

**AFPP – 6<sup>e</sup> CONFÉRENCE SUR LES MOYENS ALTERNATIFS DE PROTECTION  
POUR UNE PRODUCTION INTÉGRÉE  
LILLE – 21, 22 ET 23 MARS 2017**

**EFFET DE MICRO-INJECTIONS D'EMAMECTINE BENZOATE DANS L'ARBRE HÔTE SUR LA SURVIE DES  
PREMIERS STADES LARVAIRES DE LA PYRALE DU BUIS**

A. BRAS <sup>(1)</sup>, M.-A. AUGER-ROZENBERG <sup>(1)</sup>, P. PINEAU <sup>(1)</sup>, P. LORME <sup>(1)</sup>, A. ROQUES <sup>(1)</sup>, M. LAPARIE <sup>(1)\*</sup>,  
J. ROUSSELET <sup>(1)\*</sup>

\*Co-derniers auteurs (contribution égale des auteurs à l'encadrement de l'étude)

<sup>(1)</sup> INRA, UR633 Zoologie Forestière, Orléans, France, jerome.rousselet@inra.fr

## **RÉSUMÉ**

La formulation insecticide Revive<sup>®</sup>, à base d'emamectine benzoate, est utilisée en micro-injection dans les troncs d'arbre pour lutter durant une à plusieurs années contre différents ravageurs. Depuis l'invasion en Europe de la pyrale du buis, le traitement des buis ornementaux par les méthodes actuelles (ex : *Btk*) doit être répété plusieurs fois par an pour limiter efficacement les défoliations. Pour évaluer l'intérêt des injections sur des buis ornementaux, trois volumes différents de Revive<sup>®</sup> ont été injectés dans des buis de diamètre  $3 \pm 1$  cm et leur survie a été comparée à celles de buis témoins sans injection ou avec injection d'eau. L'efficacité du Revive<sup>®</sup> contre le ravageur a été testée en calculant le taux de mortalité de jeunes chenilles néonates après environ huit jours d'alimentation sur des branches issues de chaque condition. La mortalité atteint de 46,1% à 62,5% selon le volume de Revive<sup>®</sup> injecté, contre moins de 10 % pour les arbres témoins. Ces premiers résultats positifs ne permettent cependant pas encore de déterminer la dose minimale efficace. Elle doit être définie en fonction de la taille des arbres à traiter, de la cinétique d'efficacité du produit sur les larves, et de sa durée de rémanence dans les arbres traités.

Mots-clés : Micro-injection, insecticide, insecte invasif, *Cydalima perspectalis*, *Buxus*.

## **ABSTRACT**

### **EFFECT OF EMAMECTIN BENZOATE TREE MICRO INJECTION ON THE SURVIVAL RATE OF THE FIRST LARVAL INSTAR OF THE BOX TREE MOTH**

Revive<sup>®</sup>, an emamectine benzoate formulation, is used as tree micro injection into the trunk of trees to limit, over several years, the damage associated with multiple pests. Since the invasion of the box tree moth in Europe, treatment of ornamental box trees using current methods (*i.e.*, *Btk*) must be repeated several times a year to effectively reduce defoliations and prevent tree mortality. To assess the relevance of Revive<sup>®</sup> injections in ornamental box trees, three distinct volumes of the product have been injected in trees of  $3 \pm 1$  cm diameter, and their survival was then compared with control trees with either no injection or water injection. The effectiveness of Revive<sup>®</sup> against the pest was tested by checking mortality of young neonate larvae after *ca.* eight days feeding on branches from each condition. Mortality reached 46.1% to 62.5% depending on the injected volume of Revive<sup>®</sup>, *versus* less than 10% in control conditions. However, these positive results are still preliminary and do not allow determining the minimal effective dose yet. This dose must be determined depending on the size of target trees, the kinetics of the insecticide's effect on larvae, and its remanence in injected trees.

Keywords: Tree micro injection, insecticide, invasive insect, *Cydalima perspectalis*, *Buxus*.

## INTRODUCTION

La pyrale du buis, *Cydalima perspectalis* (Walker 1859), est un lépidoptère originaire d'Asie observé pour la première fois en Europe en 2007 (Krüger 2008). Ses larves défoliatrices sont connues pour faire leur développement sur une quinzaine d'espèces du genre *Buxus*, dont *B. sempervirens* le buis commun européen, très apprécié notamment pour ses qualités ornementales (Jones 2014). La pyrale du buis a connu une expansion fulgurante probablement due au commerce de buis ornementaux (Van der Straten et Muus 2010 ; Brua 2013 ; Kenis et al. 2013 ; Roques et al. 2016) et est désormais présente dans au moins 27 états européens, dont la France où elle a d'ores et déjà colonisé 79 départements (Astredor & Plante & Cité 2015 ; Bras et al. 2016). Les défoliations importantes et répétées dues aux pullulations de cet insecte multivoltin peuvent entraîner la mort des buis attaqués en quelques générations (Kenis et al. 2013). Présent désormais aussi bien dans les jardins à la française que dans les buxaias naturelles, cet insecte invasif constitue une menace à la fois pour le patrimoine culturel et naturel.

Plusieurs méthodes de lutte sont en cours de développement ou d'évaluation afin de construire une stratégie de gestion de cette espèce (Guérin et al. 2016). Les essais effectués concernent des méthodes de lutte ciblant les chenilles (pulvérisation de pyrèthre, de spinosad, de *Bacillus thuringiensis kurstaki* - *Btk*, de nématodes), les papillons mâles (piégeage phéromonal de masse), et les œufs (recherche de souches de trichogrammes capables de s'attaquer à la pyrale du buis) (Enriquez et al. 2015 ; Venard et al. 2016 ; Martin et al. 2015 ; Martin et al. 2016 ; Cartier & Cornillon 2016 ; Guérin et al. 2016 ; Rose et al. 2013). L'efficacité des actions entreprises est généralement fortement dépendante de leur mise en œuvre au bon moment du cycle biologique du ravageur (Guérin et al. 2016), qui peut varier d'une région à l'autre, et d'une année à l'autre (Nacambo et al. 2014). C'est en particulier le cas pour les traitements au *Btk* qui constituent l'une des méthodes de lutte actuellement les plus employées. Pour préserver les buis de ce ravageur, les pulvérisations doivent être appliquées à chacune des trois générations de l'année, dont l'apparition peut être notamment inférée par *monitoring* du vol des papillons à l'aide de pièges à phéromone (Guérin et al. 2016). Cependant, à partir du milieu de l'été, on peut parfois assister à un étalement du vol des adultes et à une présence plus ou moins continue de chenilles, sans distinction nette entre générations, compliquant la lutte. Par ailleurs, les traitements au *Btk* peuvent avoir des impacts sur les lépidoptères non cible et doivent être effectués dans des conditions permettant de les éviter (conditions météorologiques n'entraînant pas de lessivage, application bien ciblée sur les buis à traiter, ...). Il est également nécessaire de respecter un délai de rentrée dans les lieux ouverts au public.

Nous présentons ici les résultats de tests préliminaires visant à évaluer l'efficacité contre la pyrale du buis de micro-injections dans les buis du produit Revive®, une spécialité commerciale à base d'emamectine benzoate sous forme de micro-émulsion. Cette substance est un dérivé de la famille des avermectines qui sont des composés produits par des bactéries du sol, et utilisés de longue date en phytopharmacie et pharmacie vétérinaire pour leurs effets nématocides et insecticides (Bourdrez et al. 2014 ; Doccola & Wild 2012). Ils agissent par contact ou ingestion et paralysent l'insecte par effet agoniste de l'acide gamma aminobutyrique et activation des canaux chlorés du système nerveux (Bourdrez et al. 2014 ; Fettig et al. 2013). L'efficacité de l'emamectine benzoate a déjà été évaluée sur plusieurs coléoptères et lépidoptères, notamment aux Etats-Unis (*e.g.* Fettig et al. 2013 ; Cook et al. 2013a,b ; Fidgen et al. 2013 ; Bourdrez et al. 2014), et la formulation insecticide Revive® est actuellement homologuée en France contre le charançon rouge du palmier (AMM n°2140041). La technique de micro-injection présente l'avantage de limiter la quantité de produit phytosanitaire nécessaire, d'éviter les risques de lessivage et de dérive sur les végétaux non traités inhérents aux pulvérisations (Bourdrez et al. 2014) et, surtout, pourrait permettre de protéger les arbres traités de plusieurs mois à quelques années sans nécessiter de répéter l'application à chaque nouvelle génération (Doccola & Wild 2012 ; Bourdrez et al. 2014). Contrairement aux autres méthodes de lutte, la technique de micro-injection est sans doute difficile à mettre en œuvre à large échelle sur un grand nombre d'arbres, mais elle pourrait venir compléter le panel de méthodes disponibles. De par ses caractéristiques, elle apparaîtrait particulièrement adaptée à la protection de sujets remarquables (arbres taillés de longue date des jardins à la française et de l'art topiaire, vieux buis des villes et villages, ...) (i) si son efficacité et sa rapidité d'action étaient suffisantes pour notablement limiter les défoliations, (ii) si sa persistance d'action chez le

buis était suffisamment longue pour limiter le nombre d'interventions, (iii) si la blessure causée par l'injection, et *a fortiori* par des injections répétées, était sans effet négatif majeur sur la santé du buis traité et si (iv) la présence de résidus dans des parties de la plante susceptibles d'être disséminées (pollen, feuillage taillé ou tombé au sol), et leur demi-vie dans l'environnement étaient faibles.

L'objectif de cette étude exploratoire se limite à une première évaluation de l'effet d'injections de différents volumes de Revive® sur la survie des arbres traités et des jeunes stades de pyrale du buis. Cette expérience réalisée sur des buis de faible section (diamètre de  $3 \pm 1$  cm) a été complétée dans un site naturellement infesté par la pyrale du buis par des observations de dégâts sur des buis traités et non traités de forte section (diamètre de  $9 \pm 1$  cm) dont la taille correspond à celle de vieux sujets remarquables.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### SITE ET TRAITEMENTS EXPÉRIMENTAUX

#### Traitements par micro-injection (TMI)

Les expérimentations ont été conduites au lieu-dit « Le Petit bois » à Mettray (Indre-et-Loire, France,  $47^{\circ}27'07''N$  ;  $0^{\circ}39'30''E$ ) où les buis, dont de nombreux individus centenaires, constituent une grande partie du sous-bois. Les arbres de l'expérimentation ont été sélectionnés en fonction de deux critères : l'intensité des défoliations lors de l'année 2015 et le diamètre du tronc à 30 centimètres du sol. Seuls les arbres dont le pourcentage de défoliation était inférieur à 50% ont été choisis, et prioritairement ceux défoliés à moins de 25%. De même, seuls les arbres de diamètre compris entre 2 et 4 cm ont été sélectionnés afin de standardiser au maximum le protocole d'injection. De plus, les arbres ont été attribués de manière semi-randomisé à chaque traitement afin de limiter d'éventuel biais liés à la taille de l'arbre sur la diffusion du produit et/ou la mortalité des chenilles. Ainsi, dans chaque traitement, les arbres sélectionnés étaient de diamètre similaire (Tableau I).

Le produit Revive® injecté dans les arbres est une micro-émulsion à base de 4 % d'emamectine benzoate, commercialisée et fournie par l'entreprise Syngenta. Le produit a été injecté à la base du tronc à l'aide d'une seringue spécifique pour les TMI par l'entreprise Syngenta qui a mis au point le protocole correspondant. Trois volumes d'injection différents de Revive® ont été comparés : 0.75 mL (R1), 1.5mL (R2) et 3.0 mL (R3). Pour tester à la fois l'effet de l'injection et du Revive®, deux conditions contrôle ont été considérées simultanément : aucune injection (C) et injection d'1.5 mL d'eau (CW). Suivant les recommandations de Syngenta, un trou unique d'injection dans le tronc a été fait pour les volumes de R1 et R2, et deux trous de part et d'autre du tronc pour le volume R3. Chaque trou a été rebouché avec un *plug* en plastique pour limiter tout risque de contamination ultérieure par des agents pathogènes. Au total, 50 arbres ont été suivis pour l'expérimentation à raison de 10 réplicats par condition testée (trois volumes d'injection différents et deux conditions témoin). L'ensemble des injections a été réalisé au début du mois de mai.

Afin d'explorer l'intérêt et la faisabilité des injections sur de gros buis patrimoniaux, une expérimentation exploratoire de TMI a été réalisée sur des buis ayant un diamètre compris entre 8 et 10 cm à 30 cm du sol. Au total, 8 arbres présentant des dégâts inférieurs à 25% de défoliations ont été sélectionnés. Deux arbres ont été utilisés comme témoins sans injection et l'injection du Revive® a été faite pour six arbres à différents volumes adaptés à leur diamètre : 2.5mL (R4), 5mL (R5) et 10 mL (R6), à raison de deux réplicats par condition. Quatre trous d'injections ont été faits de part et d'autre du tronc.

#### Tests d'alimentation

Pour tester l'effet du Revive® sur la mortalité de la pyrale du buis, des chrysalides ont été prélevées sur le site du « Petit Bois » puis placées en chambre climatique à  $21 \pm 1$  °C (photopériode 16:8 L:D) jusqu'à émergence. Les papillons obtenus ont été placés dans une cage de reproduction jusqu'à la ponte. Les feuilles sur lesquelles les œufs ont été pondus, ont été prélevées tous les jours.

Le nombre d'œufs a ensuite été compté et les feuilles ont été regroupées pour constituer des lots de 45 œufs  $\pm$  10 pour la suite de l'expérimentation au laboratoire.

Trois branches ont été prélevées à trois hauteurs différentes (bas, milieu, haut) de chaque arbre de l'expérimentation afin d'éviter un éventuel biais de répartition hétérogène du produit dans l'arbre. Chaque lot d'œufs a été placé deux à quatre jours après la ponte sur un groupe de trois branches de buis collectées (sans alimentation hydrique), mis en boîte d'élevage et placé en chambre climatique à  $21 \pm 1$  °C (16:8 L:D). Après deux jours, les pontes ont été retirées des boîtes d'élevage afin de comptabiliser le nombre d'œufs vides et déduire le taux d'éclosion. Huit jours après l'installation des œufs sur le feuillage, les chenilles vivantes et mortes ont été comptabilisées dans chaque réplicat.

## ANALYSES STATISTIQUES

Un modèle linéaire généralisé pour données binomiales (famille = « quasibinomiale » afin de tenir compte de la surdispersion, lien = « logit ») a été constitué pour réaliser une analyse de déviance et tester l'influence, sur la mortalité des chenilles, du traitement (C, CW, R1, R2, R3), de la covariable diamètre de l'arbre et de l'interaction entre ces deux variables. Un test *post-hoc* de Tukey a ensuite été réalisé pour comparer deux à deux les niveaux du facteur traitement. L'adéquation de la distribution des résidus du modèle à la Loi Normale a été préalablement vérifiée par représentation graphique de type Q-Q plot et confirmée par un test de Shapiro-Wilk. Un second modèle linéaire généralisé pour données binomiales (famille = « quasibinomiale », lien = « logit ») a été utilisé pour réaliser une régression logistique de la mortalité en fonction du volume de Revive® injecté (0, 0.75, 1.5 ou 3 mL). Une transformation  $\log(1 + x)$  a été appliquée à la variable explicative, permettant un meilleur ajustement du modèle. L'adéquation de la distribution des résidus à la Loi Normale a à encore été vérifiée par représentation graphique de type Q-Q plot et test de Shapiro-Wilk. L'ensemble des tests statistiques et des figures a été réalisé sous R 3.3.2 (R Development Core Team, 2008).

## RÉSULTATS

### DESCRIPTION DU JEU DE DONNÉES

Cinq mois après injection, aucune mortalité n'a été constatée dans les arbres de l'expérience. Après éclosion des œufs disposés sur les branches, nous avons constaté des effectifs de chenilles inférieurs au nombre d'œufs éclos, pouvant indiquer une activité locomotrice importante et la fuite éventuelle de certains individus hors des boîtes d'élevage. Il n'a ainsi pas été possible d'évaluer la mortalité de l'ensemble des individus éclos, c'est pourquoi nous avons décidé de réaliser nos calculs sur la base du nombre de chenilles (vivantes ou mortes) retrouvées dans les boîtes d'élevage huit jours après dépôt des œufs sur les branches (Tableau I).

En raison du grand nombre de larves, les 50 réplicats initialement prévus n'ont pas pu être traités simultanément à l'issue des huit jours d'expérimentations, et la mortalité a ainsi été comptabilisée au bout de 10 jours dans cinq des réplicats. Estimant que ce décalage de deux jours pouvait constituer un biais significatif compte tenu d'une durée d'exposition plus importante au produit Revive®, nous avons décidé de retirer ces réplicats pour nos analyses (Tableau II). Le niveau de variance de la durée constatée entre le comptage de la mortalité au bout de huit jours sur branche et la date de ponte initiale est ainsi resté très limité, de même que le niveau de variance du diamètre moyen des arbres dont les branches ont été utilisées dans les différentes conditions (Tableau I, Tableau II).

Tableau I : Description des échantillons et des branches de buis utilisés pour les cinq traitements comparés en conditions expérimentales (les valeurs de diamètre et de durée sont données en moyenne  $\pm$  écart-type).

Description of samples and box tree branches used for the five treatment conditions compared in the experiment (values for diameter and duration are given as mean  $\pm$  standard deviation).

Traitement	C	CW	R1	R2	R3	Total
<i>N répliqués</i>	10	10	10	10	10	50
<i>N total de larves comptées</i>	306	324	333	355	346	1664
<i>Diamètre des arbres à 30 cm de hauteur (cm)</i>	2.78 $\pm$ 0.40	2.84 $\pm$ 0.31	2.83 $\pm$ 0.22	3.03 $\pm$ 0.28	3.25 $\pm$ 0.39	2.95 $\pm$ 0.32
<i>Durée entre la ponte et le contrôle de la survie (j)</i>	9.90 $\pm$ 1.37	9.90 $\pm$ 1.52	9.40 $\pm$ 0.52	9.80 $\pm$ 1.32	10.50 $\pm$ 1.78	9.52 $\pm$ 1.30

Tableau II : Description des échantillons retenus pour l'analyse des données, correspondant aux répliqués dont la mortalité a pu être comptabilisée huit jours après le dépôt des œufs sur les branches de buis (les valeurs de diamètre et de durée sont données en moyenne  $\pm$  écart-type).

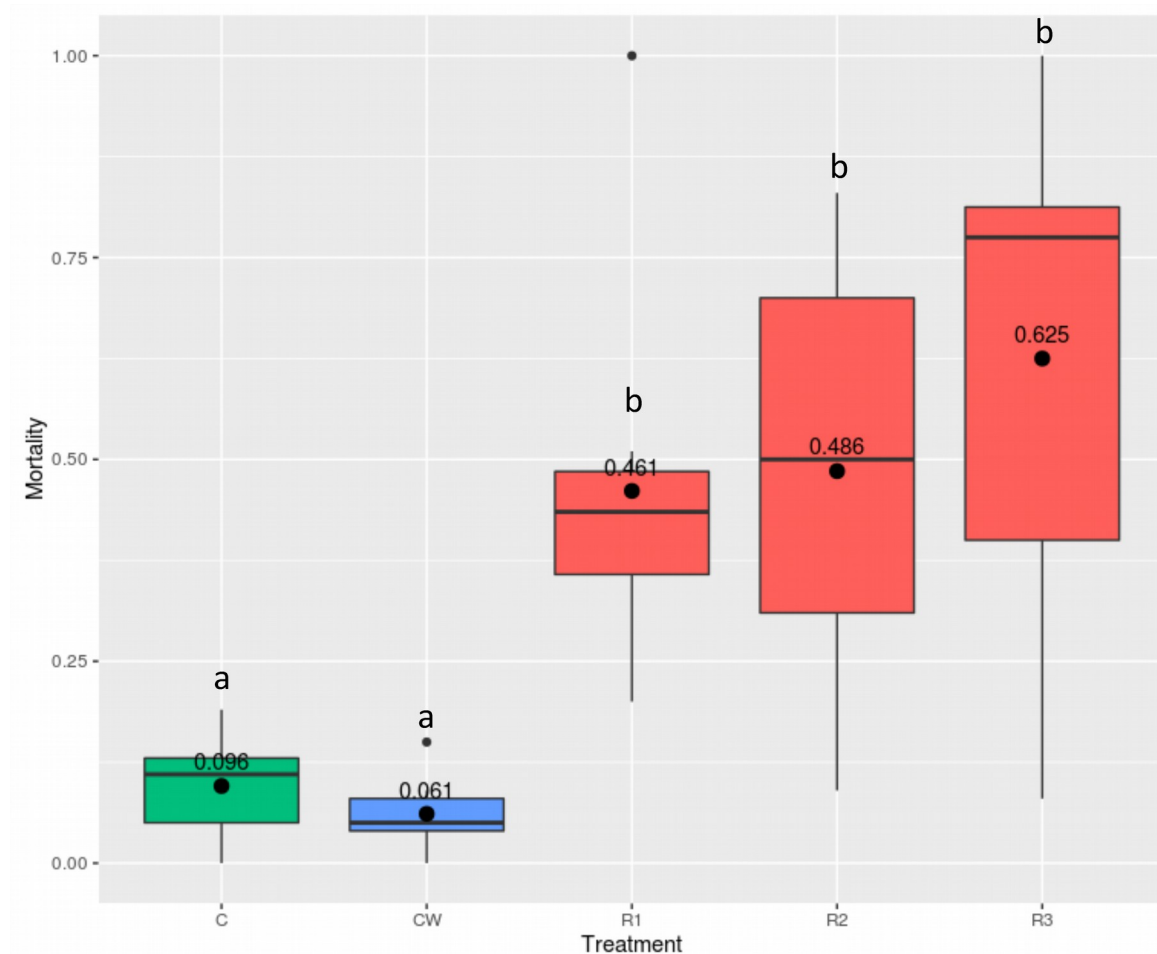
Description of the samples kept for data analyses, corresponding to replicates for which mortality could be measured eight days after eggs were positioned on box tree branches (values for diameter and duration are given as mean  $\pm$  standard deviation).

Traitement	C	CW	R1	R2	R3	Total
<i>N répliqués</i>	9	9	10	9	8	45
<i>N total de larves comptées</i>	282	293	333	316	271	1495
<i>Diamètre des arbres à 30 cm de hauteur (cm)</i>	2.83 $\pm$ 0.39	2.83 $\pm$ 0.33	2.83 $\pm$ 0.22	3.06 $\pm$ 0.29	3.21 $\pm$ 0.42	2.95 $\pm$ 0.33
<i>Durée entre la ponte et le contrôle de la survie (j)</i>	9.56 $\pm$ 0.88	9.44 $\pm$ 0.53	9.40 $\pm$ 0.52	9.44 $\pm$ 0.73	9.75 $\pm$ 0.89	9.51 $\pm$ 0.71

#### EFFET DU REVIVE® SUR LA MORTALITÉ DES JEUNES LARVES

Une analyse de déviance sur nos données indique un effet significatif du traitement sur la mortalité des jeunes chenilles 9 à 11 jours après la ponte (GLM pour données binomiales, Likelihood Ratio test,  $\text{Chi}^2 = 189.84$ , ddl = 4,  $p < 0.001$ ), à l'inverse du diamètre à 30 cm ( $\text{Chi}^2 = 0.01$ , ddl = 1,  $p = 0.93$ ) et de l'interaction entre les deux variables ( $\text{Chi}^2 = 9.14$ , ddl = 4,  $p = 0.06$ ). Les comparaisons deux à deux par test *post-hoc* de Tukey confirment des différences significatives au seuil  $\alpha = 0.05$  entre les situations contrôle (C et CW) et les traitements avec Revive® (R1, R2, R3), mais pas de différences au sein de ces deux groupes (Figure 1). On constate une augmentation de la variance dans les traitements correspondant aux plus forts volumes de Revive®.

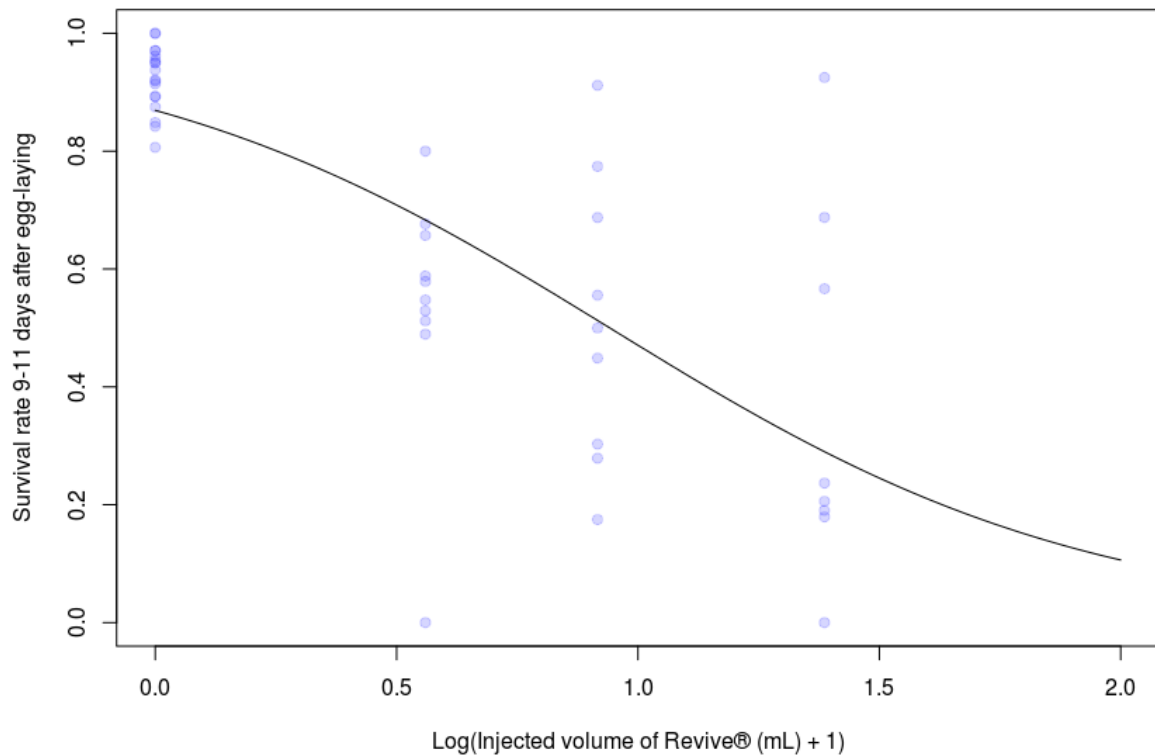
Figure 1 : Taux de mortalité (mesuré 9 à 11 jours après ponte) de chenilles de *C. perspectalis* sur des rameaux de buis issus d'arbres sans injection (C), avec injection d'1.5 mL d'eau (CW), 0.75 mL de Revive® (R1), 1.5 mL de Revive® (R2) ou 3.0 mL de Revive® (R3) ; les lettres différentes indiquent des différences significatives à  $\alpha = 0.05$  après test *post-hoc* de Tukey .  
Mortality rate (measured 9 to 11 days after egg laying) of larvae of *C. perspectalis* on branches sampled from box trees without injection (C), with injection of 1.5 mL of water (CW), 0.75 mL of Revive® (R1), 1.5 mL of Revive® (R2) or 3.0 mL of Revive® (R3); different letters indicate significant differences at  $\alpha = 0.05$  after Tukey *post-hoc* procedure.



Aucune mortalité significative des chenilles n'est observée entre les deux conditions contrôle C (pas d'injection sur l'arbre) et CW (injection d'1.5 mL d'eau). Pour cette raison, les cinq conditions de la variable factorielle « Traitement » peuvent être transposées en une variable quantitative correspondant au volume de Revive® injecté dans les arbres : 0, 0.75, 1.5 et 3 mL. Cette variable quantitative peut être utilisée dans un modèle de régression logistique visant à prédire, dans les conditions de l'expérimentation réalisée ici, la mortalité des chenilles de pyrale du buis en fonction de la dose de Revive® injectée dans les arbres dont les feuilles ont été consommées. L'ajustement du modèle de régression logistique le plus parcimonieux a confirmé les résultats précédents avec aucun effet significatif du diamètre de l'arbre ou de son interaction avec le volume de Revive® injecté. La Figure 2 illustre le modèle retenu, qui correspond au taux de survie en fonction du volume de Revive® injecté dans les arbres (après transformation log).

Figure 2 : Modèle de régression logistique du taux de survie (mesuré 9 à 11 jours après ponte, à 22°C) de chenilles de *C. perspectalis* sur des rameaux de buis en fonction du volume de Revive® injecté dans l'arbre ; les points correspondent aux observations tandis que la régression illustre la prédiction du modèle.

Logistic regression model of the survival rate (measured 9 to 11 days after egg laying, at 22°C) of larvae of *C.perspectalis* on box tree branches depending on the volume of Revive® in the tree; points correspond to observations while the regression illustrates the prediction of the model.



Sur la base de ce modèle de régression logistique et dans les conditions de l'expérimentation (diamètre des arbres, conditions de température, durée d'exposition des chenilles), les doses de Revive® conduisant à une mortalité de 50 % et de 90 % sont estimées respectivement à  $LD50 = 1.56 \pm 0.093$  mL et  $LD90 = 6.64 \pm 0.28$  mL.

#### TRAITEMENT PAR REVIVE® DE BUIS À GROS DIAMÈTRE

L'observation des dégâts de pyrale du buis ayant eu lieu durant l'été 2016 sur les buis ayant un diamètre d'environ 10cm traité au Revive® montre que cinq des arbres ont été défoliés au maximum à 75% (Tableau III). Uniquement les arbres non traités au Revive® présentent des défoliations supérieures à 90% (Figure3).

Tableau III : Classes de dégâts de pyrale du buis estimées en septembre sur les arbres de gros diamètres.

Damage rate of the box tree moth estimated in september on high diameter trees.

Traitement	Classes de dégâts					Total
	10%<D<25%	25%<D<50%	50%<D<75%	75%<D<90%	90%<D<100%	
C	0	0	0	0	2	2
R4	0	1	1	0	0	2
R5	0	0	1	1	0	2
R6	1	1	0	0	0	2

Figure 3 :

Photographie de buis de diamètres d'environ 10 cm traité (à droite, cercle



bleu) et non traité (à gauche, cercle rouge) sur un site naturellement infesté par la pyrale du buis.

Picture of 10 cm diameter box trees treated (left, blue circle) and not treated (right, red circle) on a place naturally colonized by the box tree moth.

## DISCUSSION

Notre étude préliminaire montre un effet significatif du Revive® sur la mortalité des jeunes larves de pyrale du buis pour les trois traitements, tandis que la mortalité est inférieure à 10% dans les deux conditions contrôle (Figure 1). En revanche, pour la courte durée d'exposition testée ici, nous n'observons pas de différences significatives de mortalité des chenilles entre les volumes injectés dans des arbres de taille similaire (Tableau II) malgré l'apparition d'une tendance forte (46.1%, 48.6% et 62.5% de mortalité) qui pourrait suggérer un effet dose. Nous ne pouvons pas exclure l'apparition de différences significatives entre les doses après un temps d'exposition plus long. L'observation de nombreuses chenilles peu actives n'ayant pas la même coloration que les chenilles sur arbres témoins, et que nous pourrions qualifier de moribondes, dans les traitements Revive® ont été comptabilisées comme vivantes et supporte cette hypothèse car il est probable que ces chenilles seraient mortes lors d'un comptage plus tardif comme ce qui a été observé par Cook et al (2013a) sur *Dyoryctria abietivorella* (Grote) sur douglas. Lorsque l'on intègre au jeu de données les cinq réplicats comptabilisés à 10 jours après l'installation des œufs (non pris en compte ci-dessus afin d'éliminer le biais éventuel), on observe en effet une tendance à l'augmentation de la mortalité dans les conditions R2 et R3 (57.8% et 68.9% respectivement). Lors d'une prochaine expérimentation, le suivi de la mortalité au cours du temps et dans les différentes conditions permettra de tester à la fois l'effet dose et sa cinétique.

La forte variance de la mortalité observée pour chacun des trois traitements Revive®, avec une nette augmentation du volume R1 à R3, peut contribuer à l'absence de différences significatives. À ce stade, il est difficile de définir la cause de cette variance accrue mais plusieurs hypothèses peuvent être avancées. D'une part, le temps d'exposition effectif des chenilles au produit n'est pas directement mesuré et pourrait varier entre réplicats. En effet, les œufs ont été installés deux à quatre jours après la ponte, ce qui, à temps de développement embryonnaire fixe dans nos conditions d'élevage à 22°C, peut influencer d'autant la durée d'exposition des chenilles. Par ailleurs, le temps embryonnaire constaté dans ces conditions est d'environ quatre jours mais la variance autour de cette durée n'a pas été mesurée à ce jour. Cependant, compte tenu de la randomisation des réplicats dans les conditions expérimentales, on s'attend à une distribution aléatoire du biais de durée d'exposition dans les différentes modalités. D'autre part, la diffusion du produit dans l'arbre à partir de seulement un ou deux points d'injection est inconnue et pourrait être hétérogène. Il est donc difficile d'exclure l'hypothèse de branches plus ou moins concentrées en produit Revive au sein

d'un même arbre et donc au sein des répliqués. En outre, nos tests d'alimentation ont en effet été réalisés peu de temps après l'injection et il est connu que le passage du produit dans les différents tissus cellulaires de l'arbre peut prendre du temps (Cook et al, 2013a), d'autant plus que le buis est un arbuste très ramifié. Bien que l'échantillonnage des branches ait été réalisé de manière à prendre en compte ce biais éventuel (rameaux constitués de branches prélevées à différentes hauteurs), la capacité des larves à sélectionner les feuilles et à se déplacer entre branches reste également à tester, d'autant que leur activité locomotrice est réputée importante. Afin d'explorer cette piste, nous avons collecté des échantillons de feuilles à différentes hauteurs et orientations en vue de doser le produit et d'évaluer sa répartition dans chaque arbre de l'expérimentation.

Les résultats de l'approche exploratoire menée sur un petit échantillon d'arbres de gros diamètre (entre 8.5 et 10.3 cm) sont congruents avec ceux de l'expérimentation sur les buis de petits diamètres puisque seuls les grands arbres non-traités ont été totalement défoliés (observation réalisée cinq mois après les injections ; Figure 3, Tableau III). Par ailleurs, à cette date, tous les arbres ont survécu aux injections, que ce soient les arbres de petit ou de gros diamètre malgré des conditions d'injection différentes (maximum deux trous d'injection dans le tronc pour les petits diamètres, contre quatre trous répartis sur le pourtour des troncs de gros diamètre). Cette observation devra être confirmée avec un suivi à plus long terme sur un échantillon de plus grande taille.

## **CONCLUSION**

L'expérimentation réalisée sur les arbres de petit diamètre, comme les toutes premières observations sur des arbres de gros diamètre, montrent une efficacité du Revive® contre les chenilles de pyrale du buis, mais les perspectives opérationnelles ouvertes par ces résultats nécessitent au préalable de lever plusieurs inconnues. D'abord, il s'agira de poursuivre les expérimentations de mortalité (notamment suivi dans le temps à différentes doses et pour des arbres de différents diamètres) qui pourront servir de base pour définir la dose efficace en fonction de la proportion de chenilles tuées et de la vitesse d'action recherchées. Ensuite, il sera nécessaire de caractériser la vitesse et l'homogénéité de la diffusion du produit dans l'arbre en fonction de sa taille et du protocole d'injection. Enfin, il restera à évaluer la rémanence du produit dans l'arbre à une concentration assurant le niveau d'efficacité recherché. Elle conditionnera la fréquence des injections nécessaire à une efficacité optimale contre la pyrale du buis, qui pourrait également influencer la survie de l'arbre. De plus, cette donnée est indispensable à l'évaluation des effets non intentionnels sur la faune non cible. Le buis étant peu consommé par des insectes natifs (Jones 2014), des effets non intentionnels pourraient être envisagés à travers la présence éventuelle de résidus dans le pollen et/ou dans le feuillage taillé ou tombé au sol.

## **REMERCIEMENTS**

Ce travail a bénéficié du soutien financier de la région Centre Val de Loire (projet INCA). Les auteurs tiennent à remercier chaleureusement Jean-Luc et Véronique Moreau, propriétaires du « Petit Bois », pour avoir mis à disposition les buis nécessaires à cette expérimentation et donné accès à leur terrain. Les auteurs sont également très reconnaissants à Michèle Quentin (Association des Parcs et Jardins de la Région Centre Val de Loire), membre du comité de pilotage du projet INCA, pour les avoir mis en relation avec M. & Mme Moreau. Nous remercions vivement la société Syngenta, et en particulier Paule Bourdrez, Peter Wyss, et Othmar Ruesch, pour leur contribution à ce travail, et en particulier pour la réalisation des injections de Revive. Les auteurs tiennent également à exprimer tous leurs remerciements à Charlotte Mathieu, Etienne Rozenberg et Alexis Bernard pour leur contribution à la réalisation des expérimentations, à Vincent Lejeune et Patrick Poursat (INRA GBFOR) pour leur soutien logistique, et aux membres du comité de pilotage du projet INCA, Maxime Guérin (Plante & Cité), Jean-Marc Delacour (CDHRC), Michèle Quentin (APJRC), Cyril Kruczkowski (FREDON Centre), Marc Kenis (CABI Suisse) pour les échanges fructueux que nous avons pu avoir autour de

cette question. Néanmoins, les auteurs rappellent que le contenu de cette publication n'engage que leur responsabilité et ne reflète pas nécessairement les opinions et la politique des personnes physiques ou morales ayant financièrement soutenu ou contribué à cette étude.

## BIBLIOGRAPHIE

- Astredhor, Plante&Cité. (2015). Synthèse 2014, Programme SaveBuxus, Volet pyrale du buis. (Visite 24.06.2016) [http://www.valhor.fr/fileadmin/A-Valhor/Valhor\\_PDF/Innovation\\_PC\\_SynthesePyrale\\_Savebuxus2015.pdf](http://www.valhor.fr/fileadmin/A-Valhor/Valhor_PDF/Innovation_PC_SynthesePyrale_Savebuxus2015.pdf)
- Bourdrez P., Delgado R., Wyss P. (2014). Micro-injection sur pin, palmier, chêne et marronnier. *Phytoma*, n° 678, 2-6.
- Bras A., Courtin C., Kenis M., Bernard A., Roques A., Rousselet J., Auger-Rozenberg M.-A. (2016). L'invasion fulgurante de la pyrale du buis en France et en Europe : diversité génétique et approche phylogéographique. Actes de la 4ème Conférence AFPP sur l'entretien des Jardins, Espaces Végétalisés et Infrastructures, Toulouse, 19-20 octobre 2016.
- Brua C. (2013). La pyrale du buis, *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859), espèce exotique envahissante, caractéristique de sa dynamique d'expansion en France et en Europe, des dégâts occasionnés sur les buis (*Buxus spp*) et des stratégies de lutte. Actes de la Conférence sur l'Entretien des Espaces Verts, Jardins, Gazons, Forêts, Zones Aquatiques et Autre Zones non Agricoles, Toulouse, 15-17 octobre 2013.
- Cartier A., Cornillon M. (2016). Quatre produits de biocontrôle testés contre la pyrale du buis. *Phytoma*, 695, 14-17
- Cook S.P., Sloniker B.D., Rust M.L. (2013a). Efficacy of two bole-injected systemic insecticides for protecting Douglas-Fir from damage by Douglas-Fir tussock moth and fir coneworm. *Western Journal of Applied Forestry*, 28, 4, 166-69.
- Cook S.P., Sloniker B.D., Rust M.L. (2013b). Using Systemically Applied Insecticides for Management of Ponderosa Pine Cone Beetle and *Dioryctria* Coneworms in Seed Orchards. *Western Journal of Applied Forestry*, 28, 2, 69-70.
- Doccola J.J., Wild P.M. (2012). Chapter 4. Tree injection as an alternative method of insecticide application, in *insecticides - basic and other applications, Rijeka (Croatie), InTech, 1<sup>e</sup> éd., 61-78 p.*
- Enriquez T., Giorgi C., Venard M., Colombel E., Gaglio F., Buradino M., Martin J. C., Tabone E. (2015). Des souches de trichogrammes contre la pyrale du buis. *Phytoma*, 685, 21-24
- Fettig C.J., Munson A.S., Grosman D.M., Bush P.B. (2013). Evaluations of emamectin benzoate and propiconazole for protecting individual *Pinus contorta* from mortality attributed to colonization by *Dendroctonus ponderosae* and associated fungi: bole injection protects *Pinus contorta* from *Dendroctonus ponderosae*. *Pest Management Science*, 70, 5, 771-78.
- Fidgen J.G., Kittelson N.T., Eckberg T. Doccola J., Randall C. (2013). Emamectin benzoate reduces defoliation by *Choristoneura occidentalis* Freeman (Lepidoptera: Tortricidae) on three host species. *Western Journal of Applied Forestry*, 28, 4, 170-173.
- Guérin M., Tabone E, Martin J.-C., Lacordaire A.-I., Gutleben C., Robert F. (2016). Pyrale du buis : vers une stratégie de gestion durable. *Phytoma*, 697, 26-30.
- Jones M. (2014). *Buis et autres topiaires: soins, taille et utilisations*. Ulmer. Les Essentiels. Paris: E. Ulmer.
- Kenis M., Nacambo S., Leuthardt F., Domenico F.D., Hays T. (2013). The box tree moth *Cydalima perspectalis*, in Europe : horticultural pest or environmental disaster ? *Aliens*, 33, 38-41.
- Krüger E.O. (2008). *Glyphodes perspectalis* (Walker, 1859) - new for the European fauna (Lepidoptera:Crambidae). *Entomologische Zeitschrift mit Insekten-Börse*, 118, 2, 81-83.
- Martin J.-C., Brinquin A.-S., Morel E., Tabone É., Guérin M. (2015). Vers un outil de biocontrôle innovant et performant contre la pyrale du buis : un nouveau modèle de piège et un diffuseur de phéromone en développement ont été testés. *Phytoma*, 680, 41-44.

- Martin J.C., Brinquin A.-S., Bailly C., Corréard M., Buradino M., Thévenet J., Morel E. (2016). Nouvelles phéromones contre trois ravageurs en forêt et jardins. *Phytoma*, 692, 46-50.
- Nacambo, S., Leuthardt F.L.G., Wan H., Li H., Haye T., Baur B., Weiss R.M., Kenis M. (2014). Development characteristics of the box-tree moth *Cydalima perspectalis* and its potential distribution in Europe. *Journal of Applied Entomology*, 138, 1-2, 14–26.
- R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Roques A., Auger-Rozenberg M.-A., Blackburn T.M. et al. (2016). Temporal and interspecific variation in rates of spread for insect species invading Europe during the last 200 years. *Biological Invasions*, 18, 4.
- Rose J., Kleespies R.G., Wang Y., Wennmann J.T., Jehle J.A. (2013). On the susceptibility of the box tree moth *Cydalima perspectalis* to *Anagrapha falcifera* nucleopolyhedrovirus (AnfaNPV). *Journal of Invertebrate Pathology*, 113, 3, 191–97.
- Van der Straten M.J., Muus T. (2010). The box tree pyralid, *Glyphodes perspectalis* (Lepidoptera: Crambidae), an invasive alien moth ruining box trees. *Proceedings of the Netherlands Entomological Society Meeting*, 21, 107–11.
- Venard M., Enriquez T., Colombel E.-A., Tabone E. (2016). Etude de la génération fille des parasitoïdes (F1) dans la mise en place d'un programme de lutte biologique contre la pyrale du buis, *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) (Lepidoptera : Crambidae). *Actes de la 4<sup>ème</sup> Conférence AFPP sur l'entretien des Jardins, Espaces Végétalisés et Infrastructures*, Toulouse, 19-20 octobre 2016.