



**HAL**  
open science

# Demandes d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de *Cotesia typhae* (Hymenoptera, Braconidae) non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique

Taiadjana M Fortuna, Melissa Anne, Manuel Le Gonnidec, Claire Capdevielle-Dulac, Rémi Jeannette, Florence Mougel, Laure Kaiser

## ► To cite this version:

Taiadjana M Fortuna, Melissa Anne, Manuel Le Gonnidec, Claire Capdevielle-Dulac, Rémi Jeannette, et al.. Demandes d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de *Cotesia typhae* (Hymenoptera, Braconidae) non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique. CNRS - Centre National de la Recherche Scientifique. 2023. hal-04109322

**HAL Id: hal-04109322**

<https://cnrs.hal.science/hal-04109322v1>

Submitted on 30 May 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Décrets, arrêtés, circulaires

## TEXTES GÉNÉRAUX

### MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT

**Arrêté du 28 juin 2012 relatif aux demandes d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique**

NOR : AGRG1225395A

**Publics concernés :** responsables de l'entrée sur le territoire ou de l'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique.

**Objet :** demandes d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utilisés notamment dans le cadre de la lutte biologique.

**Entrée en vigueur :** le texte entre en vigueur le 1<sup>er</sup> juillet 2012.

**Notice :** l'arrêté précise les différents éléments qui doivent composer les dossiers de demande d'autorisation d'entrée sur le territoire ou d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux ainsi que les modalités de présentation de ces dossiers.

**Références :** le présent arrêté est pris pour l'application de l'article R. 258-3 du code rural et de la pêche maritime.

La ministre de l'écologie, du développement durable et de l'énergie et le ministre de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt,

Vu la Convention internationale pour la protection des végétaux, signée par la France le 6 décembre 1951, telle qu'elle résulte des amendements adoptés à Rome par la 29<sup>e</sup> session de la Conférence des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture le 17 novembre 1997 ;

Vu la directive 2000/29/CE du Conseil 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 ;

Vu la directive 2008/61/CE de la Commission du 17 juin 2008 fixant les conditions dans lesquelles certains organismes nuisibles, végétaux, produits végétaux et autres objets énumérés aux annexes I à V de la directive 2000/29/CE du Conseil peuvent être introduits ou circuler dans la Communauté ou dans certaines zones protégées de la Communauté pour des travaux à des fins d'essai ou à des fins scientifiques ou pour des travaux sur les sélections variétales ;

Vu le code de l'environnement, notamment ses articles L. 120-1, L. 411-3 et R. 411-36 ;

Vu le code rural et de la pêche maritime, notamment ses articles R. 258-3 et R. 258-7,

Arrêtent :

**Art. 1<sup>er</sup>.** – Le dossier de demande d'autorisation pour l'entrée sur le territoire ou l'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique, mentionné au I de l'article R. 258-3 du code rural et de la pêche maritime comprend :

1<sup>o</sup> Un formulaire relatif aux informations sur le demandeur établi conformément à l'annexe I du présent arrêté, au moyen du formulaire CERFA disponible sur le site internet du ministère chargé de l'agriculture ; 2<sup>o</sup> Un dossier technique relatif au macro-organisme et à ses conditions de détention et d'élevage établi conformément à l'annexe II du présent arrêté.

**Art. 2.** – Toute modification observée ou volontaire des éléments de la demande initiale (par exemple modification génotypique ou phénotypique, conditions d'élevage, sélection de souches par élevage ou introduction de nouvelles souches) est notifiée aux ministères chargés de l'agriculture et de l'environnement et à l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail dans les plus brefs délais.

De même, tout changement de nom de l'organisme responsable de la demande d'autorisation ou détenteur de l'autorisation ou tout abandon de la demande d'autorisation, des travaux (notamment lors de la cession de

matériel vivant à une autre structure) ou de l'exploitation commerciale du macro-organisme est notifié aux ministères chargés de l'agriculture et de l'environnement et à l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation.

**Art. 3.** – Lorsque la demande concerne un macro-organisme qui a déjà fait l'objet d'une évaluation officielle du risque phytosanitaire et environnemental dans un Etat dont les conditions agricoles, phytosanitaires, environnementales, notamment en termes de climat et de biodiversité, sont comparables au territoire pour lequel la demande est effectuée, les éléments de cette évaluation sont joints au dossier de demande.

Le dossier est rempli en faisant référence à cette évaluation pour les items où cela est pertinent.

**Art. 4.** – Afin de garantir l'identification taxonomique du macro-organisme concerné, toute demande d'autorisation fait l'objet, en complément des données fournies dans la partie I du dossier détaillé en annexe II du présent arrêté, d'un dépôt d'individus de référence auprès du centre de biologie et de gestion des populations (CBGP).

**Art. 5.** – Dans le cas d'une demande d'introduction dans l'environnement, un dossier spécifique est rempli pour chaque territoire envisagé d'introduction et pour chaque macro-organisme concerné défini au niveau de son espèce et de son territoire d'origine. Dans le cas d'un macro-organisme destiné à être commercialisé, le dossier est rempli également pour une référence commerciale donnée.

Dans le cas d'une demande d'entrée sur le territoire en milieu confiné sans introduction dans l'environnement, la demande peut porter sur une catégorie de macro-organismes, pour un niveau de confinement donné.

**Art. 6.** – Les informations suivantes fournies dans le cadre d'un dossier de demande d'autorisation sont considérées comme confidentielles et ne sont donc pas rendues publiques :

- origine de la source d'élevage ;
- conditionnement du macro-organisme ainsi que proies et support présents dans le conditionnement, le cas échéant ;
- cultures et cibles faisant l'objet des essais mentionnés dans le dossier de demande ;
- bibliographie détaillée ;

Par ailleurs, le demandeur peut adresser à l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, sous pli séparé, d'autres informations dont la diffusion lui apparaîtrait de nature à porter atteinte au secret en matière commerciale et industrielle et qu'il ne souhaite pas rendre publiques.

**Art. 7.** – Le présent arrêté entrera en vigueur le 1<sup>er</sup> juillet 2012.

**Art. 8.** – Le directeur général de l'alimentation et la directrice de l'eau et de la biodiversité sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait le 28 juin 2012.

*Le ministre de l'agriculture,  
de l'agroalimentaire et de la forêt,  
Pour le ministre et par délégation : Le  
directeur général  
de l'alimentation,  
P. DEHAUMONT*

*La ministre de l'écologie,  
du développement durable  
et de l'énergie,*

Pour la ministre et par délégation :

*La directrice de l'eau  
et de la biodiversité,*

O. GAUTHIER

*ANNEXES***ANNEXE I**

## ÉLÉMENTS DU FORMULAIRE

## 1. Identification du demandeur.

Nom de la société ou de l'organisme.

Nom du responsable du dossier, légalement autorisé par la société ou l'organisme à faire cette demande. Adresse complète, téléphone, fax, courriel.

Numéro SIRET.

Personne contact (nom, position, coordonnées).

## 2. Identification de la demande.

2.1. Première demande ou renouvellement.

2.2. Informations sur la demande d'autorisation, et notamment type d'autorisation demandée :

Entrée sur le territoire en milieu confiné (à des fins scientifiques ou de production).

Introduction dans l'environnement (à des fins d'expérimentation, commerciales...).

3. Identité du ou des macro-organismes et, le cas échéant, du produit commercial.

4. Objectifs de la demande.

Description synthétique sommaire des travaux en milieu confiné ou du programme d'introduction dans l'environnement.

Autorisations d'entrée sur un territoire ou d'introduction dans l'environnement obtenues à l'étranger.

Autorisations d'entrée sur un territoire ou d'introduction dans l'environnement déjà obtenues des autorités françaises.

## ANNEXE II

### ÉLÉMENTS DU DOSSIER TECHNIQUE

Le dossier technique comprend trois parties :

La **partie 1** détaille toutes les informations nécessaires pour connaître les caractéristiques de l'organisme et du produit commercial, le cas échéant. Cette partie est obligatoire pour toute demande d'autorisation pour l'entrée sur le territoire et l'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux (sauf cas particulier de la collecte, voir la consigne 2 ci-dessous) ;

La **partie 2** concerne l'entrée sur le territoire en milieu confiné à des fins de recherche ou de production. Il s'agit d'indiquer toutes les informations permettant à l'agence chargée de l'évaluation des dossiers de juger du risque d'échappement des macro-organismes ainsi que de l'efficacité des mesures prises par le demandeur pour réduire ce risque à un niveau acceptable. Les points 2.1 à 2.7 du dossier ont donc pour objectif de définir les éléments permettant de mettre en place un niveau de confinement adapté aux macro-organismes qui font l'objet de la demande d'entrée sur le territoire ;

La **partie 3** concerne l'introduction dans l'environnement à des fins expérimentales ou commerciales. Elle ne peut porter que sur un seul macro-organisme, défini au niveau de son espèce et de son territoire d'origine. Il s'agit d'indiquer toutes les informations permettant à l'agence chargée de l'évaluation des dossiers d'estimer le risque phytosanitaire et environnemental lié à l'introduction dans l'environnement du macro-organisme.

Les consignes suivantes pour l'élaboration des dossiers doivent être respectées :

1° Lorsque la demande concerne l'entrée de macro-organismes sur le territoire, sans introduction dans l'environnement, dans le cadre de travaux réalisés en milieu confiné à des fins scientifiques ou de production, les parties 1 et 2 du dossier devront être remplies ;

2° Dans le cadre de travaux réalisés à des fins scientifiques où le demandeur réalise une collecte de macro-organismes dans l'aire d'origine d'un ravageur, macro-organismes pour lesquels l'identification taxonomique est réduite à l'ordre ou à la famille au moment de la demande, la partie 1 ne pourra pas être renseignée en totalité et seuls les points 1.4 sur la collecte et 1.6 sur l'organisme cible seront exigés. Le demandeur devra donc apporter une attention particulière à la partie 2 du dossier concernant les modalités de confinement ;

3° Lorsque la demande concerne l'introduction dans l'environnement à des fins expérimentales ou commerciales, les parties 1 et 3 du dossier devront être remplies ;

4° Lorsque le demandeur n'est pas en mesure de remplir certains items (indisponibilité de l'information due à l'absence de travaux ou de résultat d'essai), la mention « information non disponible » devra être indiquée pour ces items.

PREMIÈRE PARTIE  
LE MACRO-ORGANISME

La partie 1 doit être remplie pour toute demande d'autorisation pour l'entrée sur le territoire et l'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux. La demande d'autorisation pour l'entrée sur le territoire peut porter sur une catégorie de macro-organismes, conformément à l'article 5 de l'arrêté alors que la demande d'introduction dans l'environnement à des fins expérimentales ou commerciales ne peut porter que sur un seul macro-organisme, défini au niveau de son espèce et de son territoire d'origine.

Ces informations doivent, si possible, être accompagnées de documents complémentaires ou références bibliographiques (description détaillée de la méthode de confirmation, références pour la caractérisation moléculaire).

<b>Sommaire :</b>	<b>pages</b>
<b>PREMIÈRE PARTIE :</b>	
<b>1.1. Taxonomie du macro-organisme.....</b>	<b>6</b>
<b>1.2. Description du macro-organisme.....</b>	<b>6</b>
<b>1.3. Informations générales sur la biologie et l'écologie du macro-organisme.....</b>	<b>6</b>
<i>1.3.1. Gamme d'hôtes.....</i>	<i>6</i>
<i>1.3.2. Biologie.....</i>	<i>6</i>
<i>1.3.3. Plages thermiques.....</i>	<i>7</i>
<i>1.3.4. Informations sur le cycle de vie et potentiel reproducteur.....</i>	<i>7</i>
<i>1.3.5. Dispersion.....</i>	<i>8</i>
<i>1.3.6. Facteurs de limitation populationne.....</i>	<i>8</i>
<b>1.4. Origine et répartition du macro-organisme.....</b>	<b>8</b>
<b>1.5. Informations sur l'utilisation du macro-organisme.....</b>	<b>8</b>
<b>1.6. Informations sur l'organisme cible (ravageur et plantes) .....</b>	<b>9</b>

### 1.1. Taxonomie du macro-organisme

Cette demande d'autorisation pour l'entrée sur le territoire porte sur le macro-organisme suivant :

*Cotesia typhae* Fernandez-Triana (Hymenoptera, Braconidae, Microgasterinae), espèce du complexe *flavipes*

*Cotesia typhae* est une espèce nouvellement décrite par le laboratoire d'Évolution Génomes Comportement et Écologie (EGCE - UMR CNRS, IRD et Université Paris Saclay) en 2017 auparavant considéré comme une population de l'espèce *Cotesia sesamiae*.

- Identification taxonomique : Kaiser et al. 2017<sup>1</sup>
- Identification moléculaire : Kaiser et al. 2015<sup>2</sup>, 2017<sup>1</sup>
- Organismes ayant réalisé/confirmé l'identification taxonomique : Canadian National Collection of Insects, Arachnids and Nematodes (CNC), 960 Carling Ave, K1A 0C6, Ottawa, Canada
- Méthode de confirmation : génotypage par PCR des marqueurs CO1 et CrV1 (Kaiser et al., 2017<sup>1</sup>).
- Localisation d'échantillons représentatifs de référence :
  - Voucher specimen: CNC
  - Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (CBGP), Campus International de Baillarguet, 755 avenue du campus Agropolis – CS30016, 34988 Montferrier-sur-Lez
  - Échantillons d'ADN : UMR EGCE

### 1.2. Description du macro-organisme

Les Braconidae présentent un stade adulte à vie autonome, et 3 stades larvaires parasites obligatoires. La détermination se fait au stade adulte. Une clé de détermination du genre *Cotesia* (anciennement *Apanteles*) est donnée par Nixon, 1965<sup>3</sup> Mason, 1981<sup>4</sup> et Sigwalt & Pointel 1980<sup>5</sup>. *C. typhae* fait partie d'un complexe d'espèces sœurs morphologiquement et biologiquement très proches, le complexe *flavipes* ; elle vit en Afrique sub-saharienne. Les marqueurs CrV1 (polydnavirus) et CO1 (cytochrome oxydase mitochondriale) permettent de différencier les espèces du complexe *flavipes*<sup>1,3-5</sup> par analyse biomoléculaire. Chez l'adulte, la longueur du corps, sans les antennes, varie entre 2,20 et 2,50 mm avec une moyenne de 2,40 mm, et le diamètre du corps est de l'ordre de 0,45-0,50 mm<sup>1</sup>.

### 1.3. Informations générales sur la biologie et l'écologie du macro-organisme

Les espèces du complexe *flavipes* (*C. flavipes*, *C. chilonis*, *C. nonagriæ*, *C. sesamiae*, *C. testacea* et *C. typhae*) parasitent les chenilles de Noctuidae et de Crambidae (Lépidoptères) foreuses de tiges de plantes monocotylédones appartenant aux familles des Poaceae, Cyperaceae et Typhaceae, en régions tropicales voire subtropicales.

#### 1.3.1. Gamme d'hôtes

*C. typhae* n'est trouvée que sur *Sesamia nonagrioides* (Noctuidae ; noms vernaculaires : nonagrie bétique ; sésamie du maïs ; Mediterranean corn borer), et principalement sur la massette, *Typha domingensis*, donc en milieu humide<sup>2</sup>, quand bien même d'autres espèces de plantes et de chenilles hôtes pour *C. sesamiae* se développent en syntonie<sup>2</sup>. Son développement sur d'autres espèces n'a été étudié au laboratoire que sur deux noctuelles africaines, *Sesamia calamistis*, qui permet le développement du parasite, et *Busseola fusca*, qui ne le permet pas<sup>2</sup>.

#### 1.3.2. Biologie

*C. typhae*, décrite seulement en 2017<sup>1</sup>, était considérée auparavant comme une population de *Cotesia sesamiae*. La



principale différence avec *C. sesamiae* est l'espèce de chenille hôte<sup>2</sup>; les autres différences, subtiles, sont morphologiques et génétiques<sup>1</sup>. Ainsi, hormis ces différences, les données obtenues antérieurement sur *C. sesamiae* sont applicables à *C. typhae*. Au sein du complexe d'espèce sœurs *flavipes*, la biologie a été décrite précisément en conditions de laboratoire pour l'espèce *C. flavipes* ; plusieurs études confirment des éléments de cette biologie pour *C. sesamiae*, et un plus petit nombre pour *C. chilonis* et *C. typhae*. Les valeurs de développement et de survie à différentes températures de *C. typhae* sont présentées dans la partie III. Elles sont cohérentes avec les données obtenues sur ses espèces sœurs, car toutes sont des espèces tropicales donc adaptées aux mêmes régimes thermiques. Il en va de même pour les capacités de dispersion, assurées par le stade adulte, puisque les espèces du complexe *flavipes* ont des plages de tailles adultes se recouvrant largement<sup>1</sup> et des durées de vie de quelques jours (voir plus loin section 1.3.3).

### 1.3.3. Plages thermiques

La sensibilité à des températures froides ou fraîches est présentée dans la partie III.

La sensibilité de *C. typhae* à des températures élevées n'a été étudiée que sur la spermatogénèse, significativement réduite à 34°C. 36°C induit une importante mortalité nymphale (Bressac et al 2023 en révision<sup>6</sup>). Chez les espèces sœurs, l'activité locomotrice des adultes s'arrête au-delà de 35°C (*C. flavipes*)<sup>7</sup>. Chez *C. sesamiae*, la mortalité adulte est induite à partir de 36°C pendant 2h et atteint 100% à 39°C<sup>8</sup>. Le seuil haut de létalité au stade embryonnaire est situé entre 32 et 35°C (Khadioli & Le Ru, non publié).

En laboratoire la combinaison de température et d'humidité relative optimale à la longévité et à la fécondité est de 25-28°C et 60-70% RH (*C. flavipes*)<sup>7</sup>. Dans cette plage d'humidité, la longévité maximale des adultes est de 10 jours à 10°C, 6 jours à 22°C et 3 jours à 31°C, avec apport de sucres. A 22°C ces données sont confirmées pour *C. typhae*, avec une longévité maximale de 6 jours, et une longévité médiane de 3j, évaluée sur des groupes de plusieurs dizaines d'individus en cagette de 1/2L, avec apport d'une solution de miel<sup>1</sup>. La longévité est doublée en conditions individuelle (partie III, section 3.1.2.4). Sans ces conditions d'humidité et de nourriture, la longévité est de 1 à 2 jours pour les espèces du complexe *flavipes*<sup>1</sup>. Dans ce dernier, le cycle de développement dure 3 semaines à 25°C, ce qui donne potentiellement 17 générations annuelles. Selon Emanu et al. (2007)<sup>7</sup>, les conditions environnementales permettant l'utilisation de *C. flavipes* comme agent de lutte biologique correspondraient à une moyenne journalière comprise entre 20-30°C et 40-90% RH. Les essais réalisés sous serre avec *C. typhae*<sup>9</sup> n'indiquent pas de différence d'efficacité entre les plages journalières de 15-20°C et de 20-25°C (partie III, section 3.8.2).

### 1.3.4. Informations sur le cycle de vie et potentiel reproducteur

L'accouplement a lieu dès l'émergence des adultes et normalement entre frères et sœurs. Chez *C. flavipes* et *C. sesamiae*, les femelles sont attirées par l'odeur des plantes attaquées par leurs chenilles hôtes. Elles localisent l'entrée des galeries par la perception des déjections larvaires et y pénètrent<sup>10-13</sup>. Ces informations sont confirmées chez *C. typhae* (T. M. Fortuna et al en préparation). Le comportement de défense des chenilles entraîne la mort de la femelle parasite dans 30 à 50% des cas selon l'espèce de chenille, et la moitié des survivantes réussissent à parasiter la chenille<sup>14</sup>. Les espèces du complexe *flavipes* sont dites pro-ovogéniques, c'est-à-dire que les femelles disposent d'un stock d'ovocytes matures non renouvelé au cours de la vie, environ 150 œufs, pondus par groupe (espèce grégaire). En condition de laboratoire les femelles de *C. typhae* ont une fécondité potentielle de 200 ovocytes, parasitent en moyenne 2 chenilles, et ont une fécondité réalisée d'une centaine de descendants<sup>15</sup>. Comme chez de nombreux Hyménoptères, les œufs non fécondés donnent des mâles (parthénogenèse arrhénotoque), et le sexe-ratio d'une descendance est très variable, avec une moyenne de 70 à 80% de femelles chez *C. typhae*<sup>15</sup>.

De nombreuses espèces de chenilles présentent une réaction immunitaire aux œufs parasites. Leurs insectes parasitoïdes ont développé des mécanismes de suppression de cette réaction, grâce à la composition protéique de leur venin et à la présence de virus symbiontes dont le génome est intégré à celui des *Cotesia*. La co-évolution entre résistance de l'hôte et virulence du parasite explique la spécificité des espèces du complexe *flavipes* envers leurs



hôtes (gamme d'hôtes : voir partie III, section 3.7.1).

Dans le cas d'un hôte adéquate, le succès parasitaire augmente avec le stade larvaire attaqué<sup>16</sup>, jusqu'au stade pré-nymphé, où la chenille cesse de s'alimenter et devient impropre au développement du parasite (L. Kaiser, comm. pers.).

Dans le milieu naturel sauvage et dans le milieu cultivé, on dispose de données en particulier pour les populations de *C. sesamiae* (endémique) et de *C. flavipes* (introduite) au Kenya<sup>17</sup>. Ces insectes arrivent à passer la saison sèche en se développant sur les rares chenilles encore en activité dans de petites parcelles irriguées ou dans des micro-zones restant humides. Des cas de développement sur chenilles diapausantes ont été observés en sortie de saison sèche (P.-A. Calatayud, comm. pers.). La capacité des larves parasitoïdes à entrer en arrêt de développement avec leur larve hôte est limitée chez *C. typhae* (partie III, section 3.1.2.1) car le seuil de développement est proche du seuil de mortalité ; elle serait à vérifier chez les autres espèces du complexe *flavipes*.

#### 1.3.5. Dispersion

Les capacités de dispersion de *C. typhae* sont présentées dans la partie III, section 3.2.

#### 1.3.6. Facteurs de limitation populationnel

Les principaux facteurs de limitation des populations des espèces du complexe *flavipes* sont le climat, compte tenu de sa répartition tropicale, et les capacités de défense de l'hôte (confinement à l'intérieur des tiges, défenses comportementales et physiologiques). Les stades larvaires endoparasites sont également limités par les facteurs de mortalité des chenilles hôtes (pathogènes, prédateurs et parasites), qui ont été inventoriés pour *S. nonagrioides* par quelques études en Europe<sup>18-20</sup>; les cocons se forment le plus souvent à l'intérieur des galeries végétales, ce qui limite leur exposition aux prédateurs et parasites. Toutefois des hyperparasites sont parfois observés (B. Le Rü, comm. pers.). Les chenilles et les cocons sont les proies des fourmis et forficules (B. Le Rü, comm. pers.). Voir la partie III section 3.6.7 pour plus d'informations.

### 1.4. Origine et répartition du macro-organisme

Les quatre premières espèces initialement décrites dans le complexe *flavipes* sont originaires de continents distincts et se seraient donc formées par isolement géographique (*C. flavipes* : sous-continent indien ; *C. chilonis* : Chine et Japon ; *C. sesamiae* : Afrique sub-saharienne ; *C. nonagriae* : Australie). *C. sesamiae* est présente dans la plupart des pays de l'Afrique sub-saharienne, jusqu'en Afrique du Sud. Elle a été introduite à Madagascar et à l'île Maurice où elle s'est établie sur *S. calamistis* et *Chilo partellus*<sup>21</sup>. *C. typhae* a une aire de répartition plus restreinte car elle n'a été trouvée pour l'instant qu'à l'est de l'Afrique sub-saharienne (Ethiopie, Kenya et Tanzanie)<sup>1,2</sup>.

Les insectes pour lesquels nous demandons l'autorisation ont été collectés depuis 2013 au Kenya (localités : Makindu, Kobodo, Kisumu Rabuor et Mbita-Lwanda), sur *Typha domingensis* et *Cyperus dives*. Des souches initiées à partir de ces collectes sont en élevage à l'ICIPE – International Centre for Insect Physiology and Ecology, Nairobi, Kenya, et au laboratoire EGCE, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette<sup>22</sup>.

### 1.5. Informations sur l'utilisation du macro-organisme

L'espèce *C. typhae* n'est pas encore utilisée en lutte biologique, mais plusieurs éléments motivent son étude comme futur agent de lutte biologique contre la sésamie du maïs, *Sesamia nonagrioides*. En effet dans son milieu naturel *C. typhae* a une spécificité stricte envers ce ravageur, et des populations Kenyanes de ce parasitoïde sont très efficaces en laboratoire pour tuer les chenilles de la sésamie du maïs. Comme *C. typhae* survivrait mal aux températures hivernales en France, d'après les données sur les espèces sœurs et les études réalisées au laboratoire EGCE, son

utilisation serait envisagée sous forme de lâchers annuels. L'espèce sœur *C. flavipes*, qui est originaire du sous-continent indien, est utilisée ainsi depuis des années 70, pour protéger la canne à sucre contre une chenille foreuse de tiges, une pyrale du genre *Diatrea* (Crambidae), sur des millions d'hectares au Brésil<sup>23</sup>. Elle a aussi été introduite dans les années 1995 en Afrique sub-saharienne pour lutter contre la pyrale asiatique sur maïs, *Ch. partellus* (Crambidae), et son acclimatation est un succès dans plusieurs pays d'Afrique de l'Est<sup>24</sup>.

Compte-tenu de ces éléments et de la recrudescence des dommages causés par la sésamie en France (voir ci-dessous), une étude financée par l'ANR et l'AFB (CoteBio<sup>25</sup> 2018-23) est en cours, d'une part pour approfondir la connaissance des interactions entre *C. typhae* et son hôte (mécanismes, facteurs de variation), et d'autre part pour analyser la faisabilité de son utilisation comme agent de lutte biologique (risque environnemental, efficacité sous serre, production en masse et stockage). La partie III présentent les données acquises pour documenter les risques et bénéfices d'une future utilisation de *C. typhae* en France.

### 1.6. Informations sur l'organisme cible (ravageur et plantes)

En France l'organisme cible est la sésamie du maïs, *S. nonagrioides*. Son expansion a été régulière en France depuis 1990 le long de la côte Atlantique, suite à une succession d'hivers doux<sup>26</sup>, et les populations sont en recrudescence, causant des pertes de rendement et de qualité du maïs, régulières et particulièrement importantes certaines années (en moyenne en Aquitaine, une tige sur deux abrite une chenille de sésamie, entraînant une perte de rendement d'environ 7 qtx/ha<sup>27</sup>. Seuls des produits insecticides conventionnels sont autorisés pour lutter contre la deuxième génération de sésamie en production de maïs. Peu de surfaces sont protégées compte tenu de la hauteur de la culture qui rend le traitement des parties aériennes difficile (nécessite de disposer d'un enjambeur). Le maïs transgénique Bt n'est pas autorisé en France.

- Les parties 1.7, 1.8 et 1.9 sont remplies uniquement en cas d'utilisation commerciale du macro-organisme.

## DEUXIÈME PARTIE

### LOCAUX – CONFINEMENT – FONCTIONNEMENT

*Remplir uniquement dans le cas d'une demande d'entrée sur le territoire, en milieu confiné, à des fins de recherche ou d'élevage.*

Sans objet pour demande d'introduction de *Cotesia typhae* dans l'environnement

## TROISIÈME PARTIE

**INFORMATIONS À FOURNIR POUR ÉVALUER LES RISQUES ET BÉNÉFICES LIÉS À L'INTRODUCTION DANS L'ENVIRONNEMENT DE MACRO-ORGANISMES NON INDIGÈNES UTILES AUX VÉGÉTAUX**

*Remplir uniquement dans le cas d'une demande d'introduction dans l'environnement.*

*Les points 3.1 à 3.7 du dossier sont nécessaires à l'évaluation des risques, dont les risques environnementaux. Le point 3.8 est spécifique à l'efficacité et aux bénéfices du macro-organisme, informations nécessaires pour l'analyse de la demande. Cette évaluation doit porter sur la totalité du territoire concerné par l'introduction dans l'environnement, en faisant référence aux éventuelles variations régionales qui pourraient affecter le risque. Les informations demandées doivent provenir de publications scientifiques, d'évaluations de risque existantes, de rapports privés et/ou d'expérimentation, de simulation ou de communications personnelles d'experts. Il est de la responsabilité du demandeur d'avoir réalisé les recherches bibliographiques nécessaires pour s'assurer du bien-fondé des réponses et d'en présenter une analyse critique et une synthèse. L'absence éventuelle d'information scientifique et technique pour répondre à certaines questions devra être justifiée par la fourniture des mots-clés utilisés et des bases de données consultées. Les documents scientifiques à l'appui de l'évaluation du risque devront être joints à ce dossier.*

**Sommaire :** **pages**

**TROISIÈME PARTIE :**

<b>3.1. Probabilité d'établissement du macro-organisme dans l'environnement.....</b>	<b>12</b>
3.1.1. Données sur les facteurs biocénétiques et biotiques.....	12
3.1.2. Données sur les facteurs abiotiques.....	12
3.1.2.1. Survie et développement larvaire.....	12
3.1.2.2. Survie et développement nymphal.....	13
3.1.2.3. Activité des adultes.....	13
3.1.2.4. Survie des adultes.....	15
3.1.2.5. Fertilité des mâles à faibles température.....	16
3.1.2.6. Éléments d'extrapolation du laboratoire au champ.....	16
3.1.3. Territoire colonisée par le macro-organisme.....	16
<b>3.2. Probabilité de dispersion du macro-organisme dans l'environnement.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3. Risque potentiel pour la santé humaine et/ou animale.....</b>	<b>19</b>
<b>3.4. Risque potentiel pour la santé des végétaux.....</b>	<b>19</b>
<b>3.5. Risque potentiel pour l'environnement dans le territoire pour lequel l'autorisation est demandée</b>	
3.5.1. Services rendus par le macro-organisme dans son écosystème d'origine.....	19
3.5.2. Lister les ennemis naturels connus de la cible.....	19
3.5.3. Lister les effets connus sur des organismes non-cibles.....	20
3.5.4. Lister les effets connus sur des milieux.....	20
<b>3.6. Risque potentiel lié à la spécificité hôte/macro-organisme.....</b>	<b>20</b>
3.6.1. Méthodologie adaptée.....	21
3.6.1.1. Tests sans choix.....	21

3.6.1.2. Tests de préférence olfactive avec choix entre cible/ non-cible.....	21
3.6.1.3. Tests de préférence de parasitisme <i>in planta</i> avec choix entre cible/ non-cible.....	22
3.6.2. Effets éventuels directs sur des hôtes non-cibles, apparentés.....	22
3.6.3. Effets éventuels directs sur des hôtes non-cibles et non apparentés.....	23
3.6.4. Conclusion sur les risques non-cibles.....	23
3.6.5. Risque de compétition ou de substitution.....	24
3.6.6. Risque d'hybridation.....	24
3.6.7. Liste des parasitoïdes connus du macro-organisme.....	24
<b>3.7. Autres risques</b>	
3.7.1. Risque de transfert de matériel génétique.....	25
3.7.2. Estimation de l'indice de risque par la méthode de van Lenteren et al (2003) .....	25
<b>3.8. Efficacité et bénéfices du macro-organisme</b>	
3.8.1. Bénéfices attendus de l'utilisation du macro-organisme.....	26
3.8.2. Efficacité du macro-organisme.....	27
<b>3.9. Conclusion : Balance risques/ bénéfices et recommandations.....</b>	<b>28</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>29</b>
<b>Annexe I.....</b>	<b>32</b>
<b>Annexe II.....</b>	<b>33</b>
<b>Annexe III A.....</b>	<b>34</b>
<b>Annexe III B, C.....</b>	<b>35</b>

### 3.1. Probabilité d'établissement du macro-organisme dans l'environnement

**3.1.1.** Transmettre les données sur les facteurs biocénétiques augmentant ou diminuant le risque d'établissement (interactions positives ou négatives avec d'autres espèces incluant l'hôte cible) ainsi que sur les autres facteurs biotiques favorisant ou diminuant la probabilité d'établissement (exigences biologiques du macro-organisme) ;

Dans son aire d'origine, *C. typhae* s'attaque à la sésamie du maïs, non pas sur des plantes de maïs mais sur des plantes de *Typha* sp ou *Cyperus* sp<sup>1</sup>. Des niches écologiques semblables sont présentes en France, avec notamment des fossés peuplés de *Typha* spp, en bordures de champs ou de routes, et colonisés par des espèces de chenilles non-cibles, qui peuvent représenter des hôtes alternatifs. La viabilité de ces espèces comme hôtes potentiels de *C. typhae* sera discutée en détail en section 3.6. En France, *S. nonagrioides* est retrouvée principalement sur maïs<sup>28</sup>, mais parfois sur plantes sauvages comme le *Sorghum* ou le *Typha*<sup>29</sup>. Dans la zone d'origine de *C. typhae*, le développement des deux protagonistes se fait en continu, grâce à la disponibilité des plantes de *Typha* tout au long de l'année et à la stabilité des températures et de la photopériode, alors qu'en climat tempéré, ces plantes fructifient et se dessèchent de façon synchrone à l'automne tout comme le maïs. Les insectes qui s'en nourrissent passent l'hiver au stade larvaire en arrêt de développement. La probabilité d'établissement de *C. typhae* en France dépendra donc surtout de la capacité de cette espèce tropicale à passer l'hiver.

**3.1.2.** Transmettre les données sur les facteurs abiotiques augmentant ou diminuant la probabilité d'établissement (données sur l'optimum de température, les températures létales, les seuils de température de développement) ;

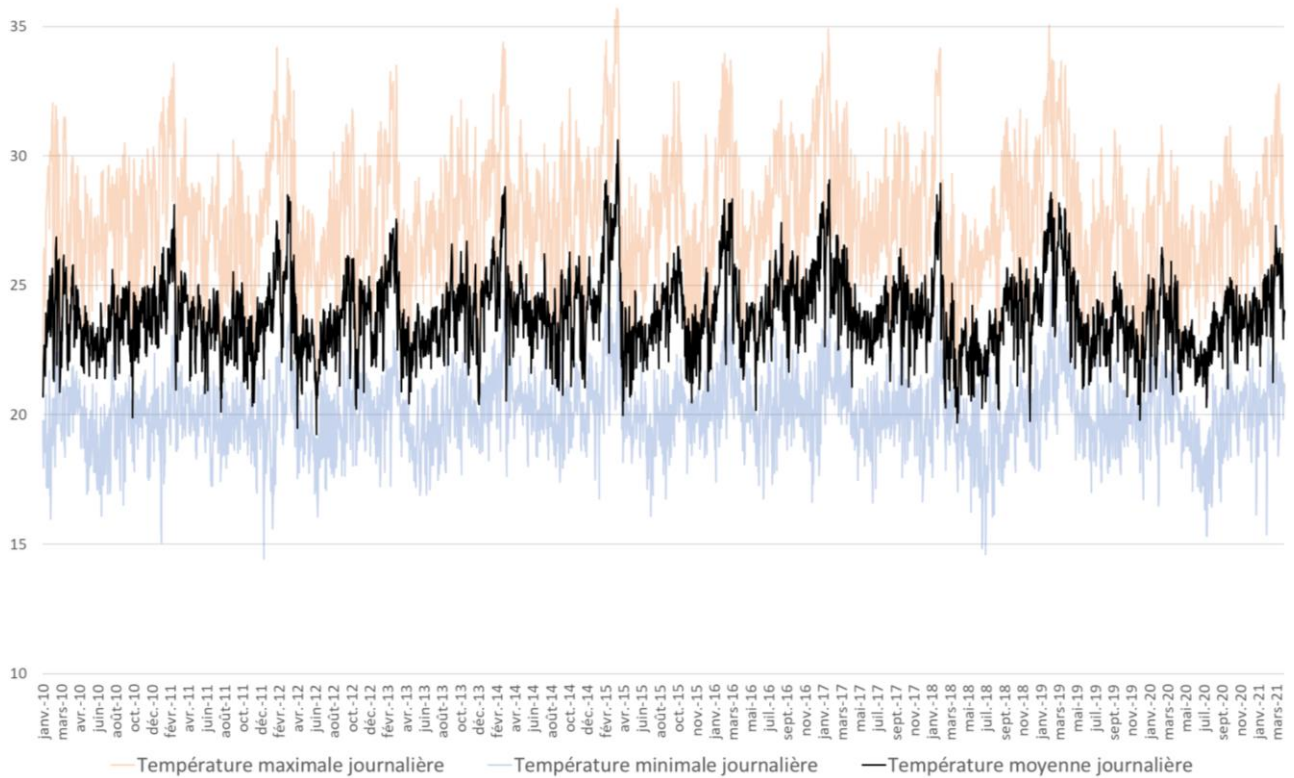
Chez la sésamie, en zone paléarctique, c'est le dernier stade larvaire qui passe l'hiver, et sa diapause est qualifiée d'oligopause, période d'hibernation commençant par une phase d'activité où de courtes phases relativement actives et inactives se succèdent. Elle apparaît dès la fin du mois d'août, induite par le raccourcissement de la durée du jour et, dans une moindre mesure, par la température. Elle se termine en mars, où les larves se nymphosent<sup>28</sup>. En Afrique, le climat et le milieu humide occupé par les plantes hôtes *Typha* spp. et *Cyperus* spp., permettent aux populations de sésamie et de *C. typhae* de se développer en continu toute l'année sans diapause. En France, les températures hivernales représentent l'une des barrières principales à l'établissement de *C. typhae*. En effet, dans son aire d'origine, *C. typhae* n'est jamais exposée à de telles températures, les températures journalières les plus faibles étant rarement inférieures à 15°C à Kobodo (0.679S, 34.412E), localité Kenyane d'où vient la souche de *C. typhae* maintenue à EGCE (Figure 1). De la même manière, sur les 12 localités où nous avons pu trouver *C. typhae*<sup>1</sup>, la température moyenne journalière ne descend pas sous la barre des 15 degrés. Néanmoins, afin de s'assurer que *C. typhae* ne puisse pas s'implanter de manière durable en France, il convient de vérifier si elle est capable de survivre aux températures hivernales françaises. La capacité des larves de *C. typhae* à se développer et survivre dans les chenilles de sésamie durant leur diapause est alors déterminante pour l'établissement durable du parasitoïde sur le sol français. Il convient aussi de vérifier la sensibilité du stade nymphal et adultes à ces températures.

Par conséquent, pour évaluer le risque que *C. typhae* passe l'hiver en France, plusieurs tests ont été effectués afin d'étudier la survie et le développement des différents stades, et les activités des adultes de *C. typhae* à une gamme de température allant de 5 à 27°C. Les données sont en cours de publication (Fortuna et al. 2023<sup>31</sup>). Les espèces du complexe *flavipes* sont très sensibles au gel, *Cotesia sesamiae* notamment, ne résiste que 3 heures à une température de 0°C au stade adulte, et la tolérance au gel de *C. typhae* devrait être proche compte tenu de la proximité de ces deux espèces. Chez *C. flavipes*, des températures constantes de 10 et 15°C ne permettent aucun développement de l'œuf à l'adulte<sup>32</sup>.

#### 3.1.2.1. Survie et développement larvaire du macro-organisme

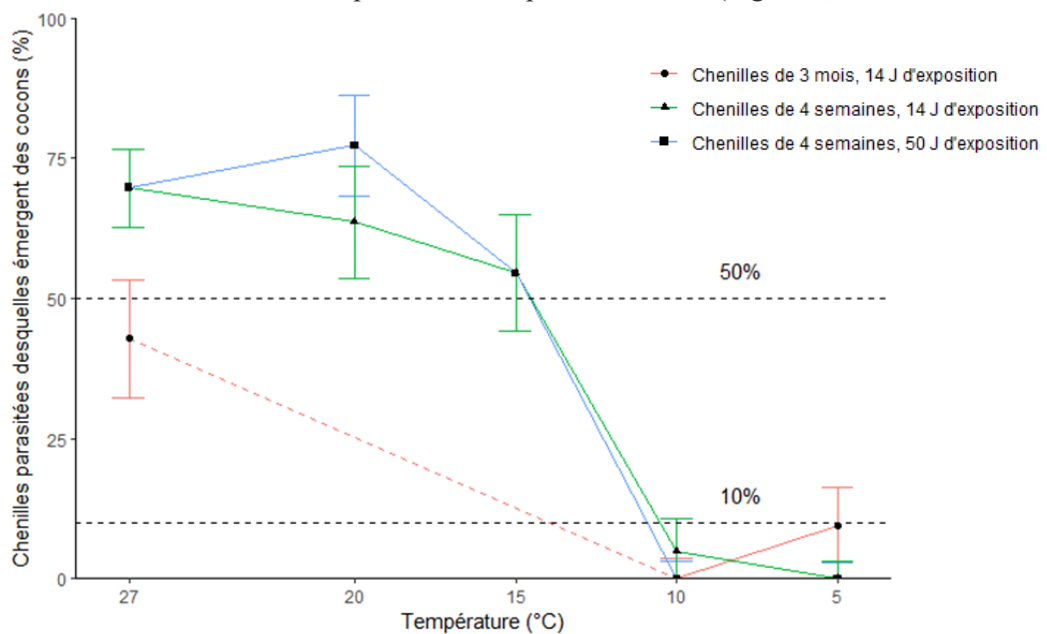
Plusieurs groupes de chenilles de *S. nonagrioides* (diapausantes ou en début de diapause) ont été parasitées par des femelles *C. typhae* et déposées à différentes températures respectivement durant 14 et 50 jours. Passé ce délai, les

chenilles ont été remises à 27°C. Quand les chenilles ont été exposées à 15°C ou moins, la sortie des larves parasites à maturité et la formation des cocons de nymphose n'a pu se produire qu'après le transfert des chenilles à 27°C.



**Figure 1 :** Données de températures journalières maximales (en orange), minimales (en bleu), et moyennes (en noir) à Kobodo (Ouest Kenya) entre janvier 2010 et mars 2021<sup>30</sup>.

L'exposition des chenilles parasitées à 5 ou 10°C entraîne une forte mortalité des larves endoparasites. En effet, le taux de succès parasitaire est de 0% pour les individus exposés à une température de 5°C pendant 14 jours ainsi que pour les individus exposés à 5°C et 10°C pendant 50 jours. Pour toutes les chenilles (diapausantes ou en début de diapause), le taux de succès parasitaire est inférieur à 10% à partir d'une exposition à 10°C (Figure 2).



**Figure 2 :** Survie larvaire de *C. typhae*, mesurée par le pourcentage moyen de chenilles parasitées à partir desquelles

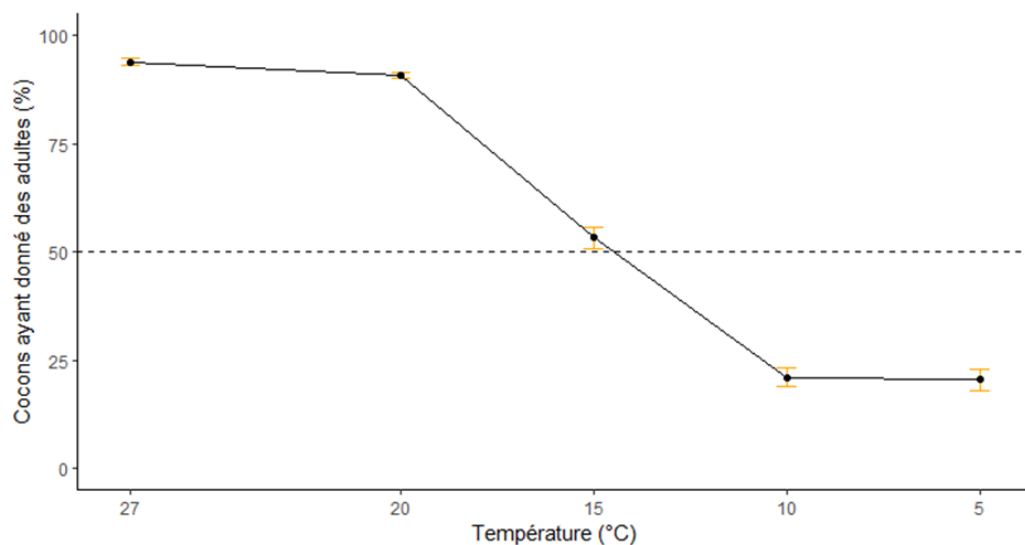


des cocons de nymphose se sont formés après transfert à 27°C après exposition à différentes températures. Deux âges de chenilles et deux périodes d'exposition aux températures ont été testés : des chenilles de 3 mois (diapausantes) exposées pendant 14 jours, et des chenilles de 4 semaines (en début de diapause) exposées pendant 14 jours ou pendant 50 jours. Les barres verticales correspondent à l'erreur standard. Le trait rouge est en pointillé faute de données à 15 et 20°C.

Le parasitisme par *C. typhae* entraîne également une surmortalité des chenilles diapausantes. Des groupes témoins de chenilles diapausantes non parasitées n'ont montré aucune différence de mortalité entre les températures d'exposition 5, 10 et 27°C. Le stade larvaire de *S. nonagrioides* est donc bien plus résistant au froid que celui de *C. typhae*. Des tests supplémentaires ont été effectués durant lesquelles des chenilles de 4 mois ont été parasitées puis exposées à 15, 17 ou 19°C durant 14 jours avant d'être disséquées. Après 14 jours à 15°C, le développement des larves de *C. typhae* s'est avéré très faible, certains individus étant toujours à l'état d'œuf lors de la dissection, ce qui indique que le seuil de développement ovo-larvaire est proche de cette température.

### 3.1.2.2. Survie et développement nymphal du macro-organisme

Après 7 jours à 15°C, la moitié des nymphes de *C. typhae* meurent. En dessous de 15°C, la survie nymphale diminue jusqu'à atteindre un plateau aux alentours de 20% à 10 et 5°C (Figure 3). Le seuil de développement nymphal peut être estimé d'après la durée nécessaire à la formation des adultes quand les cocons sont remis à 27°C. Pour les cocons non exposés au froid, laissés à 27°C, le développement nymphal se fait en une semaine. Il en est de même pour les cocons exposés à 5 et 10°C, ayant survécu, et transférés à 27°C, montrant que le développement nymphal est bloqué à 5 et 10°C. Pour les cocons ayant survécu à 15°C, leur transfert à 27°C est suivi d'un développement nymphal de 5 jours seulement, indiquant qu'il a commencé pendant l'exposition à 15°C. Ainsi, de même que pour le développement ovo-larvaire, le seuil de développement nymphal doit être un peu inférieur à 15°C.



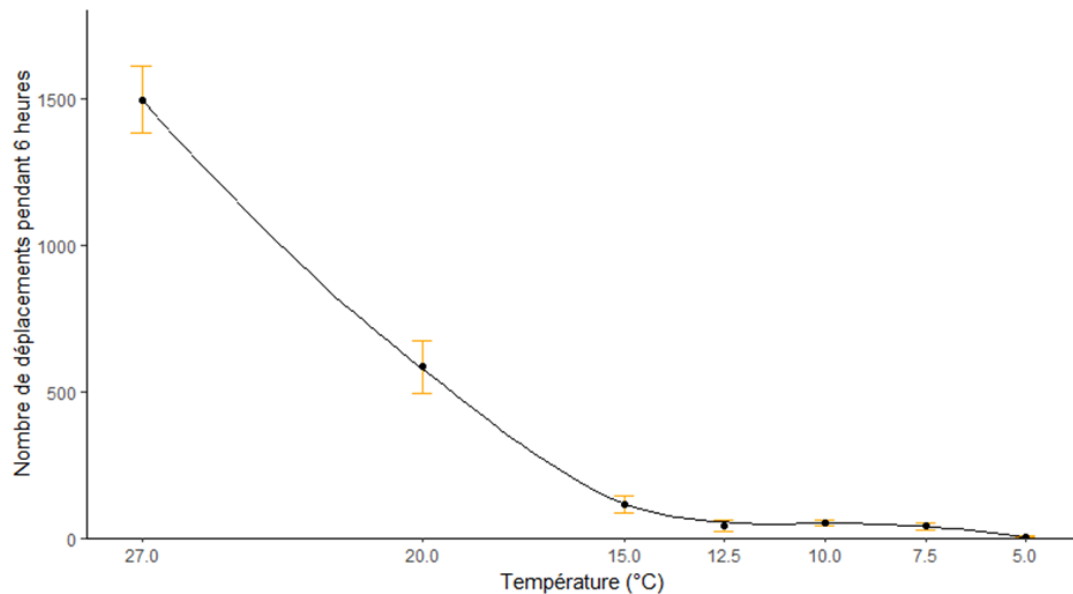
**Figure 3** : Survie nymphale de *C. typhae*, mesurée par le pourcentage de cocons ayant donné des adultes, après 7 jours d'exposition respectivement à 27, 20, 15, 10 et 5°C, suivi d'un transfert à 27°C. Les barres verticales correspondent à l'erreur standard.

### 3.1.2.3. Activité des adultes du macro-organisme

L'activité locomotrice des adultes (2 mâles ou 2 femelles) de *C. typhae* a été testée pendant 6 heures en actimètre, dispositif permettant l'enregistrement et le comptage du nombre de passages d'individus dans des tubes<sup>33</sup>. Elle diminue fortement entre 27 et 15°C, est très faible à partir de 12,5°C et proche de 0 à 5°C (Figure 4). Nous pouvons considérer que le seuil d'activité locomotrice de *C. typhae* est compris entre 5 et 10°C.



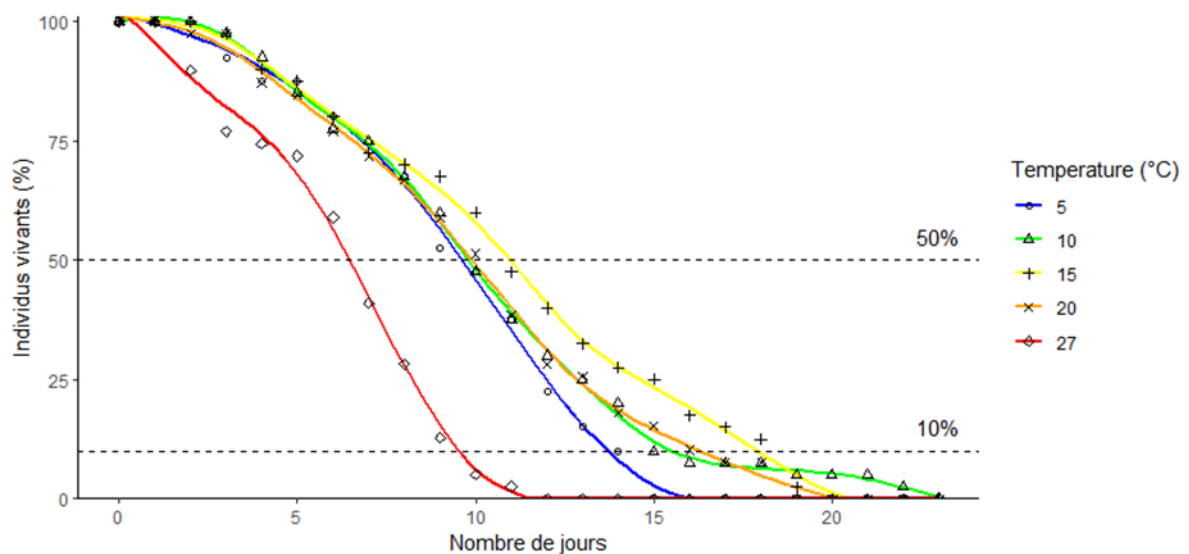
Concernant l'activité de ponte, le seuil se trouve aussi entre 5 et 7,5°C. En effet des tests ont été réalisés durant lesquels des larves de *S. nonagrioides* ont été laissées avec des femelles *C. typhae* dans des boîtes de Pétri durant 1 heure 30, à cinq températures constantes : 5°C ; 7,5°C ; 10°C ; 12,5°C et 15°C. Dans ces conditions, seules les larves de *S. nonagrioides* mises à 5°C n'ont été pas parasitées.



**Figure 4** : Activité locomotrice des adultes de *C. typhae* (nombre moyen de déplacements de paires de même sexe pendant 6 heures) en fonction de la température. Les barres verticales représentent l'erreur standard.

### 3.1.2.4. Survie des adultes du macro-organisme

D'après des tests effectués durant lesquels des adultes isolés et nourris ont été exposés à différentes températures dès leur émergence, la température garantissant la longévité la plus importante est comprise entre 10 et 20°C (Figure 5). La plus faible durée de survie est observée à 27°C. À 5, 10, 15 et 20°C, la moitié des adultes meurent à 10-11 jours, 90% sont morts au bout de 14 jours à 5°C et de 16 à 18 jours entre 10 et 20°C. A 20°C et moins, la température affecte donc peu la longévité. La résistance des adultes aux températures les plus faibles peut s'expliquer par l'inactivité des adultes (Figure 4). La différence de longévité entre les températures reste très faible par rapport à la différence d'activité notée précédemment.



**Figure 5** : Courbes de survie des adultes *C. typhae* exposés respectivement à 5, 10, 15, 20 et 27°C, en tubes individuels

avec eau et nourriture (miel).

Nous n'avons pas testé la survie de *C. typhae* à des températures inférieures à 5°C, mais cela a été fait pour une de ses espèces sœurs, *C. sesamiae*<sup>34</sup>. Au stade adulte, *C. sesamiae* a atteint un taux de mortalité de 100% après 4 heures passées à 0°C et après seulement une heure passée à -3°C. Étant donné la proximité entre *C. sesamiae* et *C. typhae*, nous pouvons penser que la tolérance au gel de *C. typhae* est aussi de quelques heures.

### 3.1.2.5. Fertilité des mâles à faibles températures

Des tests destinés à étudier la sensibilité de la fertilité des mâles de *C. typhae* à des températures froides ont été effectués<sup>6</sup>. Les mâles ont été soumis à une vague de froid (à 0, 5 ou 10°C) durant une semaine au cours de leur développement nymphal. Ces mâles ont produit cinq fois moins de spermatozoïdes que les mâles contrôles laissés à 25°C.

### 3.1.2.6. Éléments d'extrapolation du laboratoire au champs

Toutes ces données montrent que *C. typhae* est plus sensible au froid que son hôte, et que sa survie et son développement à des températures hivernales en France sont très limités, rendant improbable l'établissement de populations de *C. typhae* d'une année sur l'autre. En effet, nous avons constaté que plusieurs jours à 10°C entraînaient une forte mortalité larvaire et nymphale de *C. typhae*. Le seuil des développements larvaire et nymphaux était un peu inférieur à 15°C. De plus, le parasitisme entraîne une surmortalité des hôtes diapausants. Même dans l'hypothèse où certains individus de *C. typhae* survivent à l'hiver durant les stades juvéniles, les faibles températures à la sortie de l'hiver compromettraient leur capacité à trouver un partenaire sexuel et un hôte, leur activité étant sévèrement réduite. Des essais sur *Cotesia chilonis*, parasitoïde de *Chilo suppressalis* originaire du Japon, ont été effectués en cages extérieures durant l'hiver dans le but d'étudier la survie hivernale du parasitoïde en basse vallée du Rhône. Des hôtes ont été piqués puis déposés immédiatement en cages extérieures, entre mi-octobre et mi-novembre, pour passer l'hiver. La mortalité des hôtes témoins non parasités a varié entre 24 et 42%, tandis que celle des parasitoïdes (mortalité embryonnaire, larvaire et nymphale cumulées) a varié entre 90 et 100%.

En France, les décalages de phénologie entre la sésamie et *C. typhae* représentent des barrières supplémentaires à l'établissement du parasitoïde. En effet, en début de diapause, la chenille de sésamie se réfugie dans le collet racinaire, où elle cesse de s'alimenter<sup>2,35</sup>. Cette absence d'alimentation entraîne l'absence de production de sécrétions salivaires et de fèces par la sésamie. Or ces éléments odorants permettent aux femelles de *C. typhae* de localiser leurs hôtes, et leur absence pourrait les en empêcher.

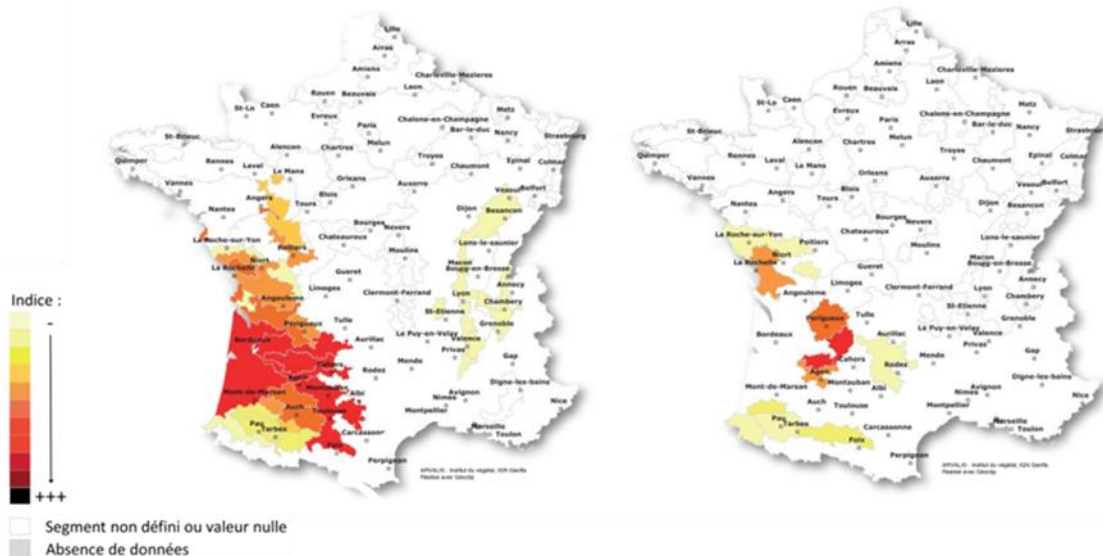
D'autre part, même si quelques individus parviennent à se développer durant l'hiver, les adultes qui émergeraient des larves diapausantes de sésamie ne disposeraient pas d'hôtes viables, *S. nonagrioides* étant uniquement présente à l'état de pré-nymphé et chrysalide au début du printemps. Par conséquent, le parasitisme devrait être grandement improbable aussi bien en début de diapause qu'au sortir de diapause.

### 3.1.3. Identifier la partie du territoire susceptible d'être durablement colonisée par le macro-organisme (représentations cartographiques souhaitées)

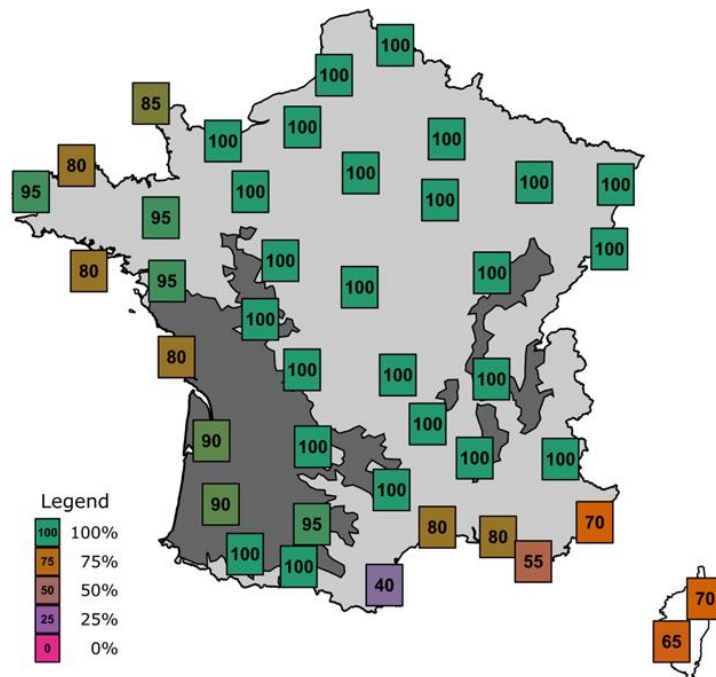
L'introduction de *C. typhae* n'est envisagée que dans les champs où la sésamie occasionne des dégâts, soit principalement dans le sud-ouest de la France<sup>27</sup> et plus localement dans le sud-est (Figure 6).

Au sein de ces zones, la colonisation durable de *C. typhae* peut être considérablement très improbable par les températures hivernales, comme vu au point précédent.

Nous avons vu que les seuils de survie larvaire, et de développement larvaire et nymphaux étaient entre 10 et 15°C, et que 14 jours était une durée létale à presque 100% à 10°C. Par l'analyse de séries de températures des hivers de 21 années (2000-2020), nous avons établi un peu partout en France le pourcentage d'hivers qui ne permettraient pas la survie de *C. typhae*, en prenant le critère d'au moins 14 jours consécutifs pour lesquels la température moyenne par jour ne dépasse pas 10°C<sup>31</sup>. Dans les zones infestées par la sésamie, ces hivers non permissifs représentent en moyenne 97% des hivers des localités étudiées, et varient entre 80 et 100% (Figure 7).



**Figure 6 :** Indice de perte moyenne dû à la sésamie sur le maïs grain (à gauche) et sur le maïs fourrage (à droite) en France<sup>27</sup>. Les zones colorées correspondent aux dégâts, sur une échelle allant du jaune pâle (dégâts limités) au noir (dégât très importants).



**Figure 7 :** Probabilité d'occurrence d'hivers impactant négativement le développement de *C. typhae* (Fortuna et al 2023<sup>31</sup> en révision). Pour chacune des 42 stations de Météo France, nous avons calculé la proportion d'hiver comportant 14 jours consécutifs durant lesquels la température journalière est égale ou inférieure à 10°C durant l'hiver. La zone

indiquée en gris foncé sur la carte de France correspond aux zones où la sésamie cause des dégâts aux cultures de maïs, d'après Thibord et al. 2017<sup>27</sup>.

Il est nécessaire de mentionner que, la sésamie se nymphosant en avril, les rares adultes de *C. typhae* qui auraient pu se former et émerger de chenilles en quiescence en fin d'hiver seraient dans l'obligation de trouver un hôte alternatif durant cette période, car les premières pontes de sésamies se produisent en mai-juin, et les stades larvaires de sésamie propices au parasitisme (à partir du 3<sup>e</sup> stade larvaire) commencent à être présents fin mai - début juin<sup>36</sup>. De plus, hormis quelques exceptions, la réglementation impose de broyer les résidus de maïs, de manière à éliminer une grande partie des ravageurs diapausants. Arvalis estime que cette pratique est effectuée sur 80 à 95% de la surface cultivée, selon les années et les secteurs. Par ailleurs, les seules espèces de lépidoptères non-cibles permettant le développement de *C. typhae* en laboratoire sont *Archana neurica*, *Nonagria typhae*, *Lenisa geminipuncta* et *Chilo phragmitella*. Ces 4 espèces sont établies, au moins partiellement, dans les régions dans lesquelles la sésamie est présente. Toutefois il est peu probable que ces espèces non-cibles puissent servir d'hôte intermédiaire à *C. typhae* car nous avons pu estimer que la probabilité que le parasitoïde puisse s'y développer était comprise entre 0 et 1,9 % des chenilles selon les espèces (voir partie 3.6).

### 3.2. Probabilité de dispersion du macro-organisme dans l'environnement

*Indiquer les moyens et la vitesse prévisible de dispersion du macro-organisme. Signaler les éventuels facteurs locaux favorisant et ceux limitant la dispersion.*

Afin d'estimer les capacités de dispersion de *C. typhae*, il est nécessaire d'utiliser les données connues pour les espèces proches de tailles similaires. *C. typhae* mesure en moyenne 2,4 mm et dépasse *C. flavipes* de 0,2 à 0,3 mm<sup>1</sup>, mais elle est plus petite que *Cotesia glomerata*, qui mesure environ 2,6 mm<sup>37</sup>. En moyenne selon les études, le taux de dispersion de *C. flavipes* est de 34 mètres par jour<sup>38,39</sup>, celui de *C. glomerata* s'élève à 72 mètres par jour<sup>40</sup>; certaines études de dispersion n'ont pas été prises en compte dans ces moyennes, car effectuées dans une échelle de temps et d'espace importante (influence possible du transport par l'homme) ou parce que la majorité des individus retrouvés se situaient en bordure de parcelle/zone étudiée. Nous pouvons nous attendre à ce que la dispersion de *C. typhae* soit comprise entre ces valeurs (indépendamment de la température, des précipitations et du vent). Chez *C. glomerata*, une dispersion majoritairement à contresens du vent a été observée qui peut s'expliquer par le fait que les parasitoïdes suivent les odeurs de leurs hôtes vers la source, pour les localiser<sup>40</sup>. A l'inverse, chez *C. flavipes*, une dispersion dans le sens du vent a été notée, que l'on peut attribuer à la petite taille de cette espèce, et donc à sa faible résistance face à la force du vent<sup>41</sup>.

Dans le risque d'une dispersion passive par vents forts, pour des objets de l'ordre de grandeur et poids de *C. typhae*, il est possible de définir la distance de transport,  $x$  comme :  $x \approx Tv$ , avec  $v$  = vitesse du vent ;  $T$  = temps pour tomber au sol<sup>42</sup>. Nous avons estimé  $T$  empiriquement pour différentes hauteurs de chute, et ainsi calculé des modèles linéaires pour des hauteurs d'échappement variant de 1 à 5 mètres. Le calcul de la pente permet d'extrapoler la distance de dispersion pour une vitesse de vent donnée. Par exemple si un individu *C. typhae* s'échappe à 1 m de hauteur et est entraîné par une bourrasque de 100 km/h, il parcourra 17m, s'il s'échappe à une hauteur de 2m, il parcourra environ 36m. Il faut ajouter à cela les déplacements des femelles *C. typhae* pour rechercher un hôte après leur vol initial depuis leur point de lâcher. Cependant, étant donné la forte influence de l'exposition à une odeur sur l'attraction des femelles pour cette odeur, il est peu probable que les femelles sortent des champs où elles sont introduites pour s'attaquer à des hôtes présents sur d'autres plantes. En effet, les femelles exposées à des odeurs de maïs infesté par la sésamie étaient en moyenne 1,5 fois plus susceptibles de se diriger vers cette odeur (plutôt que vers les odeurs d'autres espèces de plantes infestées par d'autres chenilles) que les femelles non exposées au préalable (annexe I, préférence olfactive). De la même manière, en moyenne, dans les zones de cultures, seulement 5% et 6% des hôtes respectifs de *C. sesamiae* et *C. flavipes* parasités se trouvent en milieu naturel à proximité des surfaces cultivées plutôt que dans les surfaces

cultivées elles-mêmes<sup>1</sup>. La dispersion et l'impact de ces espèces de *Cotesia* sur les milieux naturels à proximité sont donc relativement faibles, même pour *C. sesamiae*, qui a plusieurs espèces hôtes dans les milieux naturels au Kenya<sup>17</sup>.

### 3.3. Risque potentiel pour la santé humaine et/ou animale

*Identifier et décrire les risques pour la santé humaine et les risques pour la santé animale. Prendre en compte le risque intrinsèque posé par le macro-organisme lui-même et le risque de transport par le macro-organisme de micro-organismes pathogènes pour la santé humaine ou animale.*

Aucun risque pour la santé humaine et/ou animale n'est actuellement connu.

### 3.4. Risque potentiel pour la santé des végétaux

*Identifier et décrire les risques pour la santé des végétaux (capacité du macro-organisme à se nourrir de végétaux et potentiel de modification des préférences alimentaires ; signalements de dégâts sur végétaux par des individus de la même famille, genre ou espèce ; présence sur le territoire de végétaux hôtes ou non-hôtes susceptibles d'être attaqués par le macro-organisme ; capacité du macro-organisme à transmettre des organismes nuisibles aux végétaux). Cette analyse sera fondée sur les traits biologiques du macro-organisme et sur les caractéristiques des habitats susceptibles d'être colonisés dans le territoire pour lequel est demandée une autorisation d'introduction dans l'environnement.*

Les Braconidae ne sont pas des insectes phytophages. Au stade adulte, ils peuvent se nourrir de liquides sucrés, d'hémolymphe de leur hôte, ou bien ne pas se nourrir du tout selon les espèces<sup>43</sup>. Les Braconidae ont souvent une alimentation à l'âge adulte limitée au nectar ou exudats sucrés notamment sur les plantes sauvages aux abords des cultures<sup>44</sup>. La survie de *C. typhae* adulte est très augmentée en laboratoire par la consommation de miel confirmant le besoin de nutrition sucrée<sup>1</sup>. Le risque pour la santé des végétaux est donc absent.

### 3.5. Risque potentiel pour l'environnement dans le territoire pour lequel l'autorisation est demandée

**3.5.1.** *Documenter les services rendus par le macro-organisme dans son écosystème d'origine (type d'hôtes i.e. parasitoïdes/prédateurs/pathogènes, type d'organismes attaqués, résultat des attaques sur les organismes cibles et non-cibles...)*

*C. typhae* est présente dans 3 pays d'Afrique de l'Est : le Kenya, l'Éthiopie et la Tanzanie. Elle y est retrouvée exclusivement sur *S. nonagrioides*, le plus souvent présente dans des tiges de *Typha domingensis* ou plus rarement, dans des tiges de *Cyperus dives*<sup>1,2</sup>. Le pourcentage de larves de sésamie parasitées varie grandement, de 3,4 à 72.2%, selon la période de l'année et selon les localités et est en moyenne de 20%<sup>1</sup>. *C. typhae* contribue donc à une limitation des populations de la noctuelle, qui n'est pas un ravageur en Afrique de l'Est.

**3.5.2.** *Lister les ennemis naturels connus de la cible du macro-organisme sur ce territoire*

*Sesamia nonagrioides* n'est pas originaire d'Europe<sup>45</sup> où elle possède peu d'ennemis<sup>20</sup>. En Europe de l'Ouest, *S. nonagrioides* est attaqué par *Lydella thompsoni* (Diptera : Tachinidae), causant entre 1 et 30% de parasitisme<sup>18,20</sup>, mais cet insecte est peu spécifique et son augmentation à des fins de lutte biologique poserait problème pour les espèces non-cibles. Au Portugal, *Pseudoperichaeta nigrolineata* (Tachinidae) s'attaque aussi à *S. nonagrioides*. Des études menées en Espagne montrent que *S. nonagrioides* est plus rarement parasitée par d'autres parasitoïdes comme : *Peribaea tibialis* (Tachinidae), *Exorista larvarum* (Tachinidae), *Agrypon gracilipes* (Hymenoptera : Ichneumonidae), *Nemorea pellucida* (Tachinidae), *Sinophorus turionum* (Ichneumonidae), ainsi qu'une espèce non identifiée de Braconidae (Hymenoptera) et de Nematocera (Diptera)<sup>20</sup>. En France, une espèce du genre *Diadegma* (Ichneumonidae)



parasite aussi *S. nonagrioides*, ce qui a été observé en élevage<sup>46</sup>. Parmi les espèces européennes s'attaquant à *S. nonagrioides*, *L. thompsoni*, *P. tibialis*, *E. larvarum* et *A. gracilipes* sont présentes dans les zones d'introduction potentielles de *C. typhae*<sup>47,48</sup>. En Espagne, seule *L. thompsoni* cause un taux de parasitisme légèrement supérieur à 1%, uniquement sur les chenilles non diapausantes<sup>20</sup>.

**3.5.3. Lister les effets connus sur des organismes non-cibles lors de précédentes utilisations du macro-organisme en dehors de son aire d'origine ;**

*C. typhae* n'a jamais été utilisée comme agent de biocontrôle en dehors de son aire d'origine. Cependant, *C. flavipes*, originaire d'Inde et Océanie, a déjà été utilisée comme agent de contrôle au Kenya, où les premières introductions menant à l'établissement du parasitoïde ont été réalisées en 1993 et ont abouti à une acclimatation du parasitoïde<sup>37</sup>. Nous avons connaissance d'une seule étude d'impact environnemental de *C. flavipes* dehors de son aire d'origine. Mailafiya et al. (2010)<sup>17</sup> a effectué une étude sur une période de 2 ans, portant sur 4 zones agro écologiques au Kenya, dans lesquelles 63 champs au total ont été sélectionnés aléatoirement. Pour chacun de ces champs, entre 50 et 100 tiges ont été aléatoirement échantillonnées pour y relever la présence de parasitoïdes ou d'hôtes. Le même processus a été répété sur les plantes sauvages en bordure de champ. Quatorze ans après son introduction, *C. flavipes* a maintenu une forte spécificité pour son hôte, *Ch. partellus*. Elle est en effet présente dans un nombre restreint d'habitats au Kenya, et s'attaque presque exclusivement à *Ch. partellus* dans chacun d'eux<sup>17</sup>.

**3.5.4. Lister les effets connus sur des milieux, notamment lors de précédentes utilisations du macro-organisme en dehors de son aire d'origine**

Aucun effet sur les milieux n'est connu, pour *C. typhae* ou pour les autres espèces du complexe *flavipes*.

### **3.6. Risque potentiel lié à la spécificité hôte/macro-organisme**

*Il s'agit d'identifier et de décrire les risques éventuels pour les organismes non-cibles, en s'intéressant particulièrement aux espèces patrimoniales ou menacées :*

En considérant la niche écologique de *C. typhae* en Afrique (milieu humide comprenant des plantes des genres *Typha*, *Cyperus*, *Phragmites*, *Carex*, *Juncus*) et la distribution de la sésamie en France, une liste de 14 espèces de lépidoptères non-cibles, ayant des chenilles foreuses de tiges des plantes précitées, a été établie sur des critères de proximité biologique et écologique (annexe II). Parmi ces espèces, 11 noctuelles (Noctuidae) sont apparentées à la sésamie, faisant partie comme elle de la sous-famille des Hadeninae : *Archanara dissoluta*, *Archanara neurica*, *Lenisa geminipuncta*, *Nonagria typhae*, *Lateroligia ophiogramma*, *Protarchanara brevilinea*, *Coenobia rufa*, *Rhizedra lutosa*, *Globia sparganii*, *Denticucullus pygmina* et *Mythimna straminea*. Les 3 espèces restantes : *Ostrinia nubilalis* (Crambidae), *Chilo phragmitella* (Crambidae) et *Orthotelia sparganella* (Glyphipterigidae), ne sont pas des noctuelles et sont donc plus éloignées génétiquement de la sésamie. Ces lépidoptères constituent à priori les espèces susceptibles d'être menacées par la présence de *C. typhae*. Sur ces 14 espèces, 11 sont présentes sur une grande partie du territoire métropolitain et 3 sont présentes de manière plus localisée (*Archanara neurica*, *Protarchanara brevilinea* et *Orthotelia sparganella*)<sup>47,49</sup>. Ces espèces ne sont ni patrimoniales (papillons de nuit gris-beige sans particularité esthétique) ni menacées, et elles se trouvent dans des habitats ruraux ne faisant pas l'objet de programmes de conservation de biodiversité : fossés, mares, bassins d'infiltration d'autoroute, non entretenus et ombragés<sup>47,49</sup> (résultats de 6 années de campagne de terrain). Huit espèces de cette liste (5 apparentées, 3 non apparentées) ont été soumises à différents types de test destinés à fournir une évaluation du risque global de *C. typhae* (annexe I). Les 6 espèces restantes n'ont pas été trouvées en quantités suffisantes lors des campagnes de terrain pour pouvoir mettre en place des tests. Elles ont cependant des espèces apparentées dans la liste des 8 étudiées, qui est donc représentative de l'ensemble des espèces à risque.

### 3.6.1. Méthodologie adaptée

Les différents tests ont été adaptés d'après la démarche séquentielle d'analyse des risques décrite par van Lenteren *et al.* (2003)<sup>50</sup> (Figure 8). Cette démarche est inspirée de celle mise en œuvre pour l'évaluation des risques écotoxicologiques des produits phytosanitaires, c'est-à-dire qu'elle met d'abord l'organisme non-cible en contact direct avec l'agent de biocontrôle. Il s'agit d'un processus fonctionnant par élimination, durant lequel sont effectués des tests successifs reproduisant les étapes du parasitisme ou de la prédation. Lorsqu'une espèce atteint un taux de risque suffisamment faible pour un type de test, nous pouvons considérer qu'il s'agit d'une barrière au parasitisme. Par conséquent, nous pouvons raisonnablement conclure qu'il n'est pas nécessaire de poursuivre les tests pour cette espèce (Figure 8). Nous avons choisi d'estimer deux catégories de risques : des risques "par étape", combinant les résultats des tests d'acceptation, de développement et d'attractivité, et, si ce risque est supérieur à 5%, des risques *in planta*, combinant les résultats des tests de développement, et ceux des tests *in planta*, où le parasitoïde doit accéder à son hôte à l'intérieur de la plante. Le risque de mortalité de la chenille non-cible peut survenir soit pendant le développement ovo-larvaire du parasitoïde, qui n'aboutit donc pas, soit à l'issue de ce dernier (formation de cocons de nymphose). Pour les risques évalués par étape et *in planta*, nous avons donc calculé le risque de mortalité de la chenille non-cible et le risque de développement du parasitoïde (annexe I).

#### 3.6.1.1. Tests sans choix :

-*Tests d'acceptation* : présentation d'une chenille non-cible à une femelle *C. typhae* et observation ou non d'un comportement de ponte. Le pourcentage de chenilles ayant été piquées est noté.

-*Tests de développement* : deux groupes de chenilles non-cibles sont formés, un groupe soumis au parasitisme (chaque chenille est mise en contact avec une femelle *C. typhae* jusqu'à observation d'un comportement de ponte) et un groupe contrôle non parasité. Les chenilles de chaque groupe sont laissées individuellement sur milieu nutritif, ou sur une portion de tige de plante hôte, jusqu'à la formation de cocons de *C. typhae*, la formation d'une chrysalide, ou la mort de la chenille hôte. Durant ces tests, la formation de cocons de *C. typhae* était systématiquement suivie par la mort de la chenille.

Dans un premier temps, des tests sans choix puis avec choix ont été effectués en conditions contrôlées. La notion de test sans choix se rapporte à la mise en contact direct de *C. typhae* avec l'espèce de lépidoptère non-cible, tandis que les tests avec choix visent à observer les préférences de *C. typhae* pour la sésamie sur maïs par rapport à une espèce non-cible sur sa plante.

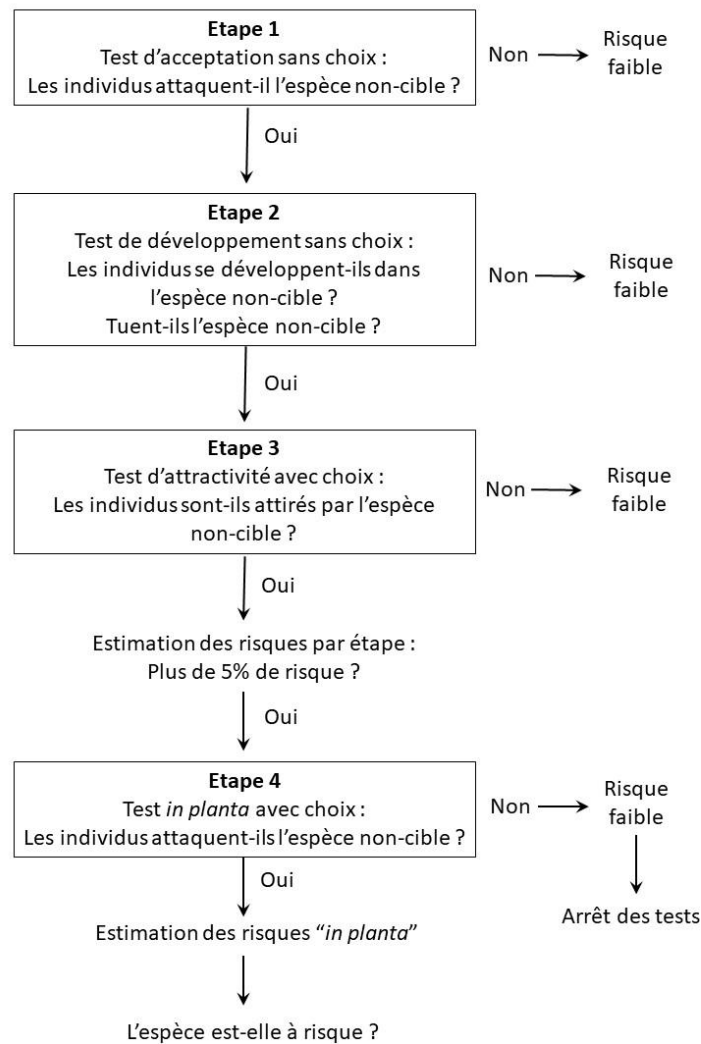
#### 3.6.1.2. Tests de préférence olfactive avec choix entre cible et non-cible :

Ces tests sont effectués à l'aide d'un olfactomètre en Y, dispositif expérimental envoyant un flux d'air dans les deux branches du tube en Y, en amont desquelles une source d'odeur peut être déposée. Dans la base du tube Y en aval de ces deux branches, un insecte peut être déposé et peut se diriger vers l'une des sources d'odeurs, ce qui est interprété comme un choix reflétant son attirance pour l'odeur vers laquelle il se dirige.

Les sources d'odeur sont préparées 48h avant le test : une chenille de sésamie est introduite dans une portion de tige de maïs, et une chenille non-cible est introduite dans une portion de tige de sa plante hôte. Chacune de ces portions de tiges sont placées dans une branche de l'olfactomètre. Ensuite, des femelles *C. typhae* sont introduites et observées individuellement dans l'olfactomètre, et la branche vers laquelle chaque femelle se dirige est notée.

Plusieurs types de femelles ont été testées : des femelles expérimentées (femelles ayant été exposées au préalable à des odeurs de maïs infesté par la sésamie) et des femelles naïves (femelles n'ayant été exposées à aucune odeur particulière avant le test).





**Figure 8** : Schéma des différents tests effectués afin de déterminer le risque sur les espèces non-cibles.

### 3.6.1.3. Tests de préférence de parasitisme *in planta* avec choix entre cible/ non-cible :

Quarante-huit heures avant le début du test, plusieurs sections de tiges de maïs sont découpées et une sésamie est introduite par tige. De la même manière, des chenilles non-cibles sont introduites dans des sections de tiges de leur plante hôte. Lors de la mise en place du test, 2 tiges de maïs contenant chacune une sésamie et 2 tiges de plantes contenant chacune une chenille non-cible sont introduites dans une cage (60x60x90cm) avec une femelle *C. typhae* durant 24 heures. Selon les espèces, 8 ou 10 cages ont été ainsi mises en place. Après 24 heures, les chenilles sont récupérées, et l'ADN est extrait afin de détecter (par PCR et électrophorèse) la présence éventuelle d'ADN de *C. typhae* témoignant du parasitisme.

### 3.6.2. Effets éventuels directs du macro-organisme sur des hôtes non-cibles, apparentés d'un point de vue taxonomique à la cible ;

À l'issue des différents tests effectués sur les 5 espèces apparentées à la sésamie, l'approche par étape indique un risque moyen de développement de *C. typhae* de 3,0% (compris entre 0% et 10,1% selon les espèces), et un risque moyen de mortalité des chenilles non-cibles de 10,1% (compris entre 0% et 32,3%). Les tests *in planta* indiquent un risque moyen de développement de *C. typhae* de 0,9% (compris entre 0% et 1,9%), et le risque moyen de mortalité est de 3,4% (compris entre 0% et 9,5%) (annexe I).

*Lenisa geminipuncta* et *Coenobia rufa* présentent des risques par étape inférieurs à 5%. Malgré ces faibles valeurs,

nous avons choisi de réaliser le test *in planta* pour *L. geminipuncta*, (en plus d'*A. neurica*, *G. sparganii* et *N. typhae*) car elle était très attractive pour *C. typhae*. Quatre espèces ont donc été soumises au test *in planta*. Les risques estimés ainsi sont nuls pour *A. neurica* alors que le risque de mortalité est élevé (32,3%) quand cette chenille n'est pas protégée par sa plante, et ils sont inférieurs à 5% pour *L. geminipuncta* et *Globia sparganii*. Seule *N. typhae* présente un risque de mortalité plus élevé, de 9,5%, mais un faible risque de développement de *C. typhae* (1,9%).

Nous pouvons remarquer que le risque de parasitisme *in planta* est plus élevé sur les plantes de *Typha* que sur *Phragmites*. Bien que ces dernières soient attractives, leur mode de croissance fait que l'orifice de la galerie est rapidement masqué et la structure de la tige comprend des nœuds, ces deux éléments entraînant des barrières physiques mettant les chenilles hors d'atteinte de *C. typhae*.

### 3.6.3. Effets éventuels directs du macro-organisme sur des hôtes non-cibles et non apparentés taxonomiquement à la cible ;

Les tests effectués avec les hôtes non-cibles non-apparentés à la cible, *Ostrinia nubilalis*, *Chilo phragmitella*, *Orthotelia sparganella* sont les mêmes que les tests effectués sur les espèces apparentées à la cible, mentionnés au paragraphe précédent.

L'approche par étape permet d'estimer un risque moyen de développement de 0,4% (compris entre 0 et 1,2%), et un risque moyen de mortalité de 0,7% (compris entre 0 et 1,6%). Étant donné les faibles risques obtenus à l'issue des tests par étape (moins de 5%), ces 3 espèces n'ont pas été soumises aux tests *in planta* (annexe I et Figure 6).

### 3.6.4. Conclusion concernant les risques sur les espèces non-cibles :

La majorité des espèces testées présentent de faibles risques. *Nonagria typhae* est l'espèce pour laquelle le risque est le plus important, atteignant près de 10% de risque de mortalité *in planta*.

Ces risques sont faibles au regard de l'impact de *C. typhae* sur *S. nonagrioides*, ce qui est en accord avec la spécificité du parasitoïde. Ainsi pour la sésamie et selon l'expérience olfactive des parasitoïdes femelles, les risques de développement de *C. typhae* par étape sont compris entre 36,3% et 52,2% et les risques de mortalité par étape sont compris entre 43,6% et 62,7%. Les risques de développement et de mortalité *in planta* pour *S. nonagrioides* sont respectivement de 24,5 % et 29,4 %, soit 3 fois plus élevés que le risque de mortalité *in planta* de *N. typhae*.

Par ailleurs, le risque identifié pour 3 espèces, *N. typhae*, *G. sparganii* et *L. geminipuncta* est limité car elles présentent une seule génération annuelle, et passent l'hiver à l'état d'œuf.

Un autre facteur jouant sur le risque pour ces espèces non-cibles est leur présence à proximité des champs de maïs. Cependant, lors de notre première campagne de terrain (Landes, Pyrénées-Atlantiques), nous avons trouvé un très faible nombre de chenilles non-cibles car les habitats propices à leur développement étaient rares dans ces régions de monoculture de maïs du sud-ouest de la France. Pour cause, les cultures de maïs en France ont tendance à occuper beaucoup de place, laissant peu d'espaces pour le développement de quantités importantes de plantes sauvages permettant le développement de ces espèces<sup>29</sup>. De plus, dans les départements où nous avons trouvé des populations de chenilles non-cibles, elles étaient restreintes uniquement à certains habitats propices mentionnés au début de la partie 3.6.

Les connaissances de la biologie et de l'écologie des espèces non-cibles, nos résultats et notre expérience de terrain nous permettent d'émettre des recommandations de gestion du risque.

L'expérience des femelles *C. typhae* pour l'odeur de maïs infesté par la sésamie fait augmenter son attirance relative pour cette odeur. En effet, en moyenne, selon les espèces non-cibles, les femelles expérimentées étaient 29,3% plus susceptibles de se diriger vers cette odeur que les femelles naïves. L'introduction de *C. typhae* en plein champ de maïs

accompagnée de résidus de maïs infesté par la sésamie (dont les chenilles ont été préalablement enlevées), pourra donc limiter l'attrance des guêpes pour les espèces non-cibles.

Par ailleurs, les espèces non-cibles à risque sont en décalage de phénologie avec la sésamie (Annexe II). Nos campagnes de collecte de chenilles non-cibles sur le terrain l'ont confirmé, puisque qu'à partir de la fin du mois de juin, la plupart sont au stade de chrysalide<sup>51</sup>. Nous avons pu vérifier ce phénomène, particulièrement visible pour les espèces sur *Typha* (73% de chrysalides pour les collectes effectuées entre le 1<sup>er</sup> et le 15 juillet), pour lesquelles le risque *in planta* est le plus élevé. A cette période, les larves de sésamie infestent fortement les jeunes plants de maïs. Nous pourrions donc envisager un lâcher de *C. typhae* à ce moment. La deuxième génération de *C. typhae* ne serait pas non plus susceptible de s'attaquer aux chenilles non-cibles car celles-ci seront toujours à l'état de chrysalides ou d'adultes.

Enfin, il est possible de prévenir l'installation d'espèces non-cibles par l'entretien des fossés de drainage en bordure de parcelle de maïs, car ces espèces hivernent sur les anciennes tiges desséchées de leurs plantes hôtes. Dans les régions infestées par la sésamie, il est aussi possible de faire un suivi sur le terrain quelques années après les premiers lâchers, afin d'évaluer leur impact environnemental.

### 3.6.5. Risque de compétition ou de substitution d'espèces dans l'environnement par action du macro-organisme

En Europe, *S. nonagrioides* a comme principal parasitoïde le diptère tachinaire *Lydella thompsoni*, qui est généraliste, trouvée fréquemment sur d'autres espèces de lépidoptères<sup>52</sup>. Même dans l'hypothèse où la sésamie serait complètement éliminée des champs de maïs suite au parasitisme par *C. typhae*, *L. thompsoni* continuera à se reproduire en dehors des champs. Nous l'avons trouvée fréquemment sur les espèces non-cibles collectées (sur *Typha* : 26% de chenilles parasitées, et 8% sur *Phragmites*). Les autres espèces de parasitoïdes rarement trouvées sur *S. nonagrioides*, mentionnés en partie 3.5 (*Peribaea tibialis*, *Exorista larvarum*, *Agrypon gracilipes*, *Nemorea pellucida*, *Sinophorus turionum*), disposent aussi d'autres hôtes potentiels en Europe de l'Ouest<sup>53-55</sup>.

### 3.6.6. Risque d'hybridation du macro-organisme avec des espèces, des souches ou des biotypes indigènes locaux

*C. typhae* ne produit pas de lignées hybrides viables avec ses autres espèces sœurs au sein du complexe *C. flavipes*<sup>2</sup>. Nous pouvons donc considérer que le risque d'hybridation est nul concernant les espèces hors de ce complexe, seules connues en Europe à ce jour.

### 3.6.7. Liste des parasitoïdes connus du macro-organisme dans son aire d'origine et risque d'introduction sur le territoire.

Des hyperparasitoïdes sont parfois observés sur le terrain (B. Le Rü, comm. pers.), mais aucune espèce associée à *C. typhae* n'ait été identifiée depuis sa description en 2015. Quelques parasitoïdes d'espèces du complexe *flavipes*, et notamment de *C. sesamiae* sont connus. Trois espèces d'hyperparasitoïdes s'attaquent à *C. sesamiae* : *Aprostocetus theioneurus* (Hymenoptera : Eulophidae), *Aphanogmus fijiensis* (Hymenoptera : Ceraphronidae), *Catolaccus crassiceps* (Hymenoptera : Pteromalidae)<sup>56</sup>. Cette dernière espèce est aussi capable de s'attaquer à *C. flavipes* et *C. glomerata*. Les chenilles hôtes et les cocons d'espèces du complexe *flavipes* sont les proies des fourmis et forficules (B. Le Rü, comm. pers.).

Toutefois, étant donné que les *C. typhae* à introduire proviennent d'un élevage, le risque d'introduction d'un hyperparasitoïde est nul dès lors qu'il n'est pas présent dans l'élevage. Durant 10 années d'élevage de *C. typhae* en laboratoire à Gif-sur-Yvette, aucun hyperparasitoïde n'a jamais été observé.

### 3.7. Autres risques

*Identifier et décrire les risques éventuels non listés auparavant.*

#### 3.7.1. Risque de transfert de matériel génétique de *C. typhae* à *S. nonagrioides* ou à des hôtes non-cibles :

Les virus sont connus pour être des vecteurs de transfert d'ADN à leurs hôtes<sup>57</sup>, et les insectes comprennent dans leur génome une grande diversité d'éléments viraux<sup>58</sup>.

*C. typhae* est un insecte impliqué dans une symbiose avec un bracovirus, virus polyDNA étant intégré au génome de certains genres de parasitoïdes de la famille des Braconidae et participant à contrer les défenses immunitaires des chenilles hôtes parasitées. Des particules virales, forme libre du virus, sont produites dans les ovaires des parasitoïdes, et sont injectées dans l'hôte durant l'oviposition<sup>59</sup>.

L'intégration d'ADN viral de *Cotesia* au sein du génome d'un hôte lépidoptère après oviposition a déjà été documentée au préalable, des événements d'intégration du génome viral de *Cotesia congregata* chez *Manduca sexta* se sont notamment produits indépendamment à de nombreuses reprises lors de parasitisme en laboratoire<sup>60</sup>.

Le même phénomène d'intégration du génome de bracovirus est fréquent entre *C. typhae* et *S. nonagrioides*<sup>61</sup>. Toutefois il n'a pas été retrouvé d'ADN de *C. typhae* chez les descendants de *S. nonagrioides* ayant survécu au parasitisme<sup>62</sup>, donc il n'y aurait pas de risque de modification durable du génome de la sésamie par *C. typhae*. Ce résultat est cohérent avec le fait qu'on ne retrouve pas d'ADN de *C. typhae* dans le génome de *S. nonagrioides* bien que cette espèce vienne d'Afrique où elle aurait été soumise au parasitoïde.

Au cours des tests de sensibilité des espèces non-cibles à *C. typhae*, de telles intégrations de gènes du parasitoïde ont été mises en évidence dans les chenilles de deux de ces espèces parasitées en laboratoire, *Nonagria typhae* et *Chilo phragmitella*<sup>62</sup>. Ces chenilles sont mortes des suites du parasitisme. La probabilité que des chenilles non-cibles résistent au parasitisme et forment des chrysalides a été estimée à 0,17% en moyenne (en utilisant la même approche que pour estimer le risque de mortalité de ces chenilles *in planta*), ce qui présage d'un très faible risque de transmission durable d'ADN de *C. typhae* à des espèces non-cibles.

#### 3.7.2. Estimation de l'indice de risque par la méthode de van Lenteren et al (2003)

D'après les données d'établissement potentiel, de dispersion et d'effet direct sur des espèces non-cibles, présentées ci-dessus, nous avons pu quantifier le risque relatif à l'introduction de *C. typhae* en France grâce à l'indice proposé par van Lenteren (2003)<sup>50</sup>. Cet indice permet de chiffrer le risque global, en tenant compte du risque d'établissement, de dispersion, du spectre d'hôtes (niveau taxonomique que l'hôte est capable d'attaquer), des effets directs et indirects sur les écosystèmes concernés (mortalité d'espèces non-cibles, provoquée de manière directe ou non). Chacun de ces risques est décliné en deux estimations, la première étant associée à une probabilité de l'événement, et la deuxième, à ses conséquences probables, chacune notée entre 1 (risque minimal) et 5 (risque massif). Le risque d'établissement tient compte de la probabilité de survie durant l'hiver, et du pourcentage d'habitats non ciblés où l'agent peut s'établir. Le risque de dispersion tient compte de la distance parcourue par l'agent introduit et du pourcentage d'agents se dispersant dans l'aire introduite. Le risque associé au spectre d'hôtes tient compte de la probabilité que l'agent parasite son spectre d'hôtes et de l'étendue taxonomique de celui-ci. Enfin, les risques d'effets directs ou indirects tiennent compte (i) de la mortalité, suppression ou extinction locale d'espèces non-cibles dû à un effet direct (prédation ou parasitisme) ou indirect (compétition ou hybridation) ; (ii) des conséquences pour les espèces potentiellement victimes de compétition.

Nous avons obtenu un risque global compris entre 20 et 31 (Annexe III A et B). Un indice inférieur à 35 est considéré comme faible<sup>49</sup>. Il s'agit donc d'une estimation de risque encourageante car plusieurs espèces utilisées avec succès dans le cadre du contrôle biologique en Europe présentent des indices de risque bien supérieurs (Annexe III C).

### 3.8. Efficacité et bénéfices du macro-organisme

**3.8.1. Indiquer les bénéfices attendus de l'utilisation du macro-organisme dans le contrôle de l'hôte cible (animal, plante...), en particulier : bénéfices y compris économiques de la stratégie, bénéfices environnementaux, bénéfices comparés aux stratégies existantes ;**

La sésamie du maïs est présente de façon permanente sur tout le pourtour méditerranéen, notamment en France, Espagne, Portugal, Italie, Grèce, où on estime à environ à 450.000 ha la surface touchée par ce foreur. Le pays le plus impacté est la France, avec 300.000 ha de maïs concernés par des attaques significatives de sésamie (induisant une perte de rendement quasiment chaque année), principalement dans le grand Ouest (Nouvelle-Aquitaine, Occitanie, sud des régions Pays de la Loire et Centre Val-de-Loire) et la vallée du Rhône. Les cultures attaquées sont notamment le maïs grain et le maïs semence dont respectivement 40% et 60% des surfaces cultivées en France se trouvent dans le Sud-Ouest. Par ailleurs, la sésamie étend progressivement chaque année son aire de répartition vers les régions plus septentrionales du fait du changement climatique.

Les dégâts causés aux maïs par ce foreur sont de plusieurs ordres : des pertes de pieds de maïs du fait des attaques de la 1<sup>ère</sup> génération, puis des pertes directes de rendement en raison de casses de tiges, de chute d'épis, de diminution du Poids de Mille Grains (PMG) et d'attaques directes sur épis, ainsi que des pertes de qualité de la récolte en raison des attaques en fin de cycle du maïs qui augmentent les risques de développement de *Fusarium* spp. producteurs de mycotoxines. Lorsque la pression du ravageur est importante, les dégâts peuvent entraîner une perte moyenne de rendement de 11% sur les maïs grain (à comparer à 7.6% pour la pyrale du maïs, autre foreur majeur du maïs), ce qui représente au prix actuel de cette céréale, une perte de chiffre d'affaires de l'ordre de 250 €/ha.

Actuellement, aucune solution de biocontrôle efficace n'est autorisée pour lutter contre la 2<sup>ème</sup> génération de ce ravageur, celle qui est la plus préjudiciable. Les cultures sont donc protégées contre la sésamie essentiellement avec des insecticides chimiques à base de pyréthrinoides ou d'Anthranilamide. Le coût actuel de cette protection insecticide chimique est évalué entre 25 et 50 €/ha (produit plus application). Ainsi, en considérant qu'un traitement insecticide efficace à 75% permet de réduire à minima de 50% les pertes dues au ravageur, en cas d'infestation importante, le gain brut serait de l'ordre de 125€/ha, et le gain net de 75 €/ha. La protection contre la sésamie est donc économiquement justifiée pour des niveaux de dégâts moyens à élevés. Nous pensons que la future solution de lutte biologique à base de *C. typhae* pourra être commercialisé à un prix proche de celui des spécialités chimiques les plus coûteuses, avec un niveau d'efficacité satisfaisant et un gain économique au moins équivalent.

Dans de grands bassins de production où la sésamie et la pyrale du maïs sont présents (grandes moitiés sud de la France, l'utilisation des *Trichogrammes*, efficaces uniquement contre la pyrale du maïs, ne s'est pas beaucoup développées car les agriculteurs privilégient des solutions ciblant les deux espèces. D'autre part, on observe que la sésamie du maïs devient, dans certains secteurs, plus préjudiciable que la pyrale. La conséquence, que nous voyons depuis les 3 dernières années, est un abandon forcé des lâchers de trichogrammes visant la pyrale du maïs dans ces secteurs, car les traitements chimiques contre la sésamie ne sont pas compatibles avec cette solution de biocontrôle. L'utilisation des *Trichogrammes*, réalisée chaque année sur environ 125000 ha de maïs en France (soit 25% des surfaces de maïs protégées) tend donc à régresser dans les régions d'extension de la sésamie. Il est donc particulièrement important de pouvoir proposer aux maïsiculteurs une solution de biocontrôle de la sésamie qui soit à la fois efficace et compatible avec les trichogrammes. Ainsi, l'utilisation de l'auxiliaire *C. typhae*, pourrait se faire conjointement aux lâchers de trichogrammes contre la pyrale du maïs car les deux ravageurs sont souvent présents ensembles dans les régions concernées par la sésamie.

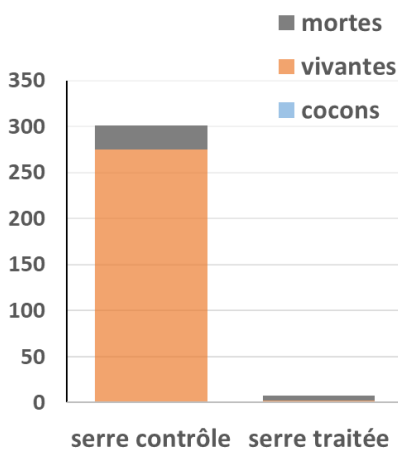
Le bénéfice de l'utilisation de ce nouvel auxiliaire serait donc double : il permettrait de réduire les surfaces traitées



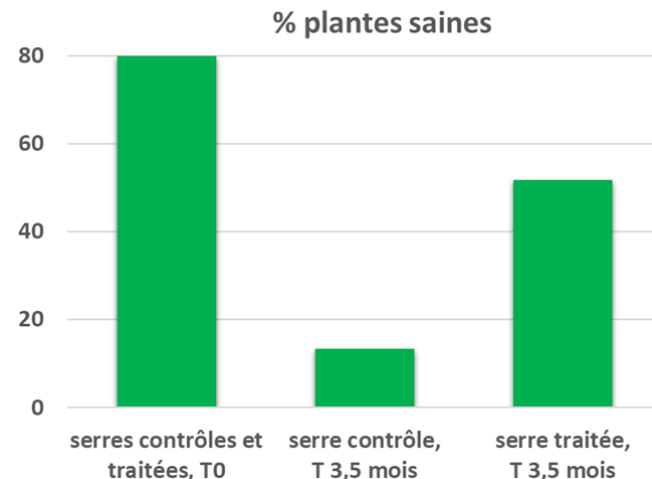
chimiquement contre la problématique sésamie, mais aussi d'augmenter l'utilisation des trichogrammes contre la pyrale du maïs, avec tous les avantages inhérents à ces méthodes de biocontrôle.

**3.8.2. Indiquer les éléments disponibles concernant l'efficacité : descriptif de la méthode employée pour déterminer l'efficacité, résultats des essais, synthèse de ces résultats.**

Quatre essais d'efficacité ont été menés en serre<sup>9</sup>. Chacun était basé sur la comparaison de deux serres de 96 m<sup>2</sup> chacune, hébergeant 240 pieds de maïs. Les sésamies étaient installées en nombre et stades contrôlés, de façon identique dans les deux serres. Chaque serre était organisée en quatre blocs contenant des peuplements identiques de plantes et de sésamies. Les deux premiers essais avaient pour objectifs d'estimer l'efficacité immédiate d'un lâcher en fonction de la température et de la dose de parasitoïdes. Les sésamies étaient introduites à trois stades larvaires préférés par les *Cotesia*, qui étaient introduites quelques jours après sous forme de cocons de nymphose d'où les adultes devaient sortir le lendemain. Le premier essai a montré que le parasitoïde était actif entre 15 et 25°C en serre, sans effet significatif de la température (plages thermiques 15-20°C et 20-25°C) ni du stade infesté, et le deuxième essai a montré que le taux de parasitisme des chenilles dépendait de la dose de parasitoïdes introduits. Un troisième et un quatrième essai ont été réalisés pour évaluer l'efficacité à plus long terme (3,5 mois). Pour cela les sésamies ont été introduites pour simuler l'étalement des stades d'une population de printemps : œufs et larves au 3<sup>e</sup> essai, chrysalides, œufs et jeunes larves au 4<sup>e</sup>. Une partie des plantes était laissée sans sésamie pour assurer de la ressource végétale pendant les 3,5 mois de développement des sésamies dans les serres. Les *Cotesia* étaient introduites également à différents stades afin de prolonger leur action : début et fin de nymphose, et adultes. Elles étaient introduites dans une seule serre, la seconde servant de témoin, pour estimer l'effet du lâcher de *C. typhae* en termes de réduction de la population de sésamies. L'essai n°3 a montré qu'une seule introduction du parasitoïde à différents stades suffisait à obtenir un taux de parasitisme stable de 58% en moyenne pendant les trois mois et demi de l'essai, au cours duquel s'est développée une génération de sésamie. Mais cet essai n'a pas permis d'estimer l'effet de *C. typhae* sur la population de sésamie, les populations des deux insectes ayant été trop diminuées par les prélèvements nécessaires au suivi du taux d'infestation. Un protocole amélioré pour l'essai n°4 a permis de supprimer presque en totalité la population de sésamies par *C. typhae* sur la même durée et de préserver significativement la qualité du maïs. En effet, durant ce dernier essai, la serre traitée a bénéficié d'une réduction de 98% de la population de sésamies par rapport à la serre contrôle et contenait quatre fois plus de plantes saines (Figure 9 et Figure 10). Cette action efficace et prolongée de *C. typhae* observée après un seul lâcher est très encourageante. Dans l'espoir d'une autorisation d'introduction de *C. typhae* dans l'environnement, des essais de lâcher du parasitoïde sont prévus en champs par la suite.



**Figure 10 :** Effet de *C. typhae* sur une serre infestée par *S. nonagrioides* 3,5 mois après un lâcher unique du parasitoïde. Le nombre de chenilles pour chaque



**Figure 9 :** Evolution du pourcentage de plantes saines selon le traitement (serre traitée) ou non (serre contrôle) par lâcher de *C. typhae*. Dans chaque serre, 20% des plans de maïs infestés par la sésamie ont été introduit initialement, T0 (80% de plantes saines). T 3,5 mois correspond à la fin de l'essai.

### 3.9. Conclusion : Balance risques/ bénéfiques et recommandations

La réalisation de nombreuses expérimentations durant plusieurs années, basées sur une solide connaissance de la biologie et l'écologie du parasitoïde et de son hôte, a produit un ensemble de données, confortées par des données bibliographiques sur des espèces sœurs, qui nous ont permis d'estimer par plusieurs approches que le risque environnemental lié à l'introduction de *C. typhae* en France serait très faible, et notamment inférieur au risque associé à d'autres agents de lutte biologique déjà introduits. Cette estimation est confortée par une étude faite en Afrique de l'Est plusieurs années après l'introduction de l'espèce sœur, *C. flavipes*, et dont les résultats indiquent que le parasitoïde est resté sur son hôte cible, en milieu cultivé et sauvage. Nous avons émis des recommandations qui permettraient de réduire encore ce très faible risque.

La situation actuelle de la protection du maïs contre la sésamie nécessite la mise au point d'une méthode de lutte biologique, aussi pour restaurer le recours aux trichogrammes contre la pyrale du maïs quand la culture est infestée par les deux espèces. Nos essais en serre ont montré un excellent potentiel de réduction d'une population de sésamies par une seule introduction de *C. typhae*. Une étude de marché indique que la solution peut être économiquement viable. Ainsi la balance entre les risques et les bénéfiques est nettement en faveur des bénéfiques. Des essais de lâchers au champ étant envisagés dans l'éventualité de l'autorisation d'introduction, dans le cadre d'un projet ANR Ecophyto-Maturation, où nous prévoyons de surveiller la propagation des *C. typhae* introduits, par une étude de leur dispersion, un échantillonnage de chenilles non-cibles présentes dans les zones de maïs traitées, pour voir si elles ont été parasitées, et un suivi de résidus de culture de maïs mis en cage extérieure après la récolte, pour rechercher la présence de cocons de *C. typhae* ou de sésamies parasitées, afin d'affiner la probabilité d'établissement. La stratégie de lutte biologique avec *C. typhae* est de pratiquer un seul lâcher annuel, ce qui facilitera ce suivi post-lâcher et les mesures à prendre si, bien que très peu probable, le risque s'avérait plus important que l'estimation faite ici.



## Bibliographie

1. Kaiser, L., Fernandez-Triana, J., Capdevielle-Dulac, C., Chantre, C., Bodet, M., Kaoula, F., Benoist, R., Calatayud, P.-A., Dupas, S., Herniou, E., et al. (2017). Systematics and biology of *Cotesia typhae* sp. n. (Hymenoptera, Braconidae, Microgastrinae), a potential biological control agent against the noctuid Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides*. *ZooKeys* 682, 105–136. 10.3897/zookeys.682.13016.
2. Kaiser, L., Le Ru, B.P., Kaoula, F., Paillusson, C., Capdevielle-Dulac, C., Obonyo, J.O., Herniou, E., Jancek, S., Branca, A., Calatayud, P.-A., et al. (2015). Ongoing ecological speciation in *Cotesia sesamiae*, a biological control agent of cereal stem borers. *Evol. Appl.* 8, 807–820. 10.1111/eva.12260.
3. Nixon, G.E.J. (1965). A reclassification of the tribe Microgasterini (Hymenoptera: Braconidae). *Bull Br Mus Nat HistEnt Suppl* 2, 1–284.
4. Mason, W.R.M. (1981). The polyphyletic nature of *Apanteles foerster* (Hymenoptera: Braconidae): a phylogeny and reclassification of microgastrinae. *Mem. Entomol. Soc. Can.* 113, 1–147. 10.4039/entm113115fv.
5. Sigwalt, B., and Pointel, J.C. (1980). Statut spécifique et séparation des *Apanteles* du sous-groupe *Flavipes* (Hym : Braconidae) utilisés en lutte biologique. *Ann. Société Entomol. Fr.* 16, 109–128.
6. Bressac, C., El Sabrou, A., Kifouche, F., Anne, M., Capdevielle-Dulac, C., Mougél, F., and Kaiser, L. (2023). Hot and cold waves decrease sperm production and bias sex ratio in the parasitoid wasp *Cotesia typhae* (hymenoptera, braconidae). *J. Insect Physiol en révision*.
7. Eman, G.D. (2007). Comparative studies of the influence of relative humidity and temperature on the longevity and fecundity of the parasitoid, *Cotesia flavipes*. *J. Insect Sci.* 7, 19.
8. Mutamiswa, R., Chidawanyika, F., and Nyamukondiwa, C. (2018). Comparative assessment of the thermal tolerance of spotted stem borer, *Chilo partellus* (Lepidoptera: Crambidae) and its larval parasitoid, *Cotesia sesamiae* (Hymenoptera: Braconidae): *C. partellus* and *C. sesamiae* thermal biology. *Insect Sci.* 25, 847–860. 10.1111/1744-7917.12466.
9. Fortuna, T., Ruiz, I., Manson, J., Jeannette, R., Peyhorgue, A., Thibord, J.-B., and Kaiser, L. (2022). Un nouvel auxiliaire pour une lutte biologique contre la sésamie du maïs : essais en serre. In *Phloème 2022*, pp. 65–73.
10. Ngi-Song, A.J., and Overholt, W.A. (1997). Host Location and Acceptance by *Cotesia flavipes* Cameron and *C. sesamiae* (Cameron)(Hymenoptera: Braconidae), Parasitoids of African Gramineous Stem Borers: Role of Frass and Other Host Cues. *Biol. Control* 9, 136–142.
11. Obonyo, M., Schulthess, F., Gerald, J., Wanyama, O., Rü, B.L., and Calatayud, P.-A. (2008). Location, acceptance and suitability of lepidopteran stem borers feeding on a cultivated and wild host-plant to the endoparasitoid *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). *Biol. Control* 45, 36–47. 10.1016/j.biocontrol.2007.11.010.
12. Obonyo, M., Schulthess, F., Le Ru, B., van den Berg, J., Silvain, J.-F., and Calatayud, P.-A. (2010). Importance of contact chemical cues in host recognition and acceptance by the braconid larval endoparasitoids *Cotesia sesamiae* and *Cotesia flavipes*. *Biol. Control* 54, 270–275. 10.1016/j.biocontrol.2010.05.015.
13. Ngi-Song, A.J., Njagi, P.G., Torto, B., and Overholt, W.A. (2000). Identification of behaviourally active components from maize volatiles for the stem borer parasitoid *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). *Int. J. Trop. Insect Sci.* 20, 181–189.
14. Potting, R.P.J., Overholt, W.A., Danso, F.O., and Takasu, K. (1997). Foraging behavior and life history of the stem borer parasitoid *Cotesia flavipes* (hymenoptera: Braconidae). *J. Insect Behav.* 10, 13.
15. Benoist, R., Paquet, S., Decourcelle, F., Guez, J., Jeannette, R., Calatayud, P.-A., Le Ru, B., Mougél, F., and Kaiser, L. (2020). Role of egg-laying behavior, virulence and local adaptation in a parasitoid's chances of reproducing in a new host. *J. Insect Physiol.* 120, 103987. 10.1016/j.jinsphys.2019.103987.
16. Jiang, N., Sétamou, M., Ngi-Song, A.J., and Omwega, C.O. (2004). Performance of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in parasitizing *Chilo partellus* (Lepidoptera: Crambidae) as affected by temperature and host stage. *Biol. Control* 31, 155–164. 10.1016/j.biocontrol.2004.06.002.
17. Mailafiya, D.M., Ru, B.P.L., Kairu, E.W., Calatayud, P.-A., and Dupas, S. (2010). Geographic distribution, host range and perennation of *Cotesia sesamiae* and *Cotesia flavipes* Cameron in cultivated and natural habitats in Kenya. *Biol. Control* 54, 1–8. 10.1016/j.biocontrol.2009.11.008.
18. Figueiredo, D., Araujo, J., and others (1996). Mortality factors of *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae) in Portugal. I. Parasitoids. *Bol. Sanid. Veg. Plagas* 22, 251–260.
19. Grenier, S., Anglade, P., Naibo, B., Galichet, P.F., and Hawlitzky, N. (1990). Enquête sur la répartition des tachninaires [Diptera: Tachnidae] parasitoïdes de la pyrale du maïs *Ostrinia nubilalis* [Lepidoptera: Pyralidae] en France (1985–87). *BioControl* 35, 485–491.

20. Monetti, L., Ordás Pérez, A., Malvar Pintos, R.A., and Cordero-Rivera, A. (2003). Parasitoids incidence and diversity on maize stem borers *Sesamia nonagrioides* Lefebvre and *Ostrinia nubilalis* Hubner in NW Spain.
21. Overholt, W.A. (2000). La lutte biologique. In Les foreurs des tiges de céréales en Afrique : importance économique, systématique, ennemis naturels et méthodes de lutte, A. Polaszek, D. Blary, and G. Delvare, eds. (Editions Quae), pp. 351–366.
22. Arrêté IDF-20 17-01-26-032 Cadre réglementaire des travaux menés sur à EGCE : arrêté IDF-20 17-01-26-032 de la Direction régionale et interdépartementale de l'alimentation, de l'agriculture et de la forêt ; Agrément de transfert de matériel signé entre l'ICIPE, l'IRD et le CNRS. Nagoya : Prior Informed Consent (PIC) et Mutual Agreement Terms (MAT) signés avec le Kenyan Wildlife Services (KWS).
23. Parra, J.R.P. (2014). Biological Control in Brazil: an overview. *Sci. Agric.* 71, 420–429. 10.1590/0103-9016-2014-0167.
24. Midingoyi, S.G., Affognon, H.D., Macharia, I., Ong'amo, G., Abonyo, E., Ogola, G., Groote, H.D., and LeRu, B. (2016). Assessing the long-term welfare effects of the biological control of cereal stemborer pests in East and Southern Africa: Evidence from Kenya, Mozambique and Zambia. *Agric. Ecosyst. Environ.* 230, 10–23. 10.1016/j.agee.2016.05.026.
25. ANR CoteBio (2018). Promouvoir une nouvelle espèce de *Cotesia* comme premier agent de lutte biologique contre la sésamie du maïs, un ravageur en recrudescence – CoteBio. <https://anr.fr/Projet-ANR-17-CE32-0015>.
26. Rousseau, D. (2009). Maïs : la sésamie progresse cap au nord, dans l'air marin et la douceur angevine : Progression de la sésamie dans les Pays-de-la-Loire : à gérer dans la région, à méditer ailleurs en France. *Phytoma* 622–23, 38–41.
27. Thibord, J.-B. (2017). Evaluation of crop losses due to pests on maize production in France. AFPP – 11e Conférence Int. Sur Ravag. Aux. En Agric. Montp., 11.
28. Galichet, P.-F., Magnin, H., Radisson, A., and Tavernier, J. (1982). Hibernation d'une population de *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lep., Noctuidae) en France méridionale. *Agronomie* 2, 561–566. 10.1051/agro:19820609.
29. Naino Jika, A.K., Le Ru, B., Capdevielle-Dulac, C., Chardonnet, F., Silvain, J.F., Kaiser, L., and Dupas, S. (2020). Population genetics of the Mediterranean corn borer (*Sesamia nonagrioides*) differs between wild and cultivated plants. *PLOS ONE* 15, e0230434. 10.1371/journal.pone.0230434.
30. NASA LaRC (2019). NASA POWER (Prediction of Worldwide Energy Resources). POWER Data Access Viewer (DAV) v2.0.0. <https://power.larc.nasa.gov>.
31. Fortuna, T., Anne, M., Le Gonnidec, M., Jeannette, R., Bressac, C., Rebaudo, F., Mougél, F., and Kaiser, L. (2023). Assessing the effects of low temperatures on the risk of establishment of the non-native biological control agent *Cotesia typhae*. *Biol. Control* en révision.
32. Smaniotto, G., Borges Filho, R. da C., Bernardi, D., Diez-Rodríguez, G.I., Afonso-Rosa, A.P.S., and Nava, D.E. (2019). Biology of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) Strains at Different Temperatures. *Environ. Entomol.* 10.1093/ee/nvz020.
33. Chardonnet, F., Capdevielle-Dulac, C., Chouquet, B., Joly, N., Harry, M., Le Ru, B., Silvain, J.-F., and Kaiser, L. (2014). Food searching behaviour of a Lepidoptera pest species is modulated by the foraging gene polymorphism. *J. Exp. Biol.* 217, 3465–3473. 10.1242/jeb.108258.
34. Mutamiswa, R., Machekano, H., Chidawanyika, F., and Nyamukondiwa, C. (2018). Thermal resilience may shape population abundance of two sympatric congeneric *Cotesia* species (Hymenoptera: Braconidae). *PloS One* 13, e0191840. 10.1371/journal.pone.0191840.
35. ARVALIS (2023). Sésamie - *Sesamia nonagrioides*. Fiches Accid. - Maïs.
36. Hassaine-Gillyboeuf Hassaine, N., and Cassier, P. (1994). Résistance au froid de la Sésamie: Aspects biochimiques et appliqués.
37. Le Masurier, A.D. (1991). Effect of host size on clutch size in *Cotesia glomerata*. *J. Anim. Ecol.* 60, 107. 10.2307/5448.
38. Botelho, P.S.M., Macedo, N., Mendes, A.C., and Silveira Neto, S. (1980). Aspects of the population dynamics of *Apanteles flavipes* (Cameron) and support capacity of its host *Diatraea saccharalis* (Fabr.). In Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists.
39. Omwega, C.O., Muchugu, E., Overholt, W.A., and Schulthess, F. (2006). Release and establishment of *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) an exotic parasitoid of *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Crambidae) in East and Southern Africa. *Ann. Société Entomol. Fr.* NS 42, 511–517. 10.1080/00379271.2006.10697486.
40. Bezemer, T.M., Harvey, J.A., Kamp, A.F., Wagenaar, R., Gols, R., Kostenko, O., Fortuna, T., Engelkes, T., Vet, L.E., and Van der Putten, W.H. (2010). Behaviour of male and female parasitoids in the field: influence of patch size, host density, and habitat complexity. *Ecol. Entomol.* 35, 341–351.
41. Sallam, M.N., Overholt, W.A., and Kairu, E. (2001). Dispersal of the exotic parasitoid *Cotesia flavipes* in a new

ecosystem. *Entomol. Exp. Appl.* 98, 211–217.

42. Morin, D. (2008). *Introduction to classical mechanics: with problems and solutions* (Cambridge University Press).
43. Quicke, D.L.J. (2014). *The braconid and ichneumonid parasitoid wasps: Biology, systematics, evolution and ecology* (John Wiley & Sons, Ltd) 10.1002/9781118907085.
44. Nafziger Jr, T.D., and Fadamiro, H.Y. (2011). Suitability of some farmscaping plants as nectar sources for the parasitoid wasp, *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae): effects on longevity and body nutrients. *Biol. Control* 56, 225–229.
45. Moyal, P., Tokro, P., Bayram, A., Savopoulou-Soultani, M., Conti, E., Eizaguirre, M., Le Rü, B., Avand-Faghieh, A., Frérot, B., and Andreadis, S. (2011). Origin and taxonomic status of the Palearctic population of the stem borer *Sesamia nonagrioides* (Lefèbvre) (Lepidoptera: Noctuidae): *Sesamia nonagrioides* out of Africa. *Biol. J. Linn. Soc.* 103, 904–922. 10.1111/j.1095-8312.2011.01666.x.
46. Calvelli, R. (1980). [Study of a *Sesamia nonagrioides* population in the Lower Provence (France). Research on a method of integrated control in maize].(French).
47. INPN (2023). Inventaire National du Patrimoine Naturel. <https://inpn.mnhn.fr/accueil/index>.
48. GBIF Global Biodiversity Information Facility. Accès Libre Ouvert Aux Données Sur Biodiversité. <https://www.gbif.org/fr/>.
49. Hoddé, P.M.-C. (2023). Les carnets du lépidoptériste français - Des papillons aux lépidoptères. Lepinet.fr. <https://www.lepinet.fr/>.
50. Van Lenteren, J.C., Babendreier, D., Bigler, F., Burgio, G., Hokkanen, H.M.T., Kuske, S., Loomans, A.J.M., Menzler-Hokkanen, I., Van Rijn, P.C.J., and Thomas, M.B. (2003). Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. *BioControl* 48, 3–38.
51. Oreina (2023). Les papillons de France. <https://oreina.org/>.
52. Galichet, P., Riany, M., Agounke, D., Tavernier, J., Cousin, M., Magnin, H., and Radisson, A. (1985). Bioecology of *Lydella thompsoni* Herting, [Dip. Tachinidae] within the Rhone Delta in Southern France. *Entomophaga* 30, 315–328.
53. Bratti, A., and Coulibaly, A.K. (1995). In vitro rearing of *Exorista larvarum* on tissue culture-based diets. *Entomol. Exp. Appl.* 74, 47–53.
54. Fuester, R., Drea, J., Gruber, F., Hoyer, H., and Mercadier, G. (1983). Larval parasites and other natural enemies of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) in Burgenland, Austria, and Würzburg, Germany. *Environ. Entomol.* 12, 724–737.
55. Camerini, G., Maini, S., and Riedel, M. (2018). *Ostrinia nubilalis* parasitoids in Northern Italy: Past and present. *Biol. Control* 122, 76–83.
56. Salle, J.L. (1993). *Aprostocetus (Ootetrastichus) theioneurus* (Masi) (Hymenoptera: Eulophidae): a hyperparasitoid on the cereal stem borer *Chilo partellus* (Lepidoptera: Pyralidae) in Africa. *Zool. Meded.* 67, 445–451.
57. Gilbert, C., and Cordaux, R. (2017). Viruses as vectors of horizontal transfer of genetic material in eukaryotes. *Curr. Opin. Virol.* 25, 16–22.
58. Gilbert, C., and Belliardo, C. (2022). The diversity of endogenous viral elements in insects. *Curr. Opin. Insect Sci.* 49, 48–55.
59. Jancek, S., Bézier, A., Gayral, P., Paillusson, C., Kaiser, L., Dupas, S., Le Ru, B.P., Barbe, V., Periquet, G., Drezen, J.-M., et al. (2013). Adaptive selection on bracovirus genomes drives the specialization of *Cotesia* parasitoid wasps. *PLoS ONE* 8. 10.1371/journal.pone.0064432.
60. Chevignon, G., Periquet, G., Gyapay, G., Vega-Czarny, N., Musset, K., Drezen, J.-M., and Huguet, E. (2018). *Cotesia congregata* bracovirus circles encoding *PTP* and *Ankyrin* genes integrate into the DNA of parasitized *Manduca sexta* hemocytes. *J. Virol.* 92, e00438-18, /jvi.92/15/e00438-18.atom. 10.1128/JVI.00438-18.
61. Muller, H., Chebbi, M.A., Bouzar, C., Périquet, G., Fortuna, T., Calatayud, P.-A., Le Ru, B., Obonyo, J., Kaiser, L., and Drezen, J.-M. (2021). Genome-wide patterns of bracovirus chromosomal integration into multiple host tissues during parasitism. *J. Virol.* 95, e00684-21.
62. Muller, H., Heisserer, C., Fortuna, T., Mougél, F., Huguet, E., Kaiser, L., and Gilbert, C. (2022). Investigating bracovirus chromosomal integration and inheritance in lepidopteran host and nontarget species. *Mol. Ecol.* 31, 5538–5551.

**Annexe I : Résultats des tests en laboratoire sur les espèces non-cibles apparentées et non apparentées à *S. nonagrioides* (cible) et estimation des risques de développement de *C. typhae* et de mortalité des espèces non-cibles et cible.**

Espèces non-cibles apparentés :	Acceptation (A)	Développement du parasitoïde (D)	Mortalité de l'hôte sans développement du parasitoïde (groupe parasité) (Mp)	Mortalité des hôtes non parasités (groupe contrôle) (Mc)	Mortalité totale liée au parasitisme $Mt=(D+Mp)-Mc$	Préférence olfactive pour l'odeur non cible / cible, par des femelles naïves (PoN) ou expérimentées (PoE)	Parasitisme <i>in planta</i> en conditions de choix (PP)	Risque de développement par étape $A^*D^*PoN$ ; $A^*D^*PoE$	Risque de mortalité par étape $A^*Mt^*PoN$ ; $A^*Mt^*PoE$	Risque de développement <i>in planta</i> $D^*PP$	Risque de mortalité <i>in planta</i> $Mt^*PP$
<i>Archana neurica</i>	89% (n=19)	29% (n=17)	71% (0% de chrysalides) (n= 17)	7% (93% de chrysalides) (n=15)	93%	Naïves : 30% (n=31) Expérimentées : 0% (n=16)	0% (n=16)	10.1% ; 0.0%	32.3% ; 0.0%	0.0%	0.0%
<i>Lenisa geminipuncta</i>	38% (n=93)	14% (n=35)	71% (14% de chrysalides) (n= 35)	74% (26% de chrysalides) (n=47)	11%	Naïves : 72% (n=36)	11% (n=19)	3.8% ; NA	3.0% ; NA	1.5%	1.2%
<i>Nonagria typhae</i>	49% (n=156)	5% (n=61)	79% (16% de chrysalides) (n=61)	59% (41% de chrysalides) (n=69)	25%	Naïves : 54% (n=46) Expérimentées : 32% (n=19)	38% (n=16)	1.3% ; 0.8%	6.6% ; 3.9%	1.9%	9.5%
<i>Coenobia rufa</i>	27% (n=26)	0% (n=7)	100% (0% de chrysalides) (n=7)	55% (45% de chrysalides) (n=11)	45%	Naïves : 29% (n=14)	NA	0.0%	3.5% ; NA	NA	NA
<i>Globia sparganii</i>	66% (n=70)	0% (n=55)	89% (11% de chrysalides) (n=55)	77% (23% de chrysalides) (n=52)	12%	Naïves : 64% (n=36) Expérimentées : 8% (n=13)	25% (n=16)	0.0% ; 0.0%	5.1% ; 0.6%	0.0%	3.0%
<b>moyenne</b>								<b>3.0% ; 0.2%</b>	<b>10.1% ; 2.3%</b>	<b>0.9%</b>	<b>3.40%</b>
<b>Espèces non-cibles non apparentés :</b>											
<i>Ostrinia nubilalis</i>	0% (n=50)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.0%	0.0%	NA	NA
<i>Chilo phragmitella</i>	8% (n=39)	44% (n=16)	50% (6% de chrysalides) (n=16)	35% (65% de chrysalides) (n=26)	59%	Naïves : 33% (n=24) Expérimentées : 33% (n=12)	NA	1.2% ; 1.2%	1.6% ; 1.6%	NA	NA
<i>Orthotelia sparganella</i>	16% (n=73)	0% (n=12)	83% (17% de chrysalides) (n=12)	56% (44% de chrysalides) (n=18)	27%	Naïves : 13% (n=15)	NA	0.0%	0.6% ; NA	NA	NA
<b>moyenne</b>								<b>0.4% ; 0.4%</b>	<b>0.7% ; 0.8%</b>	<b>NA</b>	<b>NA</b>
<b>Espèce cible :</b>											
<i>Sesania nonagrioides</i>	91% (n=123)	70% (n=43)	14% (16% de chrysalides) (n=43)	0% (100% de chrysalides) (n=12)	84%	Naïves : 57% (n=220) Expérimentées 82% (n=58)	35% (n=65)	36.3% ; 52.2%	43.6% ; 62.7%	24.5%	29.4%



## Annexe II : Liste des espèces non-cibles

Espèces non-cibles*	Plante hôte	Distance génétique avec la sésamie (1)	Nombre de départements ou l'espèce a été trouvée (2)	Nombre d'individus trouvés/d'élevage (3)	Nombre de générations par an	Stade diapausant	Présence du stade larvaire
<b>Nonagrie rubanée*</b> ( <i>Archana dissoluta</i> )	<i>Phragmites australis</i>	0,016	50	6 / 0	1	œuf	mi-avril à mi-juillet
<b>Nonagrie neurique*</b> ( <i>Archana neurica</i> )	<i>P. australis</i> et <i>Phalaris sp</i>	0,019	12	24 / 50	1	œuf	mi-avril à fin mai
<b>Nonagrie des marais*</b> ( <i>Lenisa geminipuncta</i> )	<i>P. australis</i>	0,021	54	63 / 82	1	œuf en Europe du sud et de l'Ouest, larvaire en Europe centrale	mi-avril à mi-juillet
<b>Nonagrie de la massette*</b> ( <i>Nonagria typhae</i> )	<i>Typha latifolia</i> et <i>Typha angustifolia</i>	0,024	67	539 / 0	1	œuf en Europe du sud et de l'Ouest, larvaire en Europe centrale	début avril à fin juin
<b>Noctuelle ophiogramme</b> ( <i>Laterologia ophiogramma</i> )	<i>Phalaris sp, P. australis, Glyceria sp</i>	0,024	76	0 / 0	1	larve	début août à fin mai
<b>Nonagrie soulignée</b> ( <i>Protarchanara brevilinea</i> )	<i>P. australis</i>	0,026	3	2 / 0	1	œuf	début avril à mi-juin
<b>Nonagrie rougeâtre*</b> ( <i>Coenobia rufa</i> )	<i>Juncus sp</i>	0,029	54	29 / 0	1	larve	début août à fin mai
<b>Noctuelle du roseau</b> ( <i>Rhizedra lutosa</i> )	<i>P. australis</i>	0,029	76	1 / 0	1	œuf	début avril à fin juillet
<b>Nonagrie du Rubanier*</b> ( <i>Globia sparganii</i> )	<i>Typha spp (T. angustifolia et T. latifolia), Iris pseudacorus, Sparganium spp</i>	0,031	59	235 / 0	1	œuf en Europe du sud et de l'Ouest, larvaire en Europe centrale	début mai à mi-août
<b>Nonagrie des Laiches</b> ( <i>Denticucullus pygmina</i> )	<i>Carex sp, Juncus sp, Typha sp, Glyceria sp</i>	0,032	80	0 / 0	1	larve	début septembre à fin mai
<b>Leucanie paillée</b> ( <i>Mydiumna straminea</i> )	<i>P. australis, Phalaris sp, Carex sp, Typha spp</i>	0,039	72	1 / 0	1	larve	début août à mi-mai
<b>Pyrale du maïs*</b> ( <i>Ostrinia nubilalis</i> )	<i>Zea mays</i>	0,052	87	0 / 50	1 / 2	larve	début juin à fin avril
<b>Chilo du roseau*</b> ( <i>Chilo phragmitella</i> )	<i>Phragmites australis, Glyceria maxima</i>	0,058	56	151 / 0	1 tous les 2 ans	larve (2 ans)	début août à mi-juin
<b>Orthotelia sparganella*</b>	<i>Sparganium erectum</i>	0,068	8	87 / 0	1 ?	œuf	début mai à fin juin

\* Espèces testées pour leur permmissivité au parasitisme par *C. typhae*

(1) Distance génétique établie en fonction du nombre de substitutions par site pour le marqueur CO1 (analyses basées sur le modèle de Kimura à 2 paramètres (Kimura, 1980))

(2) d'après le site Lepinet.fr et le site de l'IPGN

(3) Trouvé en France lors des campagnes de terrain et d'élevage du CABI Suisse (Délémont)

**Annexe III A) Définition de chaque risque et des données prises en compte dans l'estimation d'indice de risque.** Cette méthodologie d'évaluation des risques, a été développée par van Lenteren et al (2003)<sup>50</sup>, et prend en compte tous les effets néfastes concevables de l'agent de biocontrôle, tels que les effets directs et indirects sur les organismes non-cibles et les effets néfastes sur l'environnement. Cinq groupes de risques sont liés au lâcher d'agents de biocontrôle exotiques : établissement, dispersion, spécificité de l'hôte, effets directs et effets indirects non-cibles. Le risque d'effets néfastes du lâcher d'un agent de biocontrôle est le produit de l'impact de la vraisemblance (probabilité) et de l'impact de l'amplitude (conséquence).

A)		Etablissement	Dispersion	Gamme d'hôtes	Effets directs	Effets indirects
Probabilité	Définition	Probabilité de survie en l'hiver et disponibilité de refuges	Distance parcourue par introduction (tenir compte du nombre de générations par saison). Détermination de la courbe de dispersion (10, 100 et 1000 m) à 50% de la durée de vie	La propension à atteindre sa gamme d'hôtes écologiques dans la zone de lâcher	Echelle qualitative d'effets directs : très improbable (1), peu probable (2), possible (3), probable (4), très probable (5)	Echelle qualitative d'effets indirects : très improbable (1), peu probable (2), possible (3), probable (4), très probable (5)
	Estimation	Risque d'établissement très improbable (1) : seulement 3% des hivers permissifs (température > 10°C) dans les zones de lâcher	Dispersion de < 1000 m (3) : Données théoriques pour <i>C. typhae</i> prenant en compte le taux de dispersion d'autres espèces de <i>Cotesia</i> ( <i>C. flavipes</i> , <i>C. glomerata</i> )	3 espèces non-cibles à risque (2)	Effets directs possibles (3)	Effets indirects très improbables (1), improbables (2) ou possibles (3)
Conséquence	Définition	Pourcentage d'habitat non-cible où l'agent de biocontrôle peut s'établir	Pourcentage d'agent de biocontrôle lâché se dispersant de la zone ciblée	Gamme de taxons attaqués par l'agent de biocontrôle	Mortalité, suppression ou extinction locale d'organismes non cibles affectés directement	Mortalité, suppression ou extinction locale des espèces non cibles indirectement influencées par l'agent de biocontrôle
	Estimation	Local (transitoire dans le temps et dans l'espace) (1) : 3 spp à risque ont une génération par an et passe l'hiver au stade oeuf	Dispersion de < 10 % (3) : Etablissement de <i>C. flavipes</i> et <i>C. sesamiae</i> dans le milieu naturel (5% et 6%) après utilisation comme agents de biocontrôle	Famille (3) : les 3 espèces non-cibles à risque sont Noctuidae	Risque moyen de mortalité des chenilles des espèces non-cibles varie entre < 5% (1) et < 40% (2)	Effets indirects inconnus, mais estimés faibles à moyens (1-3)

**Annexe III cont. B) Estimation de l'indice de risque du parasitoïde *Cotesia typhae* comme agent potentiel de biocontrôle de la sésamie aux champs en France ; C) Indices de risque des espèces de parasitoïdes introduites et commercialisées comme agents de biocontrôle en Europe (van Lenteren et al 2003<sup>50</sup>), ayant un indice supérieur à 31, limite supérieure de l'indice déterminé pour *C. typhae*.**

**B)**

	Etablissement	Dispersion	Spectre d'hôtes	Effets directs	Effets indirects	Indice de risque (somme de P x C's)
<b>Probabilité ( P )</b>	1	3	2	3	1-3	
<b>Consequence ( C )</b>	1	3	3	1-2	1-3	<b>20-31</b>
<b>P x C</b>	1	9	6	3-6	1-9	

**C)**

Agent de biocontrôle	Famille	Aire de lâcher	Usage	Indice de risque
<i>Trichopoda pennipes</i>	Tachinidae	Italy	champs	61
<i>Lysiphlebus testaceipes (Cuba)</i>	Braconidae	Europe	champs	67
<i>Trichogramma brassicae</i>	Trichogrammatidae	Switzerland	champs	73
<i>Encarsia pergandiella</i>	Aphelinidae	Italy	champs	73
<i>Cales noacki (Chile)</i>	Aphelinidae	Europe	champs	87