adultes

Les adultes d'*E. acerbella* sont facilement distingués par leurs ailes postérieures grisâtres caractéristiques (orange brillant chez *C. pronubana*).

## Requirements for a positive diagnosis

The procedures for detection and identification described in this protocol should have been followed. Mature larvae or adults in good condition, or male or female genitalia, should have been available. For identification of pupae, voucher specimens should have been available for comparison or confirmed by an experienced lepidopterist. The distinctive diagnostic morphological characters should have been seen, and the specimen should match the illustrations and/or voucher specimens.

## Report on the diagnosis

A report on the execution of the protocol should include:

- information on the origin and type of the infested plant material;
- a description of the symptoms (including photographs if possible);
- measurements, drawings or photographs (as relevant) of the morphological features required for a positive diagnosis;
- an indication of the magnitude of the infestation (how many individual pests found; how much damaged tissue);
- comments on the certainty or uncertainty of the identification.

Specimens should also be preserved where possible; adults pinned, empty pupal cases kept and larvae added to a wet collection. Holloway *et al.* (1992) provides details on preservation of specimens.

## Appendix I

### A basic method for the slide preparation of lepidopteran genitalia

The following basic method has been modified from Cook (1997).

Remove entire abdomen from the specimen. Place abdomen in a test tube and cover with 10% KOH. Heat the abdomen and KOH until the internal tissues become soft and the KOH becomes dark in colour (usually 5–10 min). Transfer the abdomen into a watch glass and cover with distilled water. Remove the scales from the abdomen by brushing with a fine brush, and tease out the internal tissues with a needle. Replace the water in the watch glass when it becomes difficult to see the structures. Remove the genitalia from the abdomen by tearing the intersegmental membrane with two forceps. Dehydrate the genitalia by replacing the water with 30% ethanol for a few minutes. Replace the 30% ethanol with 70% ethanol. The structures now begin to stiffen and at this point the genitalia should be arranged and flattened so that all structures can be seen. In the male, the valva need to be folded out. Dehydrate completely by adding 100% isopropanol and flatten further if necessary. Immerse the genitalia in Euparal essence. Place a small drop of Euparal on a clean slide (sufficient to cover the genitalia), then transfer the genitalia into the Euparal and lower the cover slip.

## Exigences pour un diagnostic positif

Les procédures de détection et d'identification décrites dans ce protocole doivent avoir été suivies. Des larves matures ou des adultes en bon état, ou des génitalia mâle ou femelle, doivent avoir été disponibles. Pour l'identification des chrysalides, des spécimens conservés doivent avoir été disponibles pour comparaison ou confirmés par un lépidoptériste expérimenté. Les caractères morphologiques typiques doivent avoir été observés et le spécimen doit correspondre aux illustrations et/ou spécimens conservés.

## Rapport sur le diagnostic

Le rapport sur la mise en oeuvre du protocole doit comporter:

- des informations sur l'origine du matériel végétal infesté;
- une description des symptômes (y compris des photographies si possible);
- des mesures, dessins ou photographies (comme pertinent) des caractéristiques morphologiques nécessaires pour un diagnostic positif;
- une indication de l'importance de l'infestation (nombre d'individus trouvés; quantité de tissus attaquée);
- une appréciation de la certitude ou non de l'identification.

Des spécimens doivent également être conservés dans la mesure du possible (adultes épinglés, cocons de chrysalide préservés, larves en flacons. Holloway *et al.*, 1992 présente des détails sur la conservation des spécimens.

## Annexe I

### Une méthode de base pour la préparation de génitalia de lépidoptères sur lame

La méthode suivante a été adaptée de Cook (1997).

Prélever l'abdomen entier du spécimen. Le placer dans un tube avec du KOH à 10% et couvrir. Chauffer le tube jusqu'à ce que les tissus internes de l'abdomen se ramollissent et que le KOH prenne une couleur sombre (généralement 5–10 min). Transférer l'abdomen dans un verre de montre et recouvrir d'eau distillée. Éliminer les écailles de l'abdomen à l'aide d'une brosse fine et faire sortir les tissus internes à l'aide d'une aiguille. Remplacer l'eau dans le verre de montre lorsque les structures sont difficiles à voir. Sortir les génitalia de l'abdomen en déchirant la membrane intersegmentaire avec deux pinces. Déshydrater les génitalia pendant quelques minutes en remplaçant l'eau par de l'éthanol à 30%. Remplacer l'éthanol à 30% par de l'éthanol à 70%. Les structures commencent à se raidir. Les génitalia doivent alors être disposés et aplatis de manière à pouvoir observer toutes les structures. Chez le mâle, les valves doivent être dépliées. Déshydrater complètement en ajoutant de l'isopropanol à 100% et aplatir encore si nécessaire. Immerger les génitalia dans de l'essence d'Euparal. Placer une petite goutte d'Euparal sur une lame propre (suffisamment pour couvrir les génitalia), puis transférer les génitalia dans l'Euparal et recouvrir d'une lamelle.

## Further information/Renseignements supplémentaires

Further information on this organism can be obtained from:/Des renseignements supplémentaires sur cet organisme peuvent être obtenus auprès de:

D. Carter, Department of Entomology, Natural History Museum, Cromwell Road, London, SW7 5BD (UK)

## Acknowledgements/Remerciements

This protocol was originally drafted by:/Ce protocole a été initialement préparé par:

J.S. Clark (formerly of CSL) & J. Robinson, Invertebrate Identification Team, Central Science Laboratory, Sand Hutton, York, YO41 1LZ (UK)

## References/Références

Bradley JD, Tremewan WG & Smith A (1973) *British tortricoid moths. Cochylidae and Tortricidae: Tortricinae*. Ray Society, London (GB).  
 Carter DJ (1984) *Pest Lepidoptera of Europe*. Dr W. Junk Publishers.  
 Chambon JP (1986) *Les tordeuses nuisibles en arboriculture fruitière*. INRA, Paris (FR).  
 Cook M (1997) *IIE Guides to Insects of Importance to Mankind Introduction to Lepidoptera*. International Institute of Entomology, CAB International, Wallingford (GB).  
 Cribb PW (1972) An amateur's guide to the study of the genitalia of Lepidoptera. *Amateur Entomologists' Society Leaflet, no. 34*.

Descoins C, Einhorn J, Lalanne-Cassou B & Pralavorio M (1985) Etude de la sécrétion phéromonale de la tordeuse européenne de l'oeillet: *Cacoecimorpha pronubana*. *Agronomie* **5**, 19–26.  
 Fisher RC (1924) The life-history and habits of *Tortrix pronubana*, with special reference to the larval and pupal stages. *Annals of Applied Biology* **11**, 395–447.  
 Geest LPS & Evenhuis HH (1991) *Tortricid Pests Their Biology, Natural Enemies and Control*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam (NL).  
 Heath J & Emmet AM (1985) *The Moths and Butterflies of Great Britain and Ireland*, Vol. 2. Cossidae-Helioidinidae. Harley Books.  
 Holloway JD, Bradley JD, Carter DJ & Betts CR (eds) (1992) *IIE Guides to insects of Importance to Man, 1. Lepidoptera*. CAB International, Wallingford & The Natural History Museum (GB).  
 Medvedev GS (1989) *Keys to the insects of the European part of the USSR. IV. Part One*. E.J. Brill.  
 Mourikis PA & Vassilaina-Alexopoulou P (1972) Observations on the laboratory rearing and biology of *Cacoecimorpha pronubana*. *Entomologist* **105**, 209–216.  
 Pierce FN & Metcalf J (1922) *The genitalia of the group Tortricidae of the Lepidoptera of the British Islands*. Pierce, Oundle (GB).  
 Robinson GS (1976) The preparation of slides of Lepidoptera genitalia with special reference to the Microlepidoptera. *Entomologist's Gazette* **27**, 127–132.  
 Swatschek B (1958) *Abhandlungen zur Larvensystematik der Insekten, 5. Tortricidae, Carposinidae*. Akademie Verlag, Berlin (DE) (in German).  
 Witzgall P (1990) Attraction of *Cacoecimorpha pronubana* male moths to synthetic sex pheromone blends in the wind tunnel. *Journal of Chemical Ecology* **16**, 1507–1515.