

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

Normes OEPP EPPO Standards

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

PM 7/19



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

Approval

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

Review

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

Amendment record

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

Distribution

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

Scope

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

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

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

The use of names of chemicals or equipment in these EPPO Standards implies no approval of them to the exclusion of others that may also be suitable.

References

EPPO/CABI (1996) *Quarantine Pests for Europe*, 2nd edn. CAB International, Wallingford (GB).

Approbation

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

Révision

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

Enregistrement des amendements

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

Distribution

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

Champ d'application

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

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

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

L'utilisation de noms de produits chimiques ou de matériel dans ces Normes OEPP n'implique aucune approbation particulière et n'exclut pas l'utilisation d'autres produits chimiques ou matériel adéquats.

Références

EPPO/CABI (1996) *Organismes de Quarantaine pour l'Europe* (2ème edn). CAB International, Wallingford (GB).

EU (2000) Council Directive 2000/29/EC of 8 May 2000 on protective measures against the introduction into the Community of organisms harmful to plants or plant products and against their spread within the Community. *Official Journal of the European Communities* L169, 1–112.

FAO (1997) *International Plant Protection Convention* (new revised text). FAO, Rome (IT).

IPPC (1993) *Principles of Plant Quarantine as related to International Trade*. ISPM no. 1. ISPM Secretariat, Rome (IT).

IPPC (1999) *Glossary of Phytosanitary Terms*. ISPM no. 5. IPPC Secretariat, FAO, Rome (IT).

OEPP/EPPO (1999) EPPO Standards PM 1/2(8) EPPO A1 and A2 lists of quarantine pests. In: *EPPO Standards PM1 General Phytosanitary Measures*, pp. 5–17. OEPP/EPPO, Paris (FR).

Definitions

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

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

Outline of requirements

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

Existing EPPO Standards in this series

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

PP 7/1 (1) *Ceratocystis fagacearum*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 41–44

PP 7/2 (1) Tobacco ringspot nepovirus. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 45–51

PP 7/3 (1) *Thrips palmi*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 53–60

PP 7/4 (1) *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 61–69

PP 7/5 (1) *Nacobbus aberrans*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **31**, 71–77

PP 7/6 (1) *Chrysanthemum stunt pospiviroid*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **32**, 245–253

PP 7/7 (1) *Aleurocanthus spiniferus*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **32**, 255–259

PP 7/8 (1) *Aleurocanthus woglumi*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **32**, 261–265

PP 7/9 (1) *Cacoecimorpha pronubana*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **32**, 267–275

PP 7/10 (1) *Cacysus marshalli*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **32**, 277–279

PP 7/11 (1) *Frankliniella occidentalis*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **32**, 281–292

PP 7/12 (1) *Parasaissetia nigra*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **32**, 293–298

PP 7/13 (1) *Trogoderma granarium*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **32**, 299–310

CIPV (1993) *Principes de Quarantaine Végétale liés au Commerce International*. NIMP no. 1. Secrétariat de la CIPV, FAO, Rome (IT).

CIPV (1999) *Glossaire des Termes Phytosanitaires*. NIMP no. 5. Secrétariat de la CIPV, FAO, Rome (IT).

FAO (1997) *Convention Internationale pour la Protection des Végétaux* (nouveau texte révisé). FAO, Rome (IT).

OEPP/EPPO (1999) Normes OEPP PM 1/2(8) Listes A1 et A2 d'organismes de quarantaine de l'OEPP. In: *Normes OEPP PM1 Mesures Phytosanitaires Générales*, pp. 5–17. OEPP/EPPO, Paris (FR).

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

Définitions

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

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

Vue d'ensemble

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

Normes OEPP déjà existantes dans cette série

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

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

Helicoverpa armigera

Specific scope

This standard describes a diagnostic protocol for *Helicoverpa armigera*.

Specific approval and amendment

First approved in 2002-09.

Champ d'application spécifique

Cette norme décrit un protocole de diagnostic pour *Helicoverpa armigera*.

Approbation et amendement spécifiques

Première approbation en 2002-09.

Introduction

The caterpillars of the noctuid *Helicoverpa armigera* are polyphagous. They feed primarily on ornamental plants and flowers, and several economically important crops are also hosts, including cotton, flax, maize, potato, sorghum, tomato and *Phaseolus* spp. Fruits, leaves, shoots and flower buds may be consumed by larvae. *H. armigera* is widely distributed in the Old World, in tropical and subtropical areas, in Africa, Asia, Australia, Pacific Islands and New Zealand, and also in the Mediterranean region and the Middle East (EPPO/CABI, 1997).

Identity

Name: *Helicoverpa armigera* (Hübner)

Synonyms: *Heliothis armigera* Hübner

Heliothis fusca Cockerell

Chloridea armigera Hübner

Noctua armigera Hübner

Taxonomic position: Insecta: Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae

Bayer computer code: HELIAR

Phytosanitary categorization: EPPO A2 list no. 110; EU annex designation: I/A2

Detection

Trade in ornamental plants and cut flowers provides a good pathway for spread of this pest. Larvae may feed internally in fruits and vegetables, making detection difficult, but larvae may be found near boreholes in fruits and flowers. External feeding damage by later instars is readily detected. Plant material should be inspected carefully to detect eggs because of their small size and because they are laid singly. Adult males can be captured using specific pheromone traps and adults of both sexes can be captured in light traps.

Introduction

Les chenilles de la noctuelle *Helicoverpa armigera* sont polyphages. Elles s'alimentent principalement sur les plantes ornementales et les fleurs, mais plusieurs cultures importantes du point de vue économique sont également des hôtes, parmi lesquelles le coton, le lin, le maïs, la pomme de terre, le sorgho, la tomate et *Phaseolus* spp. Les fruits, feuilles, pousses et bourgeons floraux peuvent être consommés par les larves. *H. armigera* est largement répandu dans l'Ancien Monde, dans les zones tropicales et subtropicales, en Afrique, Asie, Australie, îles du Pacifique et Nouvelle-Zélande, ainsi que dans la région méditerranéenne et au Moyen-Orient (EPPO/CABI, 1997).

Identité

Nom: *Helicoverpa armigera* (Hübner)

Synonymes: *Heliothis armigera* Hübner

Heliothis fusca Cockerell

Chloridea armigera Hübner

Noctua armigera Hübner

Classement taxonomique: Insecta: Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae

Code informatique Bayer: HELIAR

Catégorisation phytosanitaire: Liste A2 de l'OEPP no. 110; Désignation Annexe UE I/A2

Détection

Le commerce des plantes ornementales et des fleurs coupées constitue une bonne filière de dispersion de ce ravageur. Les larves peuvent s'alimenter à l'intérieur des fruits et des légumes, rendant la détection difficile, mais elles peuvent parfois se trouver à proximité de trous visibles sur les fruits et les fleurs. Les dégâts dus à l'alimentation externe des stades larvaires plus âgés est facilement détectable. Le matériel végétal doit être inspecté soigneusement pour détecter les oeufs qui sont petits et pondus isolément. Les mâles adultes être capturés grâce à des pièges à phéromone spécifiques. Les adultes des deux sexes peuvent être capturés en utilisant des pièges lumineux.

Identification

Helicoverpa armigera belongs to a complex of closely related species. To identify this species, it is often necessary to dissect the genitalia.

Eggs are small (0.5 mm), subspherical (Toguebaye & Couilloud, 1982).

Larvae are yellowish-white to reddish-brown in the early instars and appear spotted because the setae above the spiracular line are on raised black pinacula and because of the dark rims of the spiracles (which are often black). In late instars, spiracular lines are yellow/white, and spiracles are typically white with black rims. Above the spiracular line, there are irregular white striations while, below the spiracular line, the integument is sprinkled with white dots. The mid-dorsal line is broad, dark brown or black. The setae above the spiracular line are on raised black or dark brown pinacula; the setae below the spiracular line are less conspicuous, of similar colour to the integument. The body is covered with cuticular spinules. The eighth abdominal segment is often expanded to form a slight hump. The first abdominal segment may also be slightly humped. The thoracic and anal plates are often the same colour as the integument, but sometimes the thoracic plate is darker with distinct maculation. Thoracic legs are brown. The prolegs are the same colour as the body. Dorsal hairs just behind the head are transparent; sometimes all the dorsal hairs are transparent. Colour is extremely variable, ranging from shades of green, straw-yellow, black, pink or reddish-brown. Fully grown larvae are 30–40 mm long (see keys and illustrations in Appendix I). For keys of larvae of Heliiothinae from Europe, see Beck (1999).

Pupae are 14–20 mm long, smooth and mahogany-brown in colour. The cremaster is very short and rounded with two long tapering spines which are almost parallel. It has a slight basal prominence and tubercles are always distinctively present.

The adults have a wing span of 35–40 mm and a stout body, 14–18 mm long. The forewings of both sexes have a line of seven or eight black spots on the margin. The hindwings of both sexes are cream in colour with a dark-brown outer-marginal band.

Larvae and adults cannot usually be distinguished from other species of the complex using external characteristics alone.

Comparison with similar species

Helicoverpa armigera can be confused with three very similar major pest species of the subfamily Heliiothinae: *H. zea* Boddie (an American species), *H. punctigera* Wallengren (an Australian species) and *Heliiothis peltigera* Denis & Schiffermüller. For a classification of Heliiothinae, see Matthews (1991). There are no reliable characters to enable the separation of larvae of *H. armigera* from those of *H. zea* and *H. punctigera*. However, identification can be based to a certain extent on the country of origin since *H. armigera* is restricted to the Old World and *H. zea* to the New World. *H. punctigera* is endemic in Australia where it can be confused with *H. armigera*. *H. peltigera* has a similar distribution to that of *H. armigera*, but a combination of characters can be used to distinguish larvae and pupae of these two species (for more details, see Appendix I and Sannino *et al.*, 1996). Without experience or voucher specimens, larval and pupal identification may not be reliable. If in doubt, dissections of male or female genitalia should, where possible, be performed [see keys in Appendix II and male genitalia illustrations in Appendix III. For figures, see Hardwick

Identification

Helicoverpa armigera appartient à un complexe d'espèces étroitement apparentées. Pour identifier cette espèce, il est souvent nécessaire de disséquer les génitalia.

Les oeufs sont petits (0,5 mm) et hémisphériques (Toguebaye & Couilloud, 1982).

Les larves des premiers stades sont blanc-jaunâtre à brun-rougeâtre et apparaissent marquées de points car les soies situées au-dessus de la ligne de stigmates sont portées sur des pinacula surélevés et car les bords des stigmates sont foncés (et les stigmates souvent noirs). Chez les derniers stades, les lignes de stigmates sont jaune/blanc, les stigmates étant généralement blancs avec des bords noirs. Au-dessus de la ligne de stigmates, on peut observer des stries blanches irrégulières, et en-dessous de la ligne de stigmates, le tégument est moucheté de points blancs. La bande dorsale centrale est large et de couleur brun foncé à noir. Les soies implantées au-dessus de la ligne de stigmates sont portées sur des pinacula surélevés noirs ou brun foncé, tandis que les soies situées en-dessous sont moins visibles, et de la même couleur que le tégument. Le corps est couvert de spinules cuticulaires. Le huitième segment abdominal est parfois allongé et forme une petite bosse. Le premier segment abdominal est également parfois légèrement bossu. Les plaques thoracique et anale sont souvent de la même couleur que les téguments, la plaque thoracique étant parfois plus sombre avec une moucheture distincte. Les pattes thoraciques sont brunes et les pattes abdominales sont de la même couleur que le corps. Les poils dorsaux situés juste derrière la tête, et parfois tous les poils dorsaux, sont transparents. La couleur varie énormément, de différents tons de vert à jaune paille, noir, rose ou brun rougeâtre. Les larves à maturité mesurent 30–40 mm de longueur (voir les clés et illustrations à l'Appendice I). Pour les clés des larves d'*Heliiothinae* d'Europe, voir Beck (1999).

Les chrysalides mesurent 14–20 mm de longueur; elles sont lisses et de couleur acajou. Le crémaster est très court et arrondi avec deux longues épines effilées presque parallèles. Il possède une petite proéminence basale et les tubercules sont toujours présents et distincts.

Les adultes ont une envergure de 35–40 mm, et un corps trapu de 14–18 mm de longueur. Les ailes antérieures des deux sexes présentent une ligne de 7 ou 8 taches noires sur leur marge. Les ailes postérieures des deux sexes sont crème avec une bande marginale externe brun foncé.

Les larves et les adultes ne peuvent généralement pas être distingués des autres espèces du complexe uniquement à partir de caractères externes.

Comparaison avec des espèces similaires

Helicoverpa armigera peut être confondu avec trois ravageurs majeurs de la sous-famille des Heliiothinae: *Helicoverpa zea* Boddie (espèce américaine), *H. punctigera* Wallengren (espèce australienne) et *Heliiothis peltigera* Denis & Schiffermüller. Matthews (1991) donne une classification des Heliiothinae. Il n'existe aucun caractère fiable permettant de distinguer les larves d'*H. armigera* de celles d'*H. zea* et *H. punctigera*. Cependant, l'identification peut se baser dans une certaine mesure sur le pays d'origine, car *H. armigera* est limité à l'Ancien Monde et *H. zea* au Nouveau Monde. *H. punctigera* est endémique en Australie et peut être confondu avec *H. armigera*. *H. peltigera* partage une répartition géographique similaire à celle d'*H. armigera* mais une combinaison de caractères peut être utilisée pour distinguer les larves et les chrysalides de ces deux espèces (pour plus de détails, voir l'Appendice I et Sannino *et al.* 1996). Sans expérience ou en l'absence de collections de référence, l'identification des larves ou des chrysalides peut ne pas être fiable. En cas de doute, des dissections des génitalia des mâles ou des femelles doivent, si possible,

(1965), Pierce (1952) and Pierce (1909). For genitalia preparation, see Robinson (1976) and Cribb (1972)]. Male genitalia of several species of Noctuidae present in Europe (*Heliothis maritima*, *Heliothis nubigera*, *Heliothis ononis*, *Heliothis peltigera* and *Heliothis virescens*) are illustrated in Appendix III. For complete genitalia of *Helicoverpa punctigera*, see Matthews (1999). Greenstone *et al.* (1991) separated *H. armigera*, *H. zea* and *H. punctigera* using monoclonal antibodies; see also Trowell *et al.* (1993).

Requirements for a positive diagnosis

The procedures for detection and identification described in this protocol should have been followed.

If larval or pupal identification is performed, comparison should be made with voucher specimens. Dissections of male or female genitalia should correspond with the published descriptions and/or voucher specimen.

Report on the diagnosis

A report on the execution of the protocol should include:

- information on the origin of the infested material, with comments as appropriate on its relationship with the existing geographical distribution of *H. armigera*;
- measurements and drawings or photographs of the morphological features required for a positive diagnosis;
- an indication of the magnitude of the infestation (how many individual pests found; how much damaged tissue);
- comments on the certainty or uncertainty of the identification.

Preserved/mounted specimens may also be required.

APPENDIX I

Diagnosis of last instar larvae of *Helicoverpa armigera*

The following characters distinguish the larva of *H. armigera* as a noctuid (Sannino *et al.*, 1995):

- no particular process present on the VIII urotergite
 - body with few, short setae, inserted singly on the integument
 - 3 or 5 pairs of prolegs present on either V, VI and X abdominal segment or III, IV, V, VI and X
 - ambulacral crochets arranged on the prolegs in the form of an arch. On the prothoracic plate there are 8 setae. Larvae 20–70 mm long.
- Within the *Noctuidae*, the following characters distinguish the species *H. armigera*:
- 5 pairs of prolegs on III, IV, V, VI and X abdominal segment
 - spiracles more or less clear (white, yellow, beige, dark ochre)
 - absence of dark, brown, linear or subtriangular spots along the body
 - abdominal prolegs of uniform, clear colour
 - suprastigmal fascia absent or, if present, without markings. No whitish spots post-stigmatically
 - pinacula clear or colourless or, if black, very prominent and tuberculiform
 - body covered with minute cuticular spinules (obvious) (Fig. 3). Pinacula black and prominent or clear and less obvious

être faites; voir les clés à l'Appendice II et les illustrations des génitalia du mâle à l'Appendice III. Pour des illustrations, voir Hardwick (1965), Pierce (1952) et Pierce (1909). Pour les préparations de génitalia, voir Robinson (1976) et Cribb (1972). Les génitalia des mâles de plusieurs espèces de Noctuidae présentes en Europe (*Heliothis maritima*, *Heliothis nubigera*, *Heliothis ononis*, *Heliothis peltigera* et *Heliothis virescens*) sont illustrées à l'Appendice III. Pour les génitalia complets d'*Helicoverpa punctigera*, voir Matthews (1999). Greenstone *et al.* (1991) a séparé *H. armigera*, *H. zea* et *H. punctigera* avec des anticorps monoclonaux; voir également Trowell *et al.* (1993).

Exigences pour une identification positive

Les procédures de détection et d'identification décrites dans ce protocole doivent avoir été suivies.

Si une identification des larves ou des chrysalides est réalisée, une comparaison doit être faite avec des spécimens de collections de référence. Les dissections des génitalia de mâle ou de femelle doivent correspondre aux descriptions publiées et/ou aux spécimens de collections de référence.

Rapport sur le diagnostic

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

- des informations sur l'origine du matériel infesté, avec des commentaires le cas échéant par rapport à la répartition géographique actuelle d'*H. armigera*;
- des mesures et des dessins ou photographies des caractères morphologiques nécessaires pour un diagnostic positif;
- une indication de l'étendue de l'infestation (nombre d'individus trouvés, quantité de tissu végétal endommagé);
- des commentaires sur les certitudes ou les doutes relatifs à l'identification.

Des spécimens conservés/montés peuvent également être exigés.

APPENDICE I

Diagnostic du dernier stade de *Helicoverpa armigera*

Les caractères suivants permettent de distinguer la larve de *H. armigera* comme appartenant à la famille des noctuelles (Sannino *et al.*, 1995):

- pas de processus particulier sur l'urotergite VIII
 - corps avec peu de soies, elles sont courtes et insérées isolément sur le tégument
 - présence de 3 à 5 paires de fausses pattes, soit sur les segments abdominaux V, VI et X, soit sur les segments III, IV, V, VI et X
 - crochets des fausses pattes mésosérié. 8 soies présentes sur la plaque prothoracique. Larves mesurant de 20 à 70 mm.
- A l'intérieur des *Noctuidae*, les caractères suivants permettent de distinguer l'espèce *H. armigera*:
- 5 paires de fausses pattes sur les segments abdominaux III, IV, V, VI et X
 - stigmates plus ou moins clairs (blanc, jaune, beige, ocre sombre)
 - pas de taches sombres, marrons, linéaires ou 'subtriangulaires' le long du corps
 - fausses pattes de couleur uniforme, foncièrement claire
 - fascie suprastigmatique absente, ou si présente sans tache. Pas de tache blanchâtre en position poststigmatique
 - pinacula clairs ou incolores, très proéminents et tuberculiformes
 - corps couvert de micro spinules cuticulaires (évidents) (Fig. 3). Pinaculum noirs et proéminents ou clairs et moins visibles

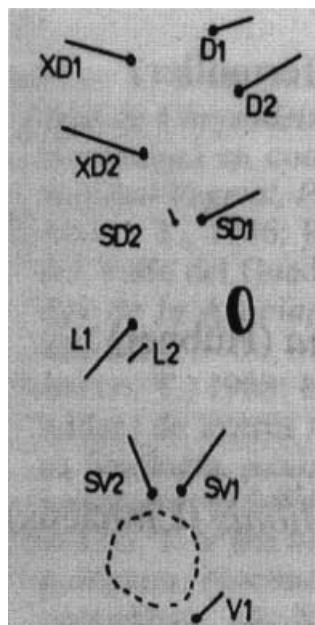


Figure 1 Prothoracic setal map of *Helicoverpa armigera*.
Chétotaxie prothoracique d' *Helicoverpa armigera*.

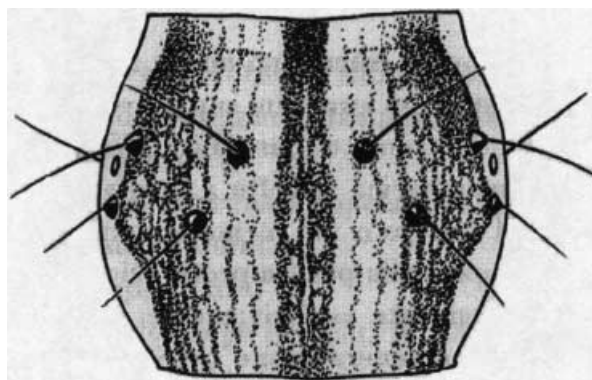


Figure 2 Dorsal view of abdominal segment V of *Helicoverpa armigera*.
Vue dorsale du segment abdominal V d' *Helicoverpa armigera*.



Figure 3 Pinaculi and cuticular spinules of *Helicoverpa armigera*.
Pinaculum et spinules cuticulaires d' *Helicoverpa armigera*.

- pinacula very prominent, tuberculiform, black or green, particularly developed on I and VIII urotergite (Fig. 3). Base colour green, yellowish or chestnut-brown. Stigmatic fascia is whitish or yellowish. Dorsal side with longitudinal, curved striations, clear (whitish or yellowish).

Amate *et al.* (1998) distinguish *H. armigera* from related pest species by the following characters (see also Figs 1–3):

- 5 pairs of abdominal prolegs
- prothorax with two subdorsal setae and two lateral setae
- lateral setae on prothorax horizontally aligned with spiracles.

APPENDIX II

Diagnosis of adults of *Helicoverpa armigera*

The following diagnostic criteria for males and females are taken from Hardwick (1965).

For males:

- base of vesica with a prominent spine
- spines on coils of vesica arranged in clusters; basal pouch of vesica without a slender posterior diverticulum, a broad anterior diverticulum and two small dorsal diverticula

- pinaculum très proéminents, tuberculiformes, noirs ou verts, particulièrement développés sur les urotergites I et VIII (Fig. 3). Couleur foncière, verte, jaunâtre ou brune fascie stigmatique blanchâtre ou vert-jaune. Dos avec des striations de forme incurvée, longitudinales, claires (blanches à jaunes).

Amate *et al.* (1998) distinguent *H. armigera* d'espèces apparentées sur la base des caractères suivants (voir également Figs 1–3):

- 5 paires de fausses pattes
- prothorax avec 2 soies subdorsales (SD) et 2 soies laterals (L)
- sur le prothorax les soies latérales sont alignées horizontalement avec le stigmate.

APPENDICE II

Diagnostic des adultes de *Helicoverpa armigera*

Les critères suivants concernant les mâles et les femelles sont extraits de Hardwick (1965).

Pour les mâles:

- base de la vésicule avec une épine proéminente
- épines sur la spirale de la vésicule disposées en amas. Sac basal de la vésicule sans diverticule postérieur étroit, sans un large diverticule antérieur et sans deux petits diverticules dorsaux

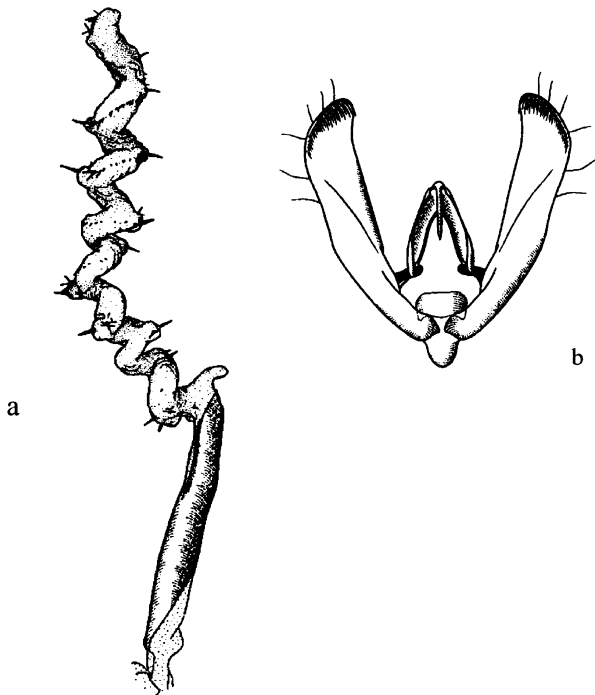


Figure 4 Male genitalia of *Helicoverpa armigera*: (a) vesica; (b) valve (Hardwick, 1965).
Génitalia mâles d'*Helicoverpa armigera*: (a) vésicule; (b) valve (Hardwick, 1965).

- vesica terminating apically in a normal coil (Fig. 4a); valve five times as long as wide (Fig. 4b).
- Alternatively, if the base of the vesica is without or with a barely discernible spine:
- middle spine of cluster on basal coil of vesica larger than other spines on vesica; basal pouch of vesica with only an anterior and a posterior diverticulum.

For females:

- dorsal sclerotization at base of appendix bursae restricted; appendix bursae terminating apically in a normal dilation (Fig. 5a)
- lumen surface of appendix bursae clothed with spicules (Fig. 5b).

APPENDIX III

Comparison of male genitalia of *Helicoverpa armigera* with those of similar species (Fig. 6)

Helicoverpa armigera

Valve relatively short and broad, about 5 times as long as wide, dorsal margin only slightly curved distally. Uncus narrow. Adeagus approximately the same length as the valve.

Helicoverpa zea

Valve relatively short and broader distally, about 5 times as long as wide, dorsal margin only slightly curved distally. Valve not dilated mesally. Adeagus approximately the same length as the valve.

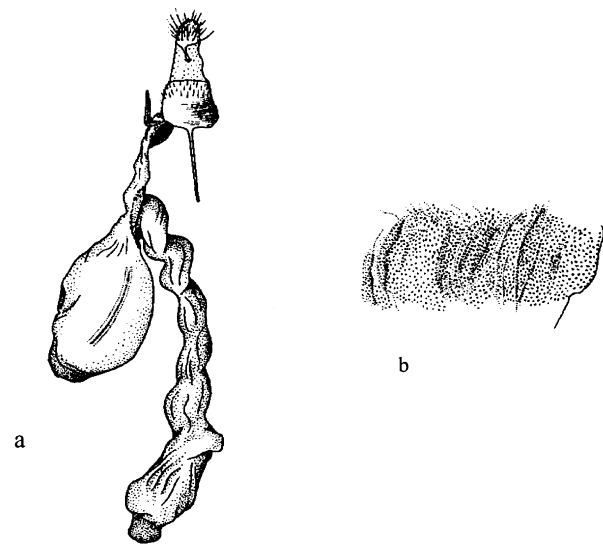


Figure 5 Female genitalia of *Helicoverpa armigera*: (a) bursa; (b) lumen surface (Hardwick, 1965).

Génitalia femelles d'*Helicoverpa armigera*: (a) bourse copulatrice; (b) surface du lumen (Hardwick, 1965).

- vésicule se terminant à l'apex en spirale normale (Fig. 4a); valve 5 fois aussi longue que large (Fig. 4b).
- Comme alternative, si la base de la vésicule est avec ou sans une épine faiblement discernable:
- les épines présentes en position médiane sur la spire basale de la vésicule, sont plus larges que les autres; sac basal de la vésicule avec seulement un diverticule antérieur et un diverticule postérieur.
- Pour les femelles:
- à la base de la glande annexe la sclérisation dorsale est limitée, apex de cette glande annexe présentant une dilatation normale
 - lumen de la glande annexe tapissée de spicules (Fig. 5b).

APPENDICE III

Comparaison des génitalia mâle de *Helicoverpa armigera* avec ceux d'espèces similaires (Fig. 6)

Helicoverpa armigera

Valve relativement courte et large, 5 fois aussi longue que large, marge dorsale très légèrement incurvée en partie distale. Uncus étroit. Edéage environ de la même taille que la valve.

Helicoverpa zea

Valve relativement courte et large en partie distale, 5 fois aussi longue que large, marge dorsale très légèrement incurvée en partie distale. Valve non dilatée en partie médiane. Edéage environ de la même taille que la valve.

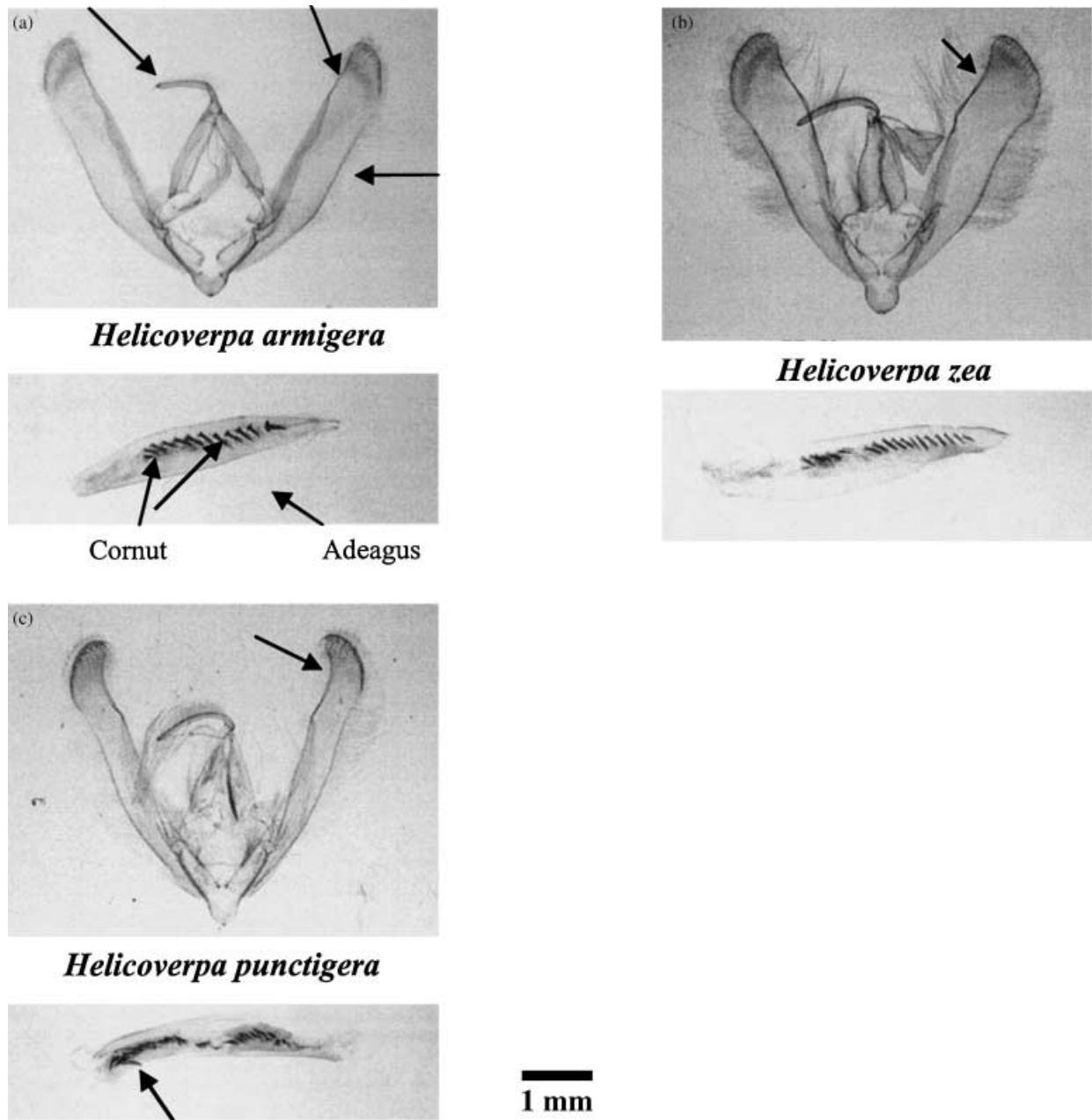


Figure 6 Male genitalia of *Helicoverpa armigera*, *H. zea* and *H. punctigera*.
Génitalia mâles d'*Helicoverpa armigera*, *H. zea* and *H. punctigera*.

Helicoverpa punctigera

Valve relatively long and narrow, about 7 times as long as wide, dorsal margin curved distally. Aedeagus approximately the same length as the valve. A conspicuous strongly anterior directed spine at the base of the vesica (absent in *H. armigera* and *H. zea*).

Helicoverpa punctigera

Valve relativement longue et étroite, au moins 7 fois aussi longue que large, en partie distale la marge dorsale est incurvée. Edéage environ de la même taille que la valve. A la base de la vésicule, présence d'une épine bien visible dirigée vers l'avant (absente chez *H. armigera* et *H. zea*).

Further information/Renseignements supplémentaires

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

Plant Protection Service, Entomology Section, PO Box 9102, 6700 HC, Wageningen, Netherlands

Laboratoire National de la Protection des Végétaux, Unité d'Entomologie, 2 place Viala, 34060 Montpellier Cedex 01, France.

Acknowledgements/Remerciements

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

J.-F. Germain, Laboratoire National de la Protection des Végétaux, Unité d'Entomologie, 2 place Viala, 34060 Montpellier Cedex 01, France.
Photos: LNPV, Unité d'entomologie.

References/Références

- Amate J, Barranco P & Cabello T (1998) [Identification of the larvae of the main noctuid pests in Spain.]. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas* **24**, 101–106 (in Spanish).
- Beck H (1999) *Die Larven der Europäischen Noctuidae. Revision der Systematik der Noctuidae*. Verlag Eitschberger, Marktlenthen (DE).
- Cribb PW (1972) An amateur's guide to the study of genitalia of the Lepidoptera. *Leaflets of the Amateur Entomologist's Society* **34**, 1–16.
- EPPO/CABI (1997). *Helicoverpa armigera*. In: *Quarantine Pests for Europe*, 2nd edn, pp. 289–294. CAB International, Wallingford (GB).
- Greenstone MH, Stuart MK & Hauerland NH (1991) Using monoclonal antibodies for phylogenetic analysis: an example from the Heliothinae (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America* **84**, 547–464.
- Hardwick DY (1965) The corn earworm complex. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* no. **40**.
- Matthews M (1991) *Classification of the Heliothinae*. Bulletin no. 44. Natural Resources Institute, Chatham (GB).
- Matthews M (1999) *Heliothine Moths of Australia. Monographs on Australian Lepidoptera*, Vol. 7. CSIRO Publishing, Canberra (AU).
- Pierce FN (1952) *The Female Genitalia of the Noctuidae* [reprinted and available from E.W.Classey Ltd].
- Pierce FN (1909) *The Genitalia of the Noctuidae* [reprinted and available from E.W. Classey Ltd].
- Robinson GS (1976) The preparation of slides of Lepidoptera genitalia with special reference to the Microlepidoptera. *Entomologist's Gazette* **27**, 127–132.
- Sannino L, Espinosa B & Balbiani A (1995) [Comparative morphology of the preimaginal stages of Lepidoptera on tobacco. 2. Larvae.]. *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silvestri* **50**, 23–91.
- Sannino L, Espinosa B & Lombardi P (1996) [Description of the preimaginal stages of *Heliothis peltigera* – a morpho-ethological comparison with *Helicoverpa armigera*.]. *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silvestri* **52**, 63–88.
- Togebaye BS & Couilloud R (1982) Etude descriptive de l'oeuf et des stades larvaires de *Heliothis armigera* en microscopie électronique à balayage. *Coton et Fibres Tropicaux* **37**, 197–209.
- Trowell SC, Lang GA & Gasia KA (1993) A Heliothine identification kit. In: *Pest Control and Sustainable Agriculture* (Ed. Corey, SA, Dall, DJ & Milne, WM), pp. 176–179. Collingwood, CSIRO Publishing, Canberra (AU).