

LE DIRECTEUR GENERAL

Maisons-Alfort, le 27 février 2012

**AVIS**  
**de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de**  
**l'alimentation,**  
**de l'environnement et du travail**

**relatif à l'élaboration et à la conduite d'un protocole de**  
**test de l'efficacité de *Bacillus thuringiensis* variété**  
***israelensis* (Bti) sur les stades larvaires de *Hylesia***  
***metabus* en Guyanne**

---

*L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.*

*L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.*

*Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.*

*Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).*

*Ses avis sont rendus publics.*

---

L'Anses a été saisie le 6 septembre 2011 par les ministères chargés de l'écologie et de la santé afin de proposer un protocole expérimental pour tester l'efficacité du *Bacillus thuringiensis* variété *israelensis* (Bti) sur les stades larvaires du papillon cendré (*Hylesia metabus*) en laboratoire et en milieu naturel

## **1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE**

Cette saisine fait suite à une première demande adressée à l'Anses, concernant les stratégies de lutte contre *Hylesia metabus*, lépidoptère auquel sont confrontées certaines communes proches des mangroves en Guyane. L'Anses a rendu son avis le 16 août 2011, recommandant dans un premier temps d'axer les mesures de lutte sur les papillons adultes et de renoncer à court terme à l'utilisation de produits contre les chenilles des mangroves, faute de connaissances suffisantes sur l'efficacité des produits et des risques pour l'homme et pour l'environnement.

Le *Bti* ayant été identifié comme ayant une efficacité intéressante, il a été demandé à l'Anses, en lien avec le CNEV<sup>1</sup> :

- d'élaborer un protocole expérimental visant à tester l'efficacité et la spécificité du *Bti* sur les stades larvaires de *Hylesia metabus* en laboratoire et en milieu naturel, en intégrant notamment une détermination des stades larvaires les plus sensibles, le(s) type de formulation(s) du *Bti* la(es) plus adaptée(s), les concentrations efficaces ainsi qu'une évaluation des impacts environnementaux sur les organismes non cibles ;
- d'appuyer techniquement et scientifiquement les services locaux dans l'application de ce protocole sur le terrain ;
- de se prononcer, à la vue des résultats issus de la conduite de ce protocole expérimental, sur la pertinence et les modalités pratiques optimum de l'utilisation du *Bti* pour lutter contre *Hylesia metabus*.

En octobre 2011, le ministre chargé de l'écologie a confirmé son souhait de recevoir un protocole permettant d'évaluer l'efficacité du *Bti* indépendamment de toute autre substance.

## 2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise a été réalisée par les unités d'évaluation de la Direction des produits réglementés (« efficacité biocides », « efficacité des intrants du végétal », « évaluation écotoxicologie environnement biocides reach » et « coordination biocides ») en lien, avec des experts du CNEV, de l'IRD<sup>2</sup>, du CIRAD<sup>3</sup> et de l'EID<sup>4</sup>.

Le produit de l'expertise est un protocole d'évaluation de l'efficacité de préparations insecticides destinées à lutter contre le papillon cendré en Guyane. Un membre du comité d'experts spécialisé "Evaluation des risques liés aux substances et produits biocides" a été désigné rapporteur pour la relecture de ce protocole.

Ce comité d'experts spécialisé a validé, lors de sa séance du 13 octobre 2011, le protocole figurant en annexe.

---

<sup>1</sup> CNEV : Centre national d'expertise sur les vecteurs

<sup>2</sup> IRD : Institut de recherche pour le développement

<sup>3</sup> CIRAD : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement

<sup>4</sup> EID : entente interdépartementale pour la démoustication

### 3. SYNTHÈSE DES COMMENTAIRES DU CES

Un protocole d'évaluation de l'efficacité de préparations insecticides destinées à lutter contre le papillon cendré en Guyane est proposé. Il permet de tester les préparations larvicides en laboratoire et sur le terrain. Il répond donc à la demande formulée dans la saisine de tester des préparations à base de *Bti*.

Il convient toutefois de signaler que, dans le cadre d'expérimentations de terrain, les formulations actuelles à base de *Bti* ne seraient pas adaptées pour ce mode d'application (traitement aérien) et qu'une optimisation de la formulation (agents adhésifs améliorant l'adhérence au feuillage et agents de protection contre les rayonnements UV pour réduire la photodégradation) serait nécessaire pour s'assurer de l'efficacité.

Figurent en annexe de ce protocole des références scientifiques permettant de justifier la méthodologie proposée. Ces références peuvent mentionner des substances actives autres que le *Bti* mais sont nécessaires pour argumenter les paramètres méthodologiques d'expérimentation.

Le comité d'experts spécialisé "Evaluation des risques liés aux substances et produits biocides", a insisté sur les points développés ci-après.

- Il est restrictif de se limiter aux essais en laboratoire de préparations larvicides. Il conviendrait en particulier de se poser la question des possibilités de traitements alternatifs avec des substances actives « adulticides ». Il serait de plus pertinent d'envisager au préalable une expérimentation en laboratoire sur des papillons adultes afin de définir précisément les doses efficaces. A ce titre un sexage des larves pourrait être envisagé pour ne travailler que sur les mâles non urticants, lors de ces tests. Il conviendrait toutefois de vérifier préalablement que la sensibilité des adultes mâles et femelles est similaire.
- L'utilisation de biocides en zone de mangrove devrait être restreinte aux produits présentant une sélectivité importante et à ce jour, le *Bti* et le *Btk* constituent les meilleures options de traitement.

Les précisions suivantes relatives à leur efficacité, et justifiant leur choix, peuvent être apportées :

- o Concernant le *Bti*, selon J. M. VASSAL<sup>5</sup>, *Hylesia metabus* serait le seul lépidoptère connu à l'heure actuelle pour être sensible à ce sérotype dont la cible principale est généralement les diptères. L'observation réalisée avec une souche isolée sur le terrain<sup>6</sup> est à confirmer. En 1987, le *Bti* n'avait pas pu être testé faute de préparation commerciale disponible.

---

<sup>5</sup> VASSAL J.M. Biologie, écologie et pathologie d'*Hylesia metabus* (Cramer 1775) (Lépidoptères: Saturniidae) agent de la "papillonite" en Guyane Française: Mise en place d'une structure de lutte intégrée. Thèse de Sciences, Université des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier, 1989, 248 p. + 44 pl.

<sup>6</sup> Souche *Bti* H14 sp+ cr+ isolée d'*Hylesia metabus* entre 1980 et 1990 en Guyane, par SILVAIN et VASSAL (1991)

- Concernant le *Btk*, des essais aériens réalisés en 1987 en Guyane ont donné des résultats positifs et ont permis de préciser plusieurs points (dose, dilution, période de traitement).
- Il serait aussi pertinent de se rapprocher des acteurs localisés au Venezuela, où sont réalisés des traitements à grande échelle sur la mangrove avec du DIPEL® (à base de *Btk*) afin de bénéficier de leur expérience sur ce ravageur et de faire le parallèle avec les résultats d'essais qui ont été menés, notamment en termes de doses à appliquer sur le terrain.

#### **4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE**

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail propose, en réponse à la demande, le protocole figurant en annexe, et estime que :

- l'utilisation de préparations biocides à base de *Bti* et de *Btk* constitue à ce jour la meilleure option de traitement en zone de mangrove ;
- toutefois, il serait restrictif de se limiter, dans les essais en laboratoire, à ces seules préparations et recommande d'explorer toutes les solutions de traitement à base de préparations/substances actives larvicides et adulticides.

**Le directeur général**

Marc Mortureux

**PROTOCOLE D'EVALUATION DE L'EFFICACITE DE  
PREPARATIONS INSECTICIDES DESTINEES A LUTTER  
CONTRE LE PAPILLON CENDRE EN GUYANE**  
*Hylesia metabus*

Octobre 2011

Texte élaboré avec le concours de : **Isabelle ATTIG (Anses), Fabrice CHANDRE (IRD), Béatrice CHION (Anses), Robert DELORME, Frédéric JOURDAIN (Cnev), Jérôme LAVILLE (Anses), Christophe LAGNEAU (EID), Frédérique TOUFFET (Anses), Jean Michel VASSAL (Cirad).**

**AVANT PROPOS**

Pour la bonne compréhension et la mise en œuvre de ce protocole, il convient de se reporter aux documents techniques suivants :

CEB : Rôle et implantation des témoins sans traitement dans les essais de produits phytosanitaires. AFPP N° **DT 4**.

CEB : Les unités expérimentales. AFPP N° **DT 10**.

CEB : Principes d'appréciation des effets des produits phytosanitaires dans les essais de plein champ. AFPP N° **DT 5**.

CEB : Utilisation des tests statistiques dans l'interprétation des essais de produits phytosanitaires. AFPP N° **DT 6**.

CEB : Les réseaux d'essais. AFPP N° **DT 9**.

Il convient de noter que la méthode CEB 103 sur la chenille processionnaire du pin (essais d'efficacité et de valeur pratique) ne figure pas parmi les documents de référence présentés ci-dessus car les pratiques décrites dans cette méthode 103 semblent peu adaptées à la problématique d'*Hylesia metabus*. Cette méthode propose en effet de déplacer des nids d'un arbre à un autre, pour homogénéiser la quantité de chenilles par arbre avant le traitement, ce qui n'est pas envisageable pour *Hylesia metabus*. L'accès malaisé à la mangrove rend difficile et même parfois impossible le comptage préalable des populations. L'observation du comportement et de l'état des insectes avant et après traitement est toutefois indispensable pour juger de l'efficacité d'une préparation. De même pour juger des éventuels effets néfastes sur la faune non cible, il est important de réaliser des observations visuelles de la faune présente avant et après le traitement. Aussi, il est nécessaire d'identifier en Guyane une structure qui soit capable de mettre au point un élevage d'*Hylesia metabus* et de conduire ensuite des essais au laboratoire et dans la mangrove.

Quelques publications de référence pour la mise en œuvre de ce protocole sont listées en Annexe 1.

## 1. OBJET CE PROTOCOLE

Ce protocole est destiné à l'étude de l'efficacité de préparations insecticides sur le papillon cendre (*Hylesia metabus*) présent dans les mangroves.

Les essais d'efficacité proposés reposent sur des techniques mises au point au Venezuela et en Guyane.

L'étude de l'efficacité proposée consiste en la mise en place de deux essais.

- Un essai d'efficacité conduit en laboratoire. Il est destiné à évaluer l'efficacité de différentes doses d'une même préparation et à comparer l'efficacité de plusieurs préparations (formulations les plus adaptées), et ceci sur les différents stades de l'insecte (œuf, larve, papillon). L'essai au laboratoire permet de contrôler certains paramètres essentiels, tels que l'âge des chenilles, les conditions d'élevage et les doses efficaces.
- Un test de valeur pratique sur grandes surfaces permettant de valider en condition réelle l'efficacité d'une dose ou de plusieurs doses, de ou des préparations insecticides retenues lors de la première étape. Les applications sont réalisées en traitement aérien (hélicoptère, avion, ULM ...).

Les observations foliaires réalisées au cours des essais d'efficacité de valeur pratique permettent également de déceler d'éventuels effets phytotoxiques de la préparation pour le palétuvier.

De plus, dans le test de valeur pratique, un inventaire taxonomique qualitatif de la faune non cible permettra de déceler d'éventuels effets néfastes des applications. Aucun comptage n'est envisageable compte tenu de la dimension des parcelles ainsi que de la difficulté d'accès à ce type de milieu.

## 2. BIOLOGIE ET CONTEXTE DE LA LUTTE INSECTICIDE

### 2.1. Biologie

Le « papillon cendre » *Hylesia metabus* se développe principalement sur des palétuviers blancs, *Avicenia germinans*, arbres de grande hauteur de la mangrove âgée, en arrière des zones pionnières de mangroves, qui sont principalement peuplées de *Laguncularia racemosa*, plus petits, mais rapidement supplantés par *A. germinans* (en Guyane, ce papillon n'est jamais retrouvé sur les palétuviers rouges *Rhizophora mangle* ou *R. racemosa*, contrairement au Venezuela, où *H. metabus* semble s'y développer).

Les larves effectuent leur développement en sept stades, sur une période de 45 à 50 jours. Elles sont extrêmement voraces et, compte tenu du grand nombre d'individus d'une colonie, peuvent défolier entièrement les arbres. Les chenilles passent les premiers stades larvaires à la

surface inférieure des feuilles. Seules les chenilles des stades supérieurs ou égaux au stade 4 se regroupent sur les troncs des palétuviers, et alternent des périodes d'ingestion avec des périodes de repos sur les troncs, où elles peuvent être récoltées.

La surveillance des périodes d'émergence des adultes se fait en pratiquant des piégeages réguliers dans les zones de la mangrove sensibles aux périodes théoriques d'apparition des adultes (10 jours tous les trois mois).

A la tombée de la nuit, les papillons entrent en phase de vol et on peut alors les retrouver près des sources lumineuses et à proximité des mangroves. Cette phase de vol se produit habituellement entre 19 et 23 heures en période de pullulation. Les femelles libèrent en vol des milliers de fléchettes microscopiques urticantes, ces fléchettes sont également déposées lors de la ponte afin de protéger leurs œufs des prédateurs.

Les migrations en dehors de la mangrove se produiraient lorsque les insectes sont en très grande abondance (concurrence pour la nourriture). On peut alors les trouver sur un large panel de plantes hôtes dont certaines espèces sont cultivées au bord des villes (agrumes, manguiers, govaviers). Les adultes sont attirés par la lumière, mais ne seraient capables de se déplacer par leurs propres moyens (hors vent), que sur une vingtaine de kilomètres. Les femelles ne vivent que trois jours et sont incapables de se nourrir, leurs pièces buccales étant atrophiées.

## 2.2. Contexte de la lutte insecticide

Les palétuviers blancs dont les feuilles constituent la ressource trophique préférée d'*H.metabus* en zone de mangrove en Guyane, sont grands, localisés dans une zone difficile d'accès donc inaccessibles par un traitement au sol.

Des essais d'efficacité au laboratoire pour étudier l'efficacité des préparations et déterminer les doses d'application peuvent être entrepris en conditions contrôlées. Les étapes sont : le piégeage d'adultes femelles vivants (ou la récolte de pontes de terrain), la mise en élevage, la récolte des pontes, l'éclosion, la réalisation d'essais sur larves des différents stades sur ronds de feuilles.

La seule possibilité pour tester l'efficacité des préparations sur le terrain est de les appliquer par traitement aérien, avec une formulation qui adhère au feuillage et un volume de traitement assez important pour pénétrer le feuillage. L'UBV (Ultra-Bas Volume) à 1 L/ha est déconseillé du fait du volume du feuillage. Il faudrait tout d'abord tester un volume adéquat (entre 5 et 20 L/ha), un volume de 20 L/ha paraissant plus pertinent. La détermination du volume à appliquer par hectare peut se faire avec une application des préparations par avion au dessus de zones de mangrove où sont posés dans les différentes strates des arbres des papiers sensibles permettant de compter les gouttelettes traversant le feuillage. La taille souhaitable des parcelles serait d'environ 25 ha.

## A. ESSAI D'EFFICACITE AU LABORATOIRE

Les premiers essais pour vérifier l'efficacité de préparations insecticides, et valider des doses efficaces (déterminées à partir des doses létales à 50 % (DL50), à 90 % (DL90)) ne peuvent être entrepris qu'en conditions contrôlées, au laboratoire.

### A.1. CONDITIONS EXPERIMENTALES

#### *A.1.1. Choix du laboratoire*

Le laboratoire doit disposer d'installations spécifiques pour manipuler les femelles gravides et les pontes. Le personnel doit être formé à la manipulation d'insectes urticants.

#### *A.1.2. Elevage*

Les étapes de l'élevage sont : le piégeage d'adultes femelles vivants, la récolte des pontes, l'éclosion, l'alimentation des larves. Les conditions d'élevage sont : 26 à 28 °C, 65 à 80 % d'humidité relative, photopériode 12 h jour / 12 h nuit.

#### *A.1.3. Test des préparations*

Les tests sont réalisés sur les larves des différents stades sur ronds de feuilles traités selon les différentes conditions expérimentales. Les stades larvaires les plus jeunes sont généralement les plus sensibles.

#### *A.1.4. Témoin non traité*

Un témoin non traité est intégré dans le dispositif expérimental. Il est constitué de larves, si possible issues de la même ponte que les larves à tester, sur ronds de feuilles non traités. Il permet également de surveiller l'évolution des larves et de détecter une éventuelle mortalité naturelle due à la présence d'agents pathogènes au sein de la colonie et d'ajuster les résultats d'efficacité.

#### *A.1.5. Dispositif expérimental*

Les larves de même âge sont sélectionnées pour réaliser les tests. Une modalité correspond au test d'une préparation sur un stade larvaire donné. 50 larves de même âge sont utilisées par modalité testée. On réalise trois répétitions au minimum par modalité testée.

Pour une modalité, 5 à 6 doses croissantes peuvent être testées et une DL50 déterminée (méthode d'analyse des « probits »).

Les larves sont placées dans des boîtes qui représentent généralement un volume de 200 ml. Ces boîtes doivent être préalablement nettoyées et désinfectées.

Dans l'enceinte climatique du laboratoire, les boîtes sont disposées de façon à garantir une homogénéité de température, d'humidité et de lumière entre toutes les modalités.

## A.2. TRAITEMENTS

### *A.2.1. Produits de référence*

Une préparation de référence est incluse dans le dispositif. Elle sert de terme de comparaison pour les autres préparations étudiées. Elle permet en outre de s'interroger sur la validité de l'essai au cas où cette référence montrerait des résultats inattendus. La même préparation de référence doit figurer dans tous les essais et, si possible, pendant toute la durée de l'étude d'une même préparation.

Lorsqu'aucune préparation n'est autorisée, le témoin non traité sert alors de terme de comparaison.

### *A.2.2. Doses à tester*

Plusieurs doses peuvent être expérimentées. Elles sont choisies en fonction de la famille chimique à laquelle appartient la matière active testée et des connaissances déjà acquises sur son efficacité sur cet insecte ou d'autres insectes.

### *A.2.3. Réalisation des traitements*

Les traitements sont réalisés par imprégnation calibrée à la pipette ou avec un pulvérisateur de type « tour de Potter » sur des disques calibrés de feuilles de palétuvier.

## A.3. OBSERVATIONS ET NOTATIONS

### *A.3.1. Observations préalables*

Elles consistent à vérifier l'état sanitaire de l'élevage avant la réalisation des tests.

### *A3.2. Observations principales*

Les observations sont quotidiennes et ont lieu pendant une période minimale de six jours. Elles consistent à déterminer :

- le stade de développement larvaire ;
- le nombre de larves mortes ;
- le nombre de larves moribondes (activité réduite en termes de déplacement, d'alimentation).

## **A.4. ANALYSE STATISTIQUE DES VARIABLES ET INTERPRETATION DES RESULTATS**

### *A.4.1. Elaboration des variables*

Doivent être calculés :

- le pourcentage de mortalité ;
- le pourcentage de larves moribondes.

### *A.4.2. Analyse statistique*

Une analyse de variance et un test de FISHER permettent de tester globalement l'effet des traitements. La comparaison des moyennes se fait à l'aide du test de DUNETT pour comparer les préparations avec leur référence. On utilise le test de NEWMAN et KEULS (seuil de 5%) pour comparer les préparations entre elles.

Une DL50 pour chaque modalité peut également être déterminée par la méthode d'analyse des « probits »

### *A.4.3. Interprétation des résultats*

Une mortalité dans le témoin non traité supérieure à 20 % entraîne le rejet de l'essai.

L'efficacité des préparations est interprétée en tenant compte de la dose testée et du stade larvaire de l'insecte lors de l'application.

## **A.5. PRESENTATION DES RESULTATS**

Les résultats sont généralement présentés sous la forme de tableaux ou de figures

## B. ESSAIS DE VALEUR PRATIQUE

Des essais sur de grandes surfaces sont indispensables pour valider en conditions pratiques (application aérienne) l'efficacité et la quantité de produit effectivement déposée sur les feuilles. Ce sont en fait des tests de comportement d'un produit déjà étudié en laboratoire dont une dose (exceptionnellement deux) a été retenue. Ce type de test prend en compte toutes les implications techniques du produit dans les conditions proches d'une éventuelle application. Il convient ainsi de vérifier que la formulation expérimentée est compatible avec le mode d'application aérien. L'efficacité du traitement est en effet dépendante de la qualité de l'atomisation obtenue (pas d'incompatibilité de la spécialité avec le matériel utilisé : Micronair, buses rotatives). Dans ce test, une observation attentive de la faune non cible sera également réalisée.

L'efficacité est évaluée en dénombrant les chenilles vivantes avant et après traitement sur un nombre de points d'échantillonnage suffisamment représentatif et après un délai jugé suffisant pour que le produit fasse effet (à titre indicatif : 2 à 15 jours selon les produits).

### B.1. CONDITIONS EXPERIMENTALES

#### *B.1.1. Choix de la culture et variétés*

Les expérimentations se font sur le palétuvier. En Guyane, d'après J. M. VASSAL<sup>7</sup>, le « papillon cendre » n'a jamais été trouvé sur les palétuviers rouges *Rhizophora mangle* ou *R. racemosa*, contrairement au Venezuela, où *H. metabus* semble s'y développer.

#### *B.1.2. Choix du lieu d'implantation*

L'expérimentation est conduite sur un site homogène pour sa topographie et la prédominance de palétuviers blancs.

#### *B.1.3. Témoin non traité*

Il est indispensable de disposer d'une parcelle non traitée et recommandé de traiter une autre parcelle avec une préparation de référence.

---

<sup>7</sup> J.M. Vassal (CIRAD) : communication personnelle

#### ***B.1.4. Dispositif expérimental***

Pour chaque modalité, les parcelles (au nombre de deux en général) sont disposées de façon contiguë.

#### ***B.1.5. Dimension des parcelles***

La taille des parcelles, imposée par le mode d'application aérien, serait au minimum de 8 à 10 ha. Il est toutefois recommandé d'utiliser des parcelles de 25 ha.

### **B.2. TRAITEMENTS**

#### ***B.2.1. Doses et formulation à expérimenter***

Une ou deux doses sont testées. Ces doses sont choisies en fonction des résultats obtenus dans l'essai d'efficacité de laboratoire si celui-ci a pu être mis en œuvre avant.

La formulation doit être adaptée pour les traitements aériens en forêt. Elle doit intégrer des agents de conservation permettant d'accroître la stabilité de l'insecticide ; des adhésifs améliorant l'adhérence au feuillage ; des agents de protection contre le rayonnement UV permettant de réduire la photodégradation ; des agents pour favoriser la dispersion sur la surface des plantes traitées.

#### ***B.2.2. Epoques de traitements***

Les traitements sont réalisés sur avertissement en fonction des stades observés dans la mangrove ou des résultats des piégeages faits par les pièges lumineux.

Les stades larvaires les plus jeunes sont habituellement les plus sensibles aux préparations insecticides. Des périodes d'émergence des adultes (théoriquement 10 jours tous les 3 mois), on peut déduire avec une grande précision les dates de traitement à faire pour des jeunes chenilles.

#### ***B.2.3. Réalisation des traitements***

Les traitements sont réalisés par application aérienne (avion, hélicoptère...) sur la base de 20 litres de bouillie / ha avec une formulation adaptée en terme de solvants et d'adjuvants et un dispositif d'aspersion adéquat (par exemple avec des buses rotatives type "Micronair").

Le moyen d'épandage devra permettre le survol de la mangrove à très basse altitude afin de maîtriser les surfaces à traiter (limitation de la dérive).

Les traitements devraient préférentiellement être faits le tôt le matin (entre 6 h et 9 h), période de la journée la moins ventée en Guyane. De plus, à cette période, les chenilles sont encore en train de se nourrir dans le feuillage.

### B.3. OBSERVATIONS ET NOTATIONS

Les chenilles passent les premiers stades larvaires à la surface inférieure des feuilles, elles sont donc difficilement atteignables pour des comptages.

Seules les chenilles des derniers stades (supérieurs ou égaux à 4) se regroupent sur les troncs des palétuviers, et alternent des périodes de nourriture avec des périodes de repos sur les troncs, où on peut les observer et les récolter.

Une estimation des populations et des différents stades de l'insecte est faite avant et après traitement. Après traitement, il convient de réaliser plusieurs observations successives pour suivre l'évolution des mortalités. A titre indicatif, l'effet du traitement par *Bacillus thuriensis* n'est souvent visible qu'à partir du 11<sup>ème</sup> jour après l'application.

Il est possible de récolter les chenilles après traitement sur la parcelle traitée et la parcelle témoin, et d'observer les mortalités au laboratoire pendant une période donnée (23 jours selon Vassal, 1989).

Une estimation du pourcentage de défoliation des palétuviers peut également être faite par cartographie aérienne.

Une estimation des insectes non cibles (plus particulièrement des diptères et des lépidoptères) est faite avant et après traitement. Après traitement, il convient de réaliser plusieurs observations successives pour suivre l'évolution de ces populations. Ces estimations peuvent se faire en même temps que les observations des populations d'*Hylesia metabus*. Une liste des insectes auxiliaires est présentée en Annexe 2 et peut servir de base pour les espèces non cibles à suivre. Toutefois, elle n'est pas exhaustive.

Une diminution des populations d'*Hylesia metabus* peut également provenir d'une infection par les bactéries et virus pathogènes naturels mentionnés en Annexe 3. Il conviendra d'en tenir compte lors de l'interprétation des résultats.

### B.4. INTERPRETATION DES RESULTATS

Les résultats sont interprétés avec les mêmes critères d'appréciation que dans les essais de laboratoire (mort, mobilité, alimentation)

### B.5. PRESENTATION DES RESULTATS

Les résultats sont présentés sous la même forme de tableaux ou de figures.

**ANNEXE 1 DU PROTOCOLE: PUBLICATIONS D'INTERET POUR LA  
REALISATION DES ESSAIS EN LABORATOIRE ET LES ESSAIS DE VALEUR  
PRATIQUE**

1. Evaluation of the effectiveness of larvicida Dipel 23,3 Ls, with *Bacillus thuringiensis* to var. kurstaki on larvae of third, quarter and fifth to urge de *Hylesia metabus* Cramer. Institute of biomedicine and applied sciences of the university of libca-udo east and university Simon Bolivar, Closing report, Cumana, diciembre de 2004.
2. HERNADEZ J. V. et al., 2009. Parasitoides larva-pupa de *Hylesia metabus* Cramer en la region nororiental de Venezuela : un caso de control biologico natural. Neotrop. Entomol. Vol. 38, n° 2, londrina, mar/apri 2009.
3. OSBORN F. et al., 2002. Pathogenic effects of bacteria isolated from larvae of *Hylesia metabus* Cramer (*Lepidoptera: Saturniidae*). Journal of invertebrate Pathology 80 (2002) 7-12.
4. SILVAIN J.F., et al., 1991. Historique et perspectives des travaux réalisés par l'ORSTOM en Guyane sur certains facteurs biotiques de régulations des populations d'insectes et leur utilisation en lutte intégrée. Rencontres Caraïbes en lutte biologique, Guadeloupe, 5-7 novembre 1990, Ed. INRA, Paris 1991 (Les colloques n° 58), 513-527.
5. VASSAL J. M., 1986. *Hylesia metabus* agent de la papillonite en Guyane française. Le littoral guyanais, 125-130
6. VASSAL J.M., 1989. Biologie, écologie et pathologie d'*Hylesia metabus* (Cramer 1775) (Lépidoptères: Saturniidae) agent de la "papillonite" en Guyane Française: Mise en place d'une structure de lutte intégrée. Thèse de Sciences, Université des sciences et techniques du Languedoc, Montpellier, 1989, 248 p. + 44 pl.
7. VASSAL, J. M., et al. 1993. Isolation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* from diseased field-collected larvae of the Saturniid moth, *Hylesia metabus*, in French Guyana. FEMS Microbiology Letters 107: 199-204.

## ANNEXE 2 DU PROTOCOLE: LISTE DES INSECTES AUXILIAIRES

Insectes présentant un comportement **parasitoïde** vis-à-vis d'*Hylesia metabus*

Espèce	Famille	Pays	Référence
<i>Belvosia sp</i>	Diptères / <i>Tachinidae</i>	Venezuela	HERNANDEZ (2009)
<i>Sarcodexia lambens</i>	Diptères / <i>Sarcophagidae</i>	Venezuela	HERNANDEZ (2009)
<i>Sarcodexia innota</i>	Diptères / <i>Tachinidae</i>	Guyane	SILVAIN (1991)
<i>Sarcodex</i>	Diptères	Venezuela	HERNANDEZ (2009)
<i>Leptostylum sp.</i>		Venezuela	HERNANDEZ (2009)
		Guyane	SILVAIN (1991)
	Hyménoptères / <i>Ichneumonidae</i>		
<i>Chalcididae</i>	Hyménoptères	Venezuela	HERNANDEZ (2009)
		Guyane	SILVAIN (1991)
<i>Perilampidae</i>		Venezuela	HERNANDEZ (2009)
<i>Eulophidae</i>		Venezuela	HERNANDEZ (2009)
<i>Neotheronia sp.</i>	Hyménoptères / <i>Ichneumonidae</i>	Venezuela	HERNANDEZ (2009)
Punaise <i>Arilus carinatus</i>	<i>Reduviidae</i>	Venezuela	Vasquez (1984)

Insectes présentant un comportement **prédateur** vis-à-vis d'*Hylesia metabus*

Espèce	Famille	Pays	Référence
<i>Vespidae</i>	Hyménoptères	Guyane	SILVAIN (1991) Et cité par J. P. Champenois et P. Gombauld (2011)

**ANNEXE 3 DU PROTOCOLE : LISTE DES BACTERIES ET VIRUS PATHOGENES  
NATURELS**

Bactéries et virus pathogènes isolés d'*Hylesia metabus*

<b>Espèce</b>	<b>Pays</b>	<b>Référence</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Venezuela	OSBORN (2002)
<i>Proteus vulgaris</i>	Venezuela	OSBORN (2002)
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Venezuela	OSBORN (2002)
<i>Planococcus sp.</i>	Venezuela	OSBORN (2002)
<i>Bacillus megaterium</i>	Venezuela	OSBORN (2002)
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> sérotipe H14	Guyane	VASSAL (1993)
Baculovirus NPV	Guyane	SILVAIN (1991)