

**Master 2**

**Mention Sciences de la Terre et Environnement, Ecologie**

**Spécialité Biodiversité et Ecosystèmes Continentaux**

*Parcours* « Biodiversité et Suivis Environnementaux »

Université de Bordeaux

Année universitaire 2013-2014

Rapport de stage de :

**CABROL BASTIEN**

**Lutte biologique contre le ravageur du palmier  
*Paysandisia archon* à l'aide de parasitoïdes oophages**

Structure d'accueil :

INRA PACA  
Unité Expérimentale Entomologie et Forêt Méditerranéenne  
Laboratoire Biocontrôle  
Site Villa Thuret  
90, Chemin Raymond  
06160 Antibes Juan-les-Pins

Maitre de stage :

TABONE Elisabeth

# Remerciements

Je remercie tout d'abord Elisabeth Tabone de m'avoir permis d'effectuer ce stage très enrichissant au sein du laboratoire Biocontrôle de l'UEFM.

Un grand merci à Maurane Buradino et Emma Ferrero pour leur bonne humeur au travail et leur aide précieuse qu'elles m'ont apporté tous au long de ces six mois.

Je remercie également tout le personnel travaillant à la Villa Thuret d'Antibes, et notamment Etty Colombel pour son aide dans l'élevage des parasitoïdes, Richard Bellanger pour sa disponibilité et Fiona Gaglio pour les nombreux trajets en voiture partagés lors des sorties sur le terrain.

Merci à Caroline, stagiaire à la Villa, pour ses chansons qui ont rythmé les après-midi passés au souchier.

Je remercie chaleureusement tous mes colocataires, notamment Tristan, Antoine, Teddy, Emma, Seydou, Eya et Asmaa pour tous les bons moments passés ensemble.

Paul, Maud, un grand merci à vous aussi.

Merci à tous ceux qui sont venus me rendre visite.

Enfin, merci à Christelle et ma famille, qui m'ont toujours soutenu.

## Structure d'accueil

L'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), fondé en 1946, est un organisme de recherche scientifique publique, placé sous la double tutelle du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche et du Ministère de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Pêche. Premier institut de recherche agronomique en Europe, l'INRA mène des recherches dans trois domaines en forte interaction : l'agriculture, l'alimentation et l'environnement. Par ces actions de recherche, il cherche à relever les grands défis planétaires de demain : assurer la nutrition humaine et la valorisation des territoires dans un contexte de changement climatique et d'épuisement des ressources fossiles. Les connaissances scientifiques produites sont mises au service de la société et de la décision publique.

L'INRA PACA, dont le pôle de décision se situe à Avignon, regroupe plusieurs unités de recherche dont l'Unité Expérimentale Entomologie et Forêt Méditerranéenne (UEFM). Au niveau national, l'UEFM est une unité du département Ecologie des Forêts, Prairies et Milieux Aquatiques. Ses missions se répartissent selon deux activités :

- Observation et expérimentation en milieu naturel.
- Recherche & développement pour la gestion des risques entomologiques.

L'unité participe aux programmes de recherches en écologie des forêts méditerranéennes. Elle gère des sites ateliers et des dispositifs expérimentaux en forêt (PlantaComp), ainsi que des collections clonales, des conservatoires et un laboratoire de graines.

L'UEFM est aussi spécialisé dans la recherche de solutions respectueuses de l'environnement pour la protection des arbres contre les chenilles défoliatrices, notamment la processionnaire du pin, le bombyx disparate, la processionnaire du chêne et la pyrale du buis.

Le laboratoire Biocontrôle de l'UEFM, situé à la Villa Thuret d'Antibes, est spécialisé dans la lutte biologique et développe des stratégies de régulation en utilisant des parasitoïdes oophages. Ce laboratoire travaille sur les lépidoptères ravageurs forestiers mais aussi sur la pyrale du buis *Cydalima perspectalis* et le papillon ravageur du palmier *Paysandisia archon*.

# SOMMAIRE

INTRODUCTION .....	1
MATERIELS ET METHODES .....	3
1) Matériels .....	3
a) <i>Paysandisia archon</i> .....	3
b) Trichogrammes .....	6
c) <i>Ooencyrtus sp.</i> .....	7
2) Méthodes .....	7
a) Screening en laboratoire.....	7
b) Lâchers de Trichogrammes en mésocosmes .....	8
c) Lâchers de Trichogrammes sur le terrain .....	9
d) Œufs sentinelles .....	9
e) Statistiques.....	10
RESULTATS .....	11
DISCUSSION .....	18
CONCLUSION.....	22
BIBLIOGRAPHIE .....	23
ANNEXES.....	25

## INTRODUCTION

Dans le contexte de changement global actuel, les écosystèmes subissent de fortes pressions anthropiques. L'Homme, de par l'intensification des échanges à l'échelle planétaire, est amené à altérer l'équilibre des milieux naturels. Volontairement ou non, des espèces animales ou végétales sont introduites au sein d'écosystèmes où elles y étaient absentes. Dans le cas le moins favorable, ces espèces peuvent devenir envahissantes. Une espèce envahissante est une espèce allochtone qui devient nuisible à la biodiversité autochtone des écosystèmes parmi lesquels elle s'est établie. C'est actuellement la troisième cause de perte de biodiversité (IUCN).

Depuis le début des années 2000, les palmiers du pourtour méditerranéen subissent la pression de *Paysandisia archon*, le papillon palmivore originaire d'Amérique du sud. Vraisemblablement introduit en Méditerranée à la fin du 20<sup>ème</sup> siècle avec des palmiers importés d'Argentine (Chapin E., 2006), *Paysandisia archon* a été officiellement découvert en Mars 2001 en Espagne (Catalogne) (Sarto I Monteys V., 2013) puis en France (Var) (Chapin E., 2006). Depuis, il a également été observé en Italie, Grèce, Suisse, Slovénie, Bulgarie, Croatie, République tchèque, Crète et Chypre. Bien qu'il ne soit pas un ravageur dans son aire d'origine (Sarto I Monteys V. & Aguilar L., 2005), il est aujourd'hui responsable de nombreux dégâts sur les palmiers de la côte méditerranéenne. Les espèces les plus touchées sont *Chamaerops humilis* (Palmier nain), *Trachycarpus fortunei* (Palmier de Chine) et *Phoenix canariensis* (Palmier des Canaries).

*Paysandisia archon* (Burmeister, 1880) est un lépidoptère de la famille des Castniidae et de la sous-famille des Castniinae. C'est le seul représentant de cette famille en France (Andre N. & Tixier Malicorne P., 2013). Les larves phytophages sont responsables des dégâts observés sur les palmiers : déformation du tronc, dessèchement anormal des palmiers, feuilles perforées, présence de sciure, développement anormal des bourgeons axillaires et trous de galerie dans le stipe (EPPO, 2008).

Devenus plantes d'ornement, les palmiers font partie intégrante du paysage de la Côte d'Azur. De par leur qualité esthétique et morphologique, ils représentent le littoral méditerranéen. Une enquête effectuée en 2001 montre que le palmier est considéré comme la deuxième espèce emblématique de la Méditerranée juste après l'olivier (Ducatillion C., 2013). Par l'action de ce ravageur, ce patrimoine est aujourd'hui menacé de disparaître.

En effet, les conséquences environnementales, paysagères et économiques sont désastreuses. Les palmiers bordant les routes et les plages sont affaiblis, asséchés ou même détruits. Dans le « meilleur » des cas, ils sont remplacés par des espèces de palmiers moins attractives pour le ravageur mais parfois ils cèdent leur place à des arbres plus communs (feuillus). Une étude menée dans la région du Languedoc-Roussillon entre 2002 et 2012 a montré que le nombre de palmiers (toutes espèces confondues) déjà impactés par *Paysandisia archon* est compris entre 50000 et 60000 (Andre N. & Tixier Malicorne P., 2013). En 2005, un membre de l'association « Fous de palmiers » déclarait : « Il n'y aura plus un palmier sur le pourtour méditerranéen d'ici 2008-2009 ». Heureusement, cela n'a pas été le cas.

Au niveau économique, ce sont déjà 100 millions d'euros (Ferrero E. *et al.*, 2014) qui ont été investis pour lutter contre ce lépidoptère (et contre le charançon rouge du palmier, *Rynchophorus ferrugineus*).

Néfastes pour l'environnement et la santé humaine, la lutte chimique est à éviter. De plus, les larves étant endophytes, les pesticides sont peu efficaces. Aussi, le plan Ecophyto, proposé par le Grenelle de l'environnement fin 2007 et repris par le PNSE 2 (second Plan national santé environnement) en 2009, vise à réduire progressivement l'utilisation des produits phytosanitaires en France tout en maintenant une agriculture économiquement performante.

Des moyens de lutte alternatifs existent déjà tels que le contrôle mécanique (glue) (Peltier J.-B., 2013) ou la lutte biologique à l'aide de pathogènes. L'utilisation du champignon *Beauveria bassiana* (Millet S. *et al.*, 2007) et du nématode *Steinernema carpocapsae* (Nardi S. *et al.*, 2009) s'est avérée efficace contre le ravageur. Cependant, ces méthodes alternatives sont coûteuses et difficiles à mettre en place.

Le projet européen PalmProtect (2012-2014, 3 millions d'euros) intitulé « Stratégies pour l'éradication et le confinement des ravageurs invasifs des palmiers *Paysandisia archon* et *Rynchophorus ferrugineus* » a pour objectif d'étudier la biologie de ces insectes et de trouver des moyens de contrôle. Dans le cadre de ce projet, l'Unité Expérimentale Entomologie et Forêt Méditerranéenne (UEFM) de l'INRA PACA, travaille actuellement sur un moyen de lutte biologique à l'aide de parasitoïdes oophages. C'est une solution respectueuse de l'environnement et donc une excellente alternative aux traitements chimiques habituels. Les parasitoïdes oophages effectuent une partie de leur développement à l'intérieur de l'œuf de l'hôte. Agir à ce niveau du développement permet de tuer l'œuf avant l'apparition des larves et donc des dégâts. Les Trichogrammes (Hymenoptera : Trichogrammatidae) sont fréquemment utilisés en lutte biologique et ont déjà montré des résultats satisfaisants en

laboratoire (Tabone E. *et al.*, 2013). En effet, plusieurs souches ont déjà réussi à parasiter l'œuf du ravageur. Bien qu'à l'heure actuelle, aucune émergence de la nouvelle génération de parasitoïdes n'a été observée (Ferrero E. *et al.*, 2014), les œufs parasités sont morts.

En Colombie, des essais de contrôle biologique à l'aide d'*Ooencyrtus sp.* (Hymenoptera : Encyrtidae) ont été effectués sur un lépidoptère de la même famille que *P. archon* (Castniidae). Ce parasitoïde oophage a été collecté et élevé pour être relâché en grand nombre sur des palmiers attaqués par *Cyparissius daedalus*. Ces lâchers ont permis d'augmenter de 22% le taux de parasitisme des œufs de *C. daedalus* (Aldana R.C. & Calvache H., 2002). Cet auxiliaire a aussi montré des taux de parasitisme encourageants au laboratoire de l'UEFM.

L'objectif de cette étude consiste à poursuivre les expérimentations en laboratoire (screening) et en mésocosmes et aussi d'effectuer les premiers lâchers de Trichogrammes sur le terrain afin de vérifier leur efficacité en conditions naturelles. En laboratoire, le « screening » constitue la première étape et permet de déterminer l'acceptation de l'hôte par l'observation du taux de parasitisme et d'avortement. Les lâchers de Trichogrammes ont été effectués en parallèle avec des espèces ayant déjà montré des taux d'efficacité globale (parasitisme et avortement) satisfaisants.

## MATERIELS ET METHODES

### 1) Matériels

#### a) *Paysandisia archon*

##### ***Biologie***

Stade œuf : Les œufs sont fusiformes, ressemblent à un grain de riz et présentent 6 à 8 côtes longitudinales (Sarto I Monteys V. *et al.*, 2005). Fraichement pondus, ils sont de couleur rose (voir photo 1) et deviennent marron-rose avec le temps (puis blanc après éclosion). Ils mesurent 4,7 mm de longueur et 1,6 mm de largeur en moyenne (Sarto I Monteys V. *et al.*, 2005). Les œufs sont présents dans la nature de fin mai à mi-octobre. Ils éclosent 12-14 jours après la ponte (à 26°C-30°C). En effet, les insectes étant poïkilothermes, leur vitesse de développement est dépendante de la température.



Photo 1 : Œufs de *Paysandisia archon*

Les œufs sont déposés dans le creux formé par l'insertion des palmes (feuilles) sur le stipe (tronc) ou dans les fibres qui le recouvre. Les femelles peuvent déposer leurs œufs sur un seul ou plusieurs palmiers. Ils sont pondus à l'unité, mais se trouvent souvent par 2 ou 3 au même endroit, sans adhérer à leur support (Sarto I Monteys V. & Aguilar L., 2005).

Stade larvaire : C'est le plus long, le plus complexe et le seul à passer l'hiver (Sarto I Monteys V., 2013). Après éclosion des œufs, les larves cherchent rapidement un abri et de la nourriture. D'après Sarto I Monteys & Aguilar (2005), elles mettent de 5 secondes à 3 minutes pour entrer dans le stipe du palmier. Les larves de *Paysandisia archon* passent par 9 stades de développement et chaque stade est interrompu par une mue durant de 1 à 3 jours. La taille des larves s'accroît considérablement au cours de leur vie. Après émergence, elles mesurent environ 7,3 mm de longueur et à leur croissance maximale elles peuvent atteindre 9 cm de long et jusqu'à 1,5 cm de largeur (Sarto I Monteys V. & Aguilar L., 2005).

Les dégâts observés sur les palmiers (présence de sciure, trous de galerie dans le stipe, feuilles perforées, développement anormale des bourgeons axillaires, déformation du tronc et dessèchement anormal des palmiers) sont dus au développement des larves à l'intérieur du stipe. La gravité des dégâts dépend du nombre d'individus présents, du diamètre du stipe, de la localisation des galeries mais aussi de l'espèce de palmier touchée. Ainsi, des espèces possédant un stipe étroit, comme *Chamaerops humilis* et *Trachycarpus fortunei*, sont plus sensibles aux attaques de *Paysandisia archon* (Chapin E., 2006). Avec *Phoenix canariensis*, ce sont les 3 espèces de palmiers les plus touchées.

Les larves sont cannibales et territoriales. Elles n'hésitent pas à s'attaquer à leurs congénères lorsqu'elles partagent une espace limité. Chaque larve possède sa propre galerie. Pour tromper les éventuels prédateurs, elles peuvent tisser de « faux cocons » à l'extrémité des galeries (Sarto I Monteys V. & Aguilar L., 2005).

Le stade larvaire dure environ 10,5 mois. Cependant, les larves qui émergent à la fin de l'été ou au début de l'automne ne pourront pas se nymphoser au printemps suivant. En effet, leur développement ne sera pas complet et elles devront donc passer 2 hivers sous forme larvaire. Ce cycle bisannuel dure environ 18,5 mois.

Chrysalides : Le dernier stade larvaire entre ensuite en nymphose. Elle a lieu le plus souvent au cours du 9<sup>ème</sup> stade larvaire (mais peut débuter dès le 7<sup>ème</sup> ou 8<sup>ème</sup>) (Sarto I Monteys V. & Aguilar L., 2005). La nymphose correspond à tous les processus biologiques ayant lieu de la fin du stade larvaire à l'émergence des adultes. Concrètement, cela correspond à la



formation de la chrysalide et au temps passé sous la forme de celle-ci. Les chrysalides sont protégées par un cocon tissé à l'aide des fibres de palmiers. Ils sont en général placés entre les



Photo 2 : Chrysalide de *Paysandisia archon*

bractées desséchées des inflorescences, à la base des pétioles ou encore dans les fibres le long du stipe (voir photo 2). On peut distinguer 2 phases clés. Tout d'abord, avant la formation du cocon, la larve stoppe son alimentation, contracte son corps et change de couleur (Sarto I Monteys V. & Aguilar L., 2005). Ensuite il y a formation du cocon (à l'aide de fibres de palmier), sécrétion d'une substance visqueuse imperméable et enfin formation de la chrysalide. La formation de la chrysalide à l'intérieur du cocon dure plusieurs jours. Au

début du printemps, 17 jours sont nécessaires pour compléter la métamorphose ; en été cette durée est raccourcie à 9 jours en moyenne (Sarto I Monteys V. & Aguilar L., 2005).

Les cocons sont fusiformes et mesurent 5,8 cm de long et 1,9 cm de large (dans leur plus grande largeur) en moyenne. Dans la nature, ils sont présents de mi-mars à mi-septembre. Les papillons n'émergeront que 40 à 70 jours après (Sarto I Monteys V. & Aguilar L., 2005). Cet intervalle important s'explique encore une fois par le statut de poïkilotherme des insectes. Leur vitesse de croissance augmente avec l'augmentation de la température.

Adultes : Les papillons ont des ailes antérieures olive à bronze et des ailes postérieures orangées avec une bande noire tachée de 5 ou 6 cellules blanches (voir photo 3). Il existe un léger dimorphisme entre les deux sexes. Les mâles mesurent 7,5 cm en moyenne contre 8,6 cm pour les femelles. Néanmoins, leur envergure peut atteindre les 11 cm. Un dimorphisme est aussi présent au niveau de l'abdomen : les femelles possèdent 6 segments abdominaux, soit un de moins que les mâles (montpellier.inra.fr).



Photo 3 : *Paysandisia archon*

Les imagos sont visibles de mi-mai à fin septembre avec un pic en juin et juillet. Le vol des mâles est rapide (20m/s). Ils sont territoriaux et possèdent un grand sens de l'orientation. Ils

peuvent parcourir des centaines de mètres et revenir exactement sur la palme de laquelle ils sont partis.

Quand une femelle entre sur le territoire d'un mâle, une poursuite commence. C'est la parade nuptiale. Les deux individus volent alors de manière lente et rapprochée puis la femelle vient se poser sur une palme, suivi par le mâle. Ce dernier vient se positionner à côté de la femelle et courbe son abdomen latéralement vers l'extrémité de celui de la femelle. La reproduction a alors lieu et dure en moyenne 40 min. L'abdomen des femelles contient environ 140 œufs. Une fois fécondées, elles volent de palmier en palmier et déposent leurs œufs comme décrit plus haut et préférentiellement sur le tiers supérieur du stipe (Chapin E. 2006). Les femelles sont monoandres (Delle-Vedove R., 2001), elles ne s'accouplent qu'une fois au cours de leur vie, contrairement aux mâles qui peuvent féconder plusieurs femelles.

Le cycle de vie de *Paysandisia archon* s'étale sur un nombre de jours variables. En moyenne, il dure 390 jours pour les individus accomplissant un cycle annuel (la larve ne subit qu'un hiver) et 670 jours pour ceux qui accomplissent un cycle bisannuel (Sarto I Monteys V., 2013).

### ***Approvisionnement en œufs***

Les œufs de *Paysandisia archon* ont été expédiés par le CIRAD de Montpellier. Ils ont été envoyés dans des enveloppes spécifiques et maintenus à  $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant le transport. Dès leur réception, ils ont été conservés à  $6^{\circ}\text{C}$  (afin d'interrompre leur développement) ou utilisés directement pour les expériences.

### **b) Trichogrammes**

Les différentes souches de Trichogrammes ont été élevés dans des tubes miellés (longueur : 7cm, diamètre : 1cm) sur des œufs d'*Ephestia kuehniella* (Pyrale de la farine) (Zeller) (Lepidoptera : Pyralidae) préalablement irradiés aux UV (St-Onge M. et al., 2014). Les œufs ont été collés sur des petites bandelettes en carton afin de faciliter les manipulations (environ 1000 œufs par bandelette). Les Trichogrammes adultes émergent des œufs parasités au bout de 10 jours ( $\pm 1$  jour). Dès l'émergence des parasitoïdes, une nouvelle plaquette d'œufs d'*E. kuehniella* est introduite dans le tube. D'une génération à l'autre, seulement 10% des œufs parasités ont été conservés et introduit dans un nouveau tube afin d'éviter le superparasitisme. Une partie des 90% d'œufs parasités restant a été conservée pour les expériences. Afin que les émergences d'adultes soient plus régulières, des répétitions ont été effectuées au sein d'une même souche. L'élevage a été effectué à  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , avec  $75 \pm 10\%$

d'humidité relative et une photopériode 16L:8D (16 heures de jour : 8 heures de nuit). Les souches ont été élevées en continu (souchier) au sein du Laboratoire Biocontrôle, UEFM, INRA PACA, à Antibes.

c) *Ooencyrtus sp.*

Deux espèces du genre *Ooencyrtus* ont été testées : *Ooencyrtus pityocampae* et *Ooencyrtus kuvanae*. Ces parasitoïdes ont été élevés sur des œufs de *Philosamia ricini* (Lepidoptera : Saturniidae). Pour cela, les femelles ont été mises à pondre dans des tubes contenant les œufs de l'hôte et y sont restées 15 jours. Ces tubes ont été conditionnés à  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , avec 60-70 % d'humidité relative et une photopériode 16L:8D. Les parasitoïdes émergents (nouvelle génération) ont été transférés dans d'autres tubes préalablement miellés puis ont été placés dans une étuve à  $18^\circ\text{C}$ . Ces deux espèces sont parthénogénétiques thélytoques (la descendance n'est composée que de femelles).

2) Méthodes

a) Screening en laboratoire

***Trichogrammes***

Au total, 8 souches de Trichogrammes ont été testées sur les œufs du ravageur, codées ainsi : A, Ba, Db, G, Ea, M, K et P.

Rapidement après réception, les œufs de *P. archon* ont été mis en contact avec les parasitoïdes à l'intérieur de tubes de 14 cm de long et 3,5 cm de diamètre (un œuf par tube). Plusieurs ratios ont été testés (1, 5, 10 ou 15 femelles pour 1 œuf) pendant 24h. Cette durée a été rallongée à 48h par la suite afin d'estimer l'effet du temps sur l'efficacité des Trichogrammes. Les œufs ont ensuite été transférés dans des tubes plus petits (longueur : 7 cm, diamètre : 1 cm) dans lesquels ils ont été conservés 20 jours. Les œufs ont ensuite été disséqués. Les analyses ont porté essentiellement sur les taux de parasitisme et d'avortement des œufs ainsi que sur l'efficacité globale. L'efficacité globale regroupe le taux d'avortement et le taux de parasitisme. Afin de déterminer la part d'avortement due à l'action des Trichogrammes, le taux d'avortement naturel a été comparé à celui observé après « screening ». Pour déterminer ce taux d'avortement naturel, un tube témoin ne contenant que des œufs du ravageur a été laissé de côté. L'émergence éventuelle des parasitoïdes a aussi été surveillée. Pour chaque souche et pour chaque ratio, l'expérience a été répétée 10 fois (dans la mesure du possible). Les expérimentations et observations ont été faites dans les mêmes conditions que l'élevage

soit une température de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , avec  $75 \pm 10\%$  d'humidité relative et une photopériode 16L:8D.

### ***Ooencyrtus sp.***

Les deux espèces d'*Ooencyrtus* (*Ooencyrtus pityocampae* et *Ooencyrtus kuvanae*) ont été testées dans les mêmes conditions que précédemment. Le protocole de « screening » a été adapté aux caractéristiques biologiques des parasitoïdes. Deux ratios femelles/œufs ont été testés (1 femelle pour 20 œufs et 2 femelles pour 50 œufs). Pour chaque cas, l'expérience a été répétée 10 fois. Les analyses ont également porté sur les taux de parasitisme et d'avortement des œufs du ravageur.

### ***Observations***

Le comportement des Trichogrammes a été ponctuellement observé. Pour chaque observation (trois au total), un œuf du ravageur a été mis en présence d'une ou plusieurs femelles de Trichogrammes. La première observation (a) a été faite avec 1 femelle de la souche Db (durée : 20 min). La seconde (b) a été effectuée avec 5 femelles de A (25 min) et la troisième (c) avec 7 femelles de G (60 min). L'objectif est ici de connaître les habitudes de ponte des femelles (Au bout de combien de temps pondent-elles ? Peuvent-elles pondre plusieurs œufs ? Plusieurs femelles peuvent-elles pondre sur le même œuf en même temps ?).

#### **b) Lâchers de Trichogrammes en mésocosmes**

Des lâchers de Trichogrammes ont été effectués en laboratoire, sur des palmiers sains récupérés en pépinière. Au total, cinq *Chamaerops humilis* ont été utilisés : 2 avec 1 stipe (respectivement palmier a et b), 2 avec 2 stipes (palmier 2 et 3) et 1 avec 5 stipes (palmier 5). Une partie des œufs de *Paysandisia archon* reçus a été déposée manuellement sur les palmiers (10 par stipe sur les palmiers 2, 3 et 5 ; 20 par stipe sur les palmiers a et b). Ensuite, les plaquettes contenant les parasitoïdes (élevés comme décrit plus haut) ont été déposés sur les palmiers suivant plusieurs modalités : 1 plaquette par stipe sur les palmiers a, b, 2 et 3 ; 1 puis 5 plaquettes par stipe sur le palmier 5. Aussi, sur les palmiers a, b, 2 et 3, la position des œufs par rapport à la plaquette (au-dessus, sur le côté bas, sur le côté haut et derrière) a été notée afin d'évaluer la capacité de dispersion des Trichogrammes. Au total, 7 lâchers expérimentaux ont été effectués. La position des œufs par rapport à la plaquette contenant les parasitoïdes n'a été notée qu'à partir du lâcher n°4 et l'augmentation du nombre de plaquettes sur le palmier 5 (1 puis 5 par stipe) a été faite pour les lâchers n°6 et n°7 seulement. Les

souches utilisées sont celles qui ont déjà montré des taux de parasitisme et d'avortement satisfaisants en laboratoire soit A, D et G.

Les expériences ont été conduites dans 3 pièces confinées, à  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , avec  $75 \pm 10\%$  d'humidité relative et une photopériode 16L:8D. Un tube contenant des œufs de *Paysandisia archon* a également servi de témoin pour le taux d'avortement naturel.

Nous avons récupéré les œufs du ravageur 7 jours après les lâchers et avons surveillé le devenir des œufs (émergence de la chenille, parasitisme ou avortement).

### c) Lâchers de Trichogrammes sur le terrain

Parallèlement, des lâchers ont été effectués sur des palmiers en milieu naturel. Les souches de Trichogrammes testées sur le terrain sont les mêmes que celles testées en laboratoire : G, D et A.

Afin de mener au mieux ces essais, nous avons fait appel à des particuliers et des professionnels souhaitant contribuer au projet. Le protocole leur a été décrit par le biais d'une fiche « action » (voir annexe 1). La production des Trichogrammes a été augmentée afin de disposer de suffisamment de parasitoïdes pour l'expérience.

Nous avons conduit les lâchers sur des palmiers attaqués par *Paysandisia archon*, sur les espèces préférentielles du lépidoptère, c'est-à-dire *Chamaerops humilis* et *Phoenix canariensis* mais également sur un *Washingtonia sp.* . Seuls des petits individus ont été sélectionnés afin d'avoir un accès facile à la couronne (sommets) du palmier. Les palmiers ne devaient être sous aucun traitement pesticide chimique. Bien sûr, les traitements alternatifs (nématodes par exemple) sont recommandés mais aucune intervention ne devait être faite pendant les lâchers.

Au total, 10 palmiers remplissant ces conditions ont été choisis. Les plaquettes ont été placées au nombre de 3 à 5 dans les fibres du palmier (dans le tiers supérieur, lieu de présence des œufs de *Paysandisia archon*) par temps calme et clair. L'opération s'est déroulée dans un rayon restreint autour d'Antibes afin de mieux suivre les essais (4 palmiers sur la commune de Biot et 6 sur celle de Cannes). Les lâchers ont été effectués plusieurs fois pendant Juillet et Août.

Nous avons récupéré les œufs du ravageur 7 à 10 jours après les lâchers afin de déterminer les taux de parasitisme et les taux d'avortement et de surveiller les émergences éventuelles des parasitoïdes.

### d) Œufs sentinelles

Des œufs de *Paysandisia archon* ont été disposés à plusieurs endroits dans le jardin de la Villa Thuret dans le but de récolter des parasitoïdes oophages de grosses tailles. Les œufs ont été laissés 3-4 jours dans une boîte en plastique recouverte par un voile de maille 2 mm x 2 mm. Une fois récupérés, ils ont été conservés dans une étuve à 25°C et le devenir de l'œuf a été surveillé (émergence de la chenille, avortement ou parasitisme/émergence de parasitoïdes).

#### e) Statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel RStudio®.

Les différences de taux d'avortement, de parasitisme et d'efficacité globale (avortement + parasitisme) ont été analysées séparément. Les différences de taux (avortement, parasitisme et efficacité) entre les ratios au sein d'une même souche (test I), les différences de taux entre les souches (quelque soit le ratio) (test II), les différences de taux des ratios (toutes souches confondues) (test III) et les différences entre ratios du même ordre entre toutes les souches (un même ratio est-il plus efficace sur une souche qu'un autre ?) (test IV) ont été analysés à l'aide d'un test non paramétrique de Kruskal-Wallis (car les données ne suivent pas une loi normale). Les souches ayant montré une différence entre les ratios lors de l'analyse (I) n'ont pas été inclus dans le test (II).

Enfin, les différences de taux d'efficacité globale ont été analysées à l'aide d'un modèle linéaire généralisé (GLM) avec une distribution binomiale afin de mettre en valeur les facteurs et leurs interactions éventuelles ayant un effet significatif sur les taux d'efficacité. La correspondance au modèle a été testée grâce à une ANOVA (effectué sur le résultat du GLM).

Afin de vérifier et de quantifier l'effet des Trichogrammes sur le taux d'avortement des œufs, le taux d'avortement naturel a été comparé au taux d'avortement obtenu après les « screening » à l'aide d'un test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney (comparaison de deux échantillons qui ne suivent pas une loi normale).

Concernant les lâchers de parasitoïdes en conditions contrôlées (mésocosmes), des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis ont permis de comparer les différences de taux d'efficacité entre les souches sur un même palmier, entre les palmiers pour la même souche et entre les cinq palmiers (toutes souches confondues) (en ne tenant pas compte des palmiers sur lesquels des différences de taux ont été observés).

Un éventuel effet date sur les taux d'efficacité a été testé à l'aide d'un Kruskal-Wallis.

Le taux d'avortement global obtenu a été comparé au taux d'avortement naturel des œufs témoins à l'aide d'un test de Wilcoxon.

Les taux de parasitisme entre les 3 souches testées ont été comparés à l'aide d'un Kruskal-Wallis.

Enfin, la capacité de dispersion des Trichogrammes a également été évaluée à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis (comparaison des taux d'efficacité globale entre les différentes positions des œufs).

## RESULTATS

### *Screening en laboratoire*

Les résultats présentés ici concernent les souches A, Ba, Db, G, Ea et M (voir tableau I).

**Tableau I** : Résultats du « screening » des souches G, M, Db, A, Ba et Ea. Ces résultats sont ceux obtenus jusqu'à la date du 25 Août 2014. Les cases vident indiquent des valeurs nulles.

SCREENING	Ratio (œuf:femelles)	Répétitions	Œufs pris en compte	Œufs parasités	Œufs avortés	Œufs éclos	Avortement	Parasitisme	
Souches	G	1:1	10	7		4	3	57%	
		1:5	10	6		4	2	67%	
		1:10	10	10		7	3	70%	
		1:15	x	x	x	x	x	x	x
	M	1:1	10	8		5	3	63%	
		1:5	10	4		0	4	0%	
		1:10	10	5		2	3	40%	
		1:15	x	x	x	x	x	x	x
	Db	1:1	10	10	1	8	1	80%	10%
		1:5	10	10		8	2	80%	
		1:10	10	9		5	4	56%	
		1:15	10	7		2	5	29%	
	A	1:1	9	9		4	5	44%	
		1:5	8	8		4	4	50%	
		1:10	7	7		6	1	86%	
		1:15	x	x	x	x	x	x	x
	Ba	1:1	10	10		3	7	30%	
		1:5	10	10		7	3	70%	
		1:10	10	10	1	9		90%	10%
		1:15	x	x	x	x	x	x	x
Ea	1:1	10	10		7	3	70%		
	1:5	10	10		8	2	80%		
	1:10	10	10		4	6	40%		
	1:15	10	10	1	4	5	40%	10%	

Le devenir de chaque œuf testé a été indiqué dans ce tableau. Pour les souches de Trichogrammes G, M, A et Ba, le ratio 1:15 (1 œuf pour 15 femelles) n'a finalement pas été testé (par manque de temps ; indiqué par x).

Certaines répétitions n'ont pas pu être prises en compte. En effet, certains œufs sont devenus secs, à l'extérieur comme à l'intérieur (voir photo 4). Ces œufs ont toujours avorté, que ce soit des œufs utilisés comme témoin ou des œufs mis en présence des Trichogrammes. Ce phénomène a été observé sur plusieurs lots. Après discussion, il semblerait que ces œufs n'aient pas été fécondés (la femelle *Paysandisia archon* peut pondre sans s'être accouplée). Ces œufs avortés ne peuvent donc pas être pris en compte dans les résultats et dans les analyses statistiques.



Photo 4 : Œuf non fécondé (avorté)

La colonne « Œufs pris en compte » indique donc le nombre d'œufs qui ont été inclus dans les analyses.

## TRICHOGRAMMES

### Taux de parasitisme :

Quatre œufs de *Paysandisia archon* ont été parasités par des Trichogrammes. Un par la souche Db, un par la souche Ba, un par la souche Ea et un par la souche K (non indiqué dans ce tableau). Les œufs parasités prennent rapidement une couleur gris-noir (voir photo 5). Cela est dû au développement des embryons de Trichogrammes à l'intérieur de l'œuf. Lors de la dissection, on peut observer ces embryons, facilement reconnaissables aux yeux rouges des parasitoïdes (voir photo 6).



Photo 5 : Œuf parasité par des Trichogrammes

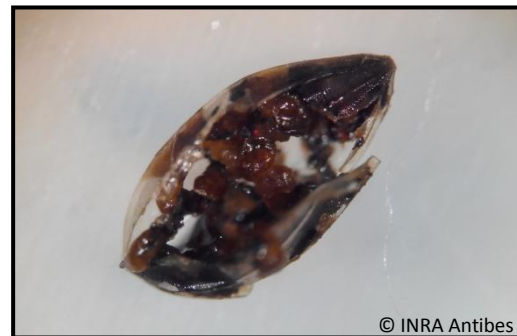


Photo 6 : Embryons de Trichogrammes à l'intérieur de l'œuf

Le nombre d'embryons observés à l'intérieur des œufs n'a pas été le même d'une souche et d'un ratio à l'autre. L'œuf parasité par Db (ratio 1:1) contenait 2 embryons, celui parasité par



Ba (ratio 1:10) contenait 25 embryons, celui parasité par Ea (ratio 1:15) contenait 20 embryons et celui parasité par K (ratio 1:5) contenait 12 embryons.

Aucune émergence de Trichogrammes n'a pour l'instant été observée. Trois de ces œufs parasités ont été obtenu après changement du protocole de screening. Ces derniers ont été laissés 48h en présence des Trichogrammes (au lieu de 24h). Seul l'œuf parasité avec Db est resté 24h en présence des femelles parasitoïdes. Aucune chenille n'a été trouvé dans les œufs parasités.

Vu le faible nombre d'œufs parasités, les taux de parasitisme ont été comparé seulement entre les différentes souches (tous ratio confondus). Avec une p-value de 0.8092, il apparait que ces taux de parasitisme ne sont pas significativement différents entre les souches.

#### Taux d'avortement naturel :

Les témoins de chaque expérience (screening + lâchers en mésocosmes) ont permis de déterminer le taux d'avortement naturel des œufs de *Paysandisia archon*. Sur 78 œufs témoins au total, 32 ont avorté de manière naturelle. On peut donc estimer que naturellement, les œufs du ravageur avortent à hauteur de 41%. Ce taux a été comparé au taux d'avortement global obtenu après les « screening ». Sur les 170 œufs testés, 101 ont avortés soit 59%. Le test de Wilcoxon-Mann-Whitney donne une p-value de 0.003579. La moyenne des taux d'avortement des œufs après « screening » est donc significativement supérieure à la moyenne des taux d'avortement des œufs témoins (au risque  $\alpha=5\%$ ).

#### Taux d'avortement :

Les œufs non éclos ont donc été disséqués afin de savoir s'ils ont été parasités ou ont avortés. Les œufs avortés sont devenus jaune-grisâtre. La dissection de ces œufs a montré une substance liquide jaune-grisâtre (voir photo 7). Rarement, une chenille morte de jeune stade embryonnaire a été trouvé à l'intérieur (voir photo 8).



Photo 7 : Œuf avorté

Photo 8 : Œuf avorté (chenille morte à l'intérieur)

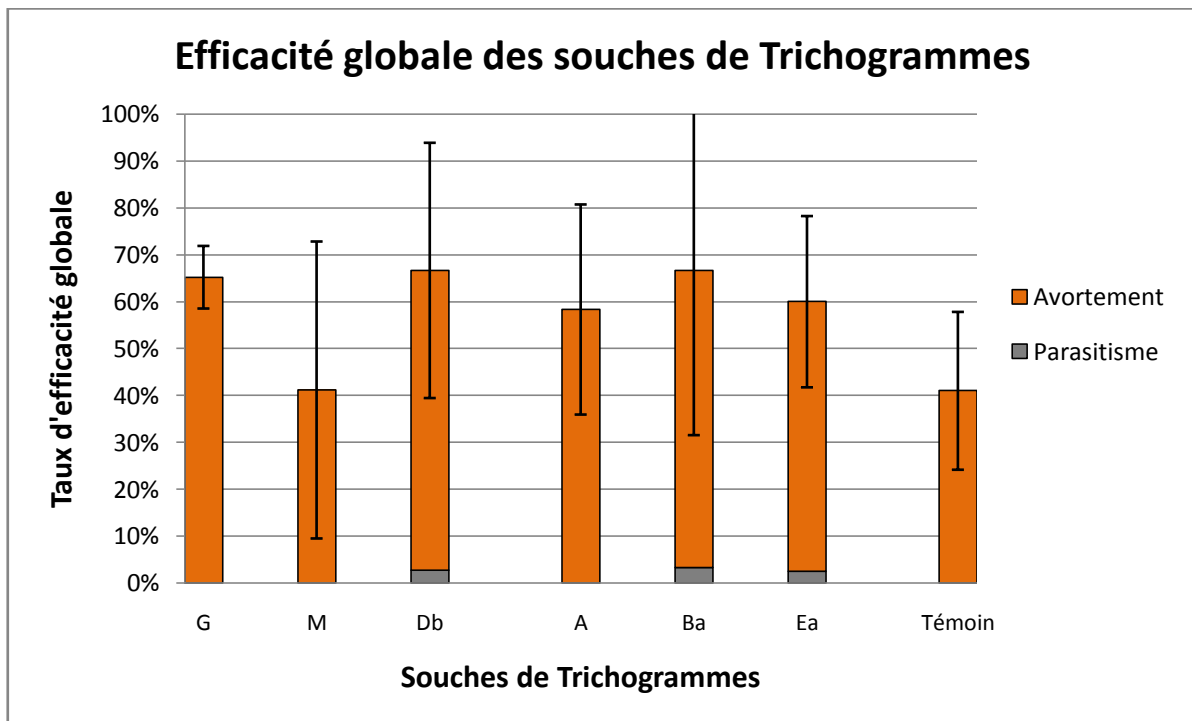
**Tableau II** : Résultats des tests statistiques effectués sur les taux d'avortement. Les p-value significatives sont indiqués en gras.

Test	p-value
(I) Différence de taux entre ratios d'une même souche	G : 0.8632, M : 0.1319, Db : 0.05684, A : 0.2262, Ea : 0.2136, <b>Ba : 0.00657*</b>
(II) Différence de taux entre souches (tous ratios confondus)	0.5195
(III) Différence de taux entre ratios (toutes souches confondus)	0.2061
(IV) Différence de taux entre même ratios (entre les souches)	1:1 : 0.159, 1:5 : 0.07405, 1:10 : 0.05858

Au sein de la souche Ba, le taux d'avortement du ratio 1:1 (30%) est significativement différent du taux d'avortement du ratio 1:10 (90%) (p-value=0.00657 ; risque  $\alpha=5\%$ ) (voir tableau II).

Les autres tests n'ont pas donné de résultats significatifs.

Taux d'efficacité globale :



**Fig. 1** : Histogramme représentant les moyennes de taux d'efficacité globale des différentes souches de Trichogrammes testées (tous ratios confondus).

Le taux d'efficacité globale correspond au taux d'avortement et au taux de parasitisme réunis.

**Tableau III** : Résultats des tests statistiques effectués sur les taux d'efficacité globale. Les p-value significatives sont indiqués en gras.

Test	p-value
(I) Différence de taux entre ratios d'une même souche	G : 0.8632, M : 0.1319, <b>Db : 0.04418*</b> , A : 0.2262, Ea : 0.2548, <b>Ba : 0.004677*</b>
(II) Différence de taux entre souches (tous ratios confondus)	0.4752
(III) Différence de taux entre ratios (toutes souches confondus)	0.2832
(IV) Différence de taux entre même ratios (entre les souches)	1:1 : 0.1243, 1:5 : 0.07405, <b>1:10 : 0.04633*</b>
(V) GLM	<b>5.015e-05*</b>

Au sein de la souche Db et Ba, au moins 2 ratios ont conduit à des taux d'efficacité globale significativement différents (risque  $\alpha=5\%$ ). Pour la souche Db, il s'agit du taux d'efficacité du ratio 1:1 (90%) qui est significativement différent de celui du ratio 1:15 (29%) (p-value=0.04418). Pour la souche Ba, le taux d'efficacité globale obtenu avec le ratio 1:10 (100%) est significativement différent de celui du ratio 1:1 (30%) (p=0.004677) (voir tableau III).

Il y a une différence significative (p-value=0.04633) entre les taux d'efficacité globale pour les œufs mis en présence de 10 femelles parasitoïdes (ratio 1:10). Donc au moins 2 souches ont donné des résultats significativement différents face à ce même ratio.

La souche Ba montre un taux d'efficacité globale significativement supérieur (p-value=0.04633) à celui de la souche Ea pour le ratio 1:10 (100% d'efficacité pour Ba, 40% pour Ea) (voir tableau III).

Le modèle linéaire généralisé testé (glm(formula = efficacite\_globale ~ ratio \* souche, family = binomial)) montre un effet significatif de l'interaction entre le ratio et la souche sur les taux d'efficacité globale. L'ANOVA donne une p-value de 5.015e-05.

## OOENCYRTUS

Beaucoup d'œufs (290 au total) utilisés pour les « screening » d'*Ooencyrtus sp.* se sont révélés être non fécondés, comme expliqué précédemment. Par conséquent, une grande partie des résultats n'est pas exploitable (on ne peut pas tenir compte des taux d'avortement). Les répétitions exploitables ne sont pas assez nombreuses pour faire des statistiques.

### *Observations*

Lors de l'observation (a) (1 femelle de Db), aucun contact entre l'œuf et la femelle parasitoïde n'a été notée. Cette dernière ne semblait pas attirée par l'œuf du ravageur. Pendant

l'observation (b) (5 femelles de A), certaines femelles ont touché l'œuf avec leurs antennes.

L'une d'elle s'est mise en position de ponte (oviposition) au bout de 7 min et est restée ainsi jusqu'à la fin de l'observation. Enfin, lors de la troisième observation (c) (7 femelles de G), plus longue (60 min), de multiples contacts entre les femelles et l'œuf ont été observés et deux d'entre elles se sont mises en oviposition (respectivement à 7 et 18 min) et ce jusqu'à la fin (voir photo 9).



Photo 9 : Femelle Trichogramme en oviposition sur un œuf de *Paysandisia archon*

Les trois œufs utilisés pour ces observations ont avorté (liquide jaune-grisâtre à l'intérieur).

### *Lâchers de Trichogrammes en mésocosmes*

**Tableau IV** : Résultats des lâchers de Trichogrammes en mésocosmes (résultats obtenus jusqu'au lâcher n°4).

Palmier 2							
Date	Souche	Œufs récupérés	Œufs avortés	Œufs parasités	Œufs éclos	Avortement	Parasitisme
01.07	A	18	6	0	12	33%	0%
21.07	D	19	11	0	8	58%	0%
28.07	G	19	16	0	3	84%	0%
Palmier a							
Date	Souche	Œufs récupérés	Œufs avortés	Œufs parasités	Œufs éclos	Avortement	Parasitisme
11.07	D	20	11	0	9	55%	0%
21.07	G	20	11	0	9	55%	0%
28.07	A	18	14	0	4	78%	0%
Palmier 3							
Date	Souche	Œufs récupérés	Œufs avortés	Œufs parasités	Œufs éclos	Avortement	Parasitisme
01.07	A	19	1	2	16	5%	11%
21.07	G	19	11	0	8	58%	0%
28.07	D	20	12	0	8	60%	0%
Palmier b							
Date	Souche	Œufs récupérés	Œufs avortés	Œufs parasités	Œufs éclos	Avortement	Parasitisme
11.07	D	17	10	0	7	59%	0%
21.07	G	20	11	0	9	55%	0%
28.07	A	18	10	1	7	56%	6%
Palmier 5							
Date	Souche	Œufs récupérés	Œufs avortés	Œufs parasités	Œufs éclos	Avortement	Parasitisme
01.07	G	45	8	0	37	18%	0%
21.07	A	47	24	0	23	51%	0%
28.07	D	50	27	1	22	54%	2%

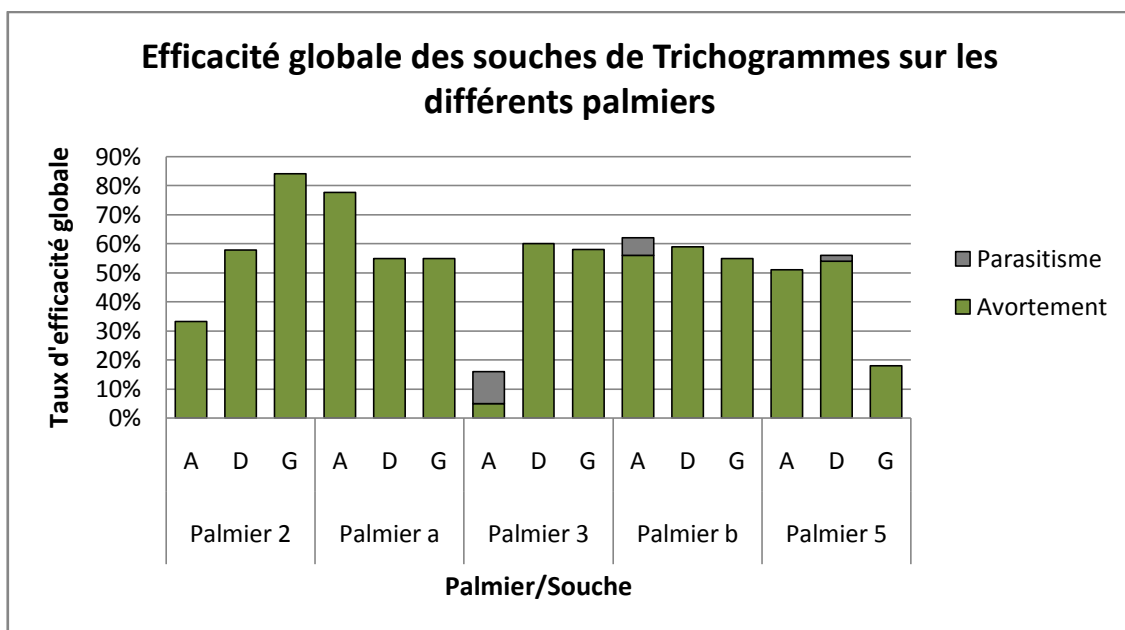
### Taux de parasitisme :

Quatre œufs ont été parasités lors de ces simulations. Trois œufs ont été parasités par la souche A, deux sur le palmier 3 et un sur le palmier b. Le dernier œuf a été parasité par la souche D sur le palmier 5. Ces taux de parasitisme ne sont pas significativement différents entre les 3 souches ( $p\text{-value}=0.1884$  ; risque  $\alpha=5\%$ ).

### Taux d'avortement :

Le taux d'avortement des œufs déposés sur les palmiers (187 œufs avortés sur 370, 50% au total) est significativement différent de celui des œufs témoins (les 41% mentionnés plus haut) ( $p\text{-value}=0.01429$ ).

### Taux d'efficacité globale :



**Fig 2. :** Histogramme représentant les taux d'efficacité globale des différentes souches testées en fonction de chaque palmier.

Sur le palmier a et b, il n'y a pas de différence de taux d'efficacité globale entre les souches A, D et G ( $p\text{-value}$  de 0.2607 et 0.9292 respectivement). Pour le palmier 2, le taux d'efficacité de A (33%) est significativement différent de celui de G (84%) ( $p\text{-value}=0.007744$ ). Sur le palmier 3, le taux de A (5%) est significativement différent de celui de D et G (60% et 58% respectivement) ( $p\text{-value}=0.0109$ ) bien que la souche A ait parasité 2 œufs. Enfin sur le palmier 5, le taux d'efficacité de G (18%) est significativement différent ( $p\text{-value}=0.0002887$ ) de celui des deux autres souches (51% et 54%) (voir Fig. 2).

Les taux d'efficacité de la souche A sont significativement différents d'un palmier à l'autre (p-value=0.001846). Seulement 5% d'efficacité sur le palmier 3 alors que l'on atteint les 62% sur le palmier b et les 78% sur le palmier a. Pour la souche D, il n'y a aucune différence entre les palmiers (p-value=0.9972). Pour la souche G, il y a une différence très significative (p-value=1.701e-05) entre le taux d'efficacité obtenu sur le palmier 5 (18%) et les taux obtenus sur les autres palmiers (respectivement 84%, 55%, 58% et 55%) (voir Fig. 2).

Effet palmier : Pour cette analyse, les données concernant les palmiers 2, 3 et 5 n'ont pas été prises en compte puisque qu'au sein de ces palmiers, il y a une différence significative de taux d'efficacité entre certaines souches. Les taux d'efficacité globale des souches lâchées sur le palmier a ne sont pas significativement différents des taux d'efficacité observés sur le palmier b (p-value=0.6769).

Effet date : Les taux d'efficacité des souches lâchés le 01.07.14 (lâcher n°1) sont significativement inférieurs aux taux obtenus lors des trois autres lâchers (p-value=8.89e-09).

Position des œufs par rapport au tube de lâcher : Les taux d'efficacité ne dépendent pas de la position des œufs (p-value=0.2226).

### ***Lâchers de Trichogrammes sur le terrain***

Au total, 6 lâchers de Trichogrammes ont été effectués sur le terrain (3 sur la commune de Biot et 3 sur la commune de Cannes). Il a été très difficile de trouver des œufs de *Paysandisia archon* sur les palmiers, même si la présence d'adultes était évidente (présence de chrysalides). A Biot, sur 4 œufs récupérés, 2 ont avortés et 2 ont éclos. A Cannes, le seul œuf récupéré a éclos. Aucun œuf n'a donc été parasité.

### ***Œufs sentinelles***

Sur un total de 335 œufs sentinelles, aucun n'a été parasité (donc pas d'émergence non plus). Néanmoins, cela a permis de calculer un deuxième taux d'avortement naturel. Il a été comparé au taux d'avortement naturel des œufs témoins. Dans le cas des œufs sentinelles, on obtient également 41% d'avortement.

## **DISCUSSION**

### ***Screening en laboratoire***

Les Trichogrammes ont un effet sur le taux d'avortement des œufs. En effet, les taux d'avortement obtenus après « screening » sont significativement supérieurs (en moyenne) au taux d'avortement naturel des œufs de *Paysandisia archon*. Les œufs peuvent avorter plus ou

moins tôt dans leur développement, comme en atteste certaines chenilles mortes trouvées à l'intérieur. La taille de ces chenilles varie grandement. Certaines sont mortes alors qu'elles ne mesuraient pas plus d'un millimètre et d'autres sont mortes peu de temps avant l'éclosion (elles occupaient tous l'espace disponible dans l'œuf). On ne peut cependant pas séparer avec précision les œufs avortés naturellement et ceux avortés à cause des Trichogrammes. Certains œufs avortés peuvent être des œufs consommés « host feeding » par les femelles Trichogrammes (piqûres nutritionnelles), soit des œufs dans lesquels des Trichogrammes ont été pondus mais dont les larves sont mortes après leur éclosion (Tabone E. *et al.*, 2013). Les taux d'avortement moyens obtenus avec les souches A, Ba et Ea ne sont pas significativement différents de ceux obtenus en 2013 (Ferrero E. *et al.*, 2014). La souche G, elle, a donné des résultats plus satisfaisants cette année en termes de taux d'avortement moyen. Concernant les taux de parasitisme, les souches A, Ba, Ea et G ont été significativement plus efficaces en 2013 (Ferrero E. *et al.*, 2014). La comparaison entre les deux années pour ces quatre souches est présentée dans le tableau V.

**Tableau V** : Comparaison des taux d'avortement et de parasitisme moyens des souches testées à la fois en 2013 et 2014.

Année	Souche	Avortement moyen (%)	Parasitisme moyen (%)
2013	A	67%	27%
2014		58%	0%
2013	Ba	73%	20%
2014		63%	3%
2013	Ea	53%	17%
2014		58%	3%
2013	G	33%	33%
2014		65%	0%

Cette différence au niveau des taux de parasitisme peut s'expliquer par un protocole de « screening » différent entre les deux années. En 2013, les femelles restaient en présence des œufs de *Paysandisia archon* jusqu'à leur mort (environ une semaine) et les expériences étaient conduites dans des tubes plus petits (diamètre de 1 cm au lieu de 3,5 cm). Elles avaient donc le temps de pondre et plus de « chance » de croiser les œufs. Le protocole utilisé cette année est cependant plus proche de la réalité. Dans la nature, les femelles parasitoïdes ne sont pas confinées avec l'œuf. Si l'œuf n'est pas appétant, elles ne pondront pas.

Le protocole utilisé cette année a été modifié au cours des « screening ». Initialement de 24h, la durée des expériences a été rallongée à 48h. Cela peut expliquer que sur les quatre œufs

parasités, trois ont été parasités avec le deuxième protocole. Cette hypothèse rejoint les observations faites précédemment.

Enfin, concernant les œufs parasités, le nombre d'embryons présents pourrait dépendre du ratio (nombres de femelles pour un œuf). Seul deux embryons ont été trouvés à l'intérieur de l'œuf parasité avec le ratio 1:1 alors que ce nombre augmente à 12 avec le ratio 1:5, 20 avec le ratio 1:15 et 25 avec le ratio 1:10. Donc globalement, plus le nombre de femelles présentes est important, plus il y a d'embryons à l'intérieur des œufs parasités. Encore une fois, le premier œuf parasité (par la souche Db ; ratio 1:1 ; 2 embryons) est le seul qui n'est resté que 24H en présence des Trichogrammes. D'après Ayvaz A. *et al.* (2008), la fréquence d'oviposition des femelles âgées est supérieure à celle des jeunes femelles. Certains auteurs rapportent que les femelles plus âgées sont plus actives dans leur recherche de l'hôte que les jeunes. Ceci pourrait expliquer que plus les femelles restent en présence des œufs (24H à 48H), plus elles sont susceptibles de les parasiter. Ce sont les premières tendances qui ressortent. Il faudrait vérifier ces hypothèses statistiquement sur un grand nombre d'œufs parasités. Aucune émergence de Trichogrammes n'a été observée (même cas en 2013). Les réserves vitellines pourraient être insuffisantes pour le bon développement des parasitoïdes. En tout cas, les embryons n'ont pas été en compétition avec la chenille puisque aucune trace de cette dernière n'a été observée dans les œufs parasités. Les Trichogrammes élevés sur *Ephestia kuehniella* émergent généralement au bout de 10 jours ( $\pm 1$  jour). Il est fort probable que le développement des individus à l'intérieur de l'œuf du ravageur nécessite plus de temps.

**(A VOIR)**

Si on raisonne sur les taux d'efficacité globale, Ba et Db sont les deux seules souches qui présentent des taux d'efficacité différents en fonction du ratio. Chez Ba, les grands ratios semblent plus efficaces (100% d'efficacité pour le ratio 1:10) mais chez Db, c'est le contraire (90% d'efficacité pour le ratio 1:1). Le taux d'efficacité de la souche Ba avec le ratio 1:10 est également significativement supérieur à celui de Ea pour le même ratio. Ba montre les résultats les plus intéressants et les plus significatifs de ces « screening ».

Avec les résultats obtenus, il est difficile de sortir une tendance générale sur l'ensemble des souches testées. **Mais le GLM réalisé indique que le taux d'efficacité est fonction de la souche mais également du ratio. (A VOIR, mail statisticien)**

### ***Observations***

Les trois œufs utilisés pour les observations ont avorté. Bien que le phénomène d'oviposition ait été observé sur deux d'entre eux, il est difficile d'affirmer que cela est dû aux parasitoïdes.



### *Lâchers de Trichogrammes en mésocosmes*

De la même manière que pour les « screening », le taux d'avortement moyen des œufs déposés sur les palmiers (50%) est significativement supérieur au taux d'avortement naturel (41%). Il y a donc eu prédation par les Trichogrammes. Ce taux d'avortement de 50% est cependant significativement inférieur ( $p\text{-value}=0.01325$ ) au taux d'avortement observé lors des « screening » (59%). Les expérimentations sur les palmiers sont beaucoup plus représentatives de la réalité que les expériences en tubes. Ce sont de vraies simulations de lâchers. Pour les Trichogrammes, un palmier représente une surface gigantesque et même si leur activité de recherche est maximale, ils peuvent ne jamais trouver les œufs avant leur mort.

Les palmiers a et b ne présentent pas de différence significative de taux d'efficacité globale, que ce soit entre les souches au sein du même palmier ou entre les palmiers (toutes souches confondues). Par contre, des différences significatives ont été trouvées au sein des palmiers 2, 3 et 5. Dans chaque cas, une souche (respectivement A, A et G) a été significativement moins performante. Mais la comparaison des données obtenus pour chaque date de lâcher montre clairement une différence significative de taux d'efficacité entre le lâcher 1 (01/07/14) et les 3 autres lâchers. On remarque alors que les 3 souches lâchées ce jour là sont celles qui présentent les taux d'efficacité globale les plus faibles sur leur palmier respectif. Nous mettons donc en évidence ici un effet « expérimentateur ». Les générations de Trichogrammes lâchés ce jour là ont été moins efficaces que ceux lâchés par la suite. Cela peut-être dû à un biais dans l'élevage des parasitoïdes, aux conditions de température à l'intérieur des pièces expérimentales ou plus vraisemblablement aux caractéristiques des œufs déposés sur les trois palmiers. Des œufs trop âgés vont être moins appétant pour les femelles (référence - Maurane) et donc sans prédatisme/parasitisme, ces œufs vont se développer « normalement » et la proportion d'œufs éclos sera plus importante.

Lors de ces lâchers expérimentaux, quatre œufs ont été parasités. Certaines femelles ont donc réussi à parasiter des œufs de *Paysandisia archon* en conditions semi-naturelles. Un de ces œufs se situait juste au dessus du tube de lâcher. Par la suite, la position des œufs a donc été notée afin d'évaluer la capacité de recherche des Trichogrammes. La comparaison des taux d'efficacité globale (avortement + parasitisme) entre les différentes classes de position des œufs (au dessus, derrière, etc...) n'a pas montré de différence significative. Cependant, seul un jeu de donnée a été analysé pour cette expérience. Des résultats significatifs sont attendus avec plus de répétitions (données des lâchers 5, 6 et 7).

### ***Lâchers de Trichogrammes sur le terrain***

Très peu d'œufs ont été trouvés sur les sites de lâchers. Afin d'évaluer correctement l'efficacité des Trichogrammes en milieu naturel, il faudrait s'assurer réellement de la présence d'œufs de *Paysandisia archon* sur le site. Mais cela reste très difficile car les femelles du ravageur peuvent pondre sur plusieurs palmiers (Sarto I Monteys V. & Aguilar L., 2005). De plus, elles ne vont pas nécessairement pondre sur le palmier dont elles sont originaires. A Biot, des chrysalides récentes ont été trouvés sur les palmiers retenus pour l'expérience. Pourtant, aucun œuf n'a été trouvé par la suite. Il se pourrait que *Paysandisia archon* soit attiré par des palmiers encore sains. Il faudrait alors augmenter le nombre de palmiers testés et ne pas se focaliser exclusivement sur des sujets atteints. A Cannes, aucune chrysalide n'a été trouvée. Une femelle a cependant été observée. Les services s'occupant de ce site traitent aux nématodes depuis l'année dernière. Bien qu'aucun traitement n'ait été fait pendant les lâchers de parasitoïdes, les nématodes déposés au cours de l'année précédente ont eu le temps de parasiter les larves du ravageur et de les tuer. En effet, des applications professionnelles du nématode *Steinernema carpocapsae* ont déjà montré des taux de réussite de 83 à 87% (Perez L. *et al.*, 2013). Cela peut expliquer qu'aucune exuvie n'ait été trouvée. A l'avenir, si d'autres lâchers expérimentaux de Trichogrammes sont effectués, il faut s'assurer que les palmiers testés n'aient pas été traité avec cette technique. Bien évidemment, dans le cas où ces lâchers seraient effectués à grande échelle, la complémentarité des techniques est indispensable afin d'obtenir les meilleurs résultats.

### ***Œufs sentinelles***

Aucun œuf sentinelle n'a été parasité. On peut en déduire que des parasitoïdes oophages naturellement adaptés au ravageur n'étaient pas présent sur les sites où les œufs ont été déposés. Il faudrait multiplier les sites prospectés et le nombre d'œuf déposés.

Le taux d'avortement de ces œufs est le même que celui trouvé en laboratoire. On peut en déduire qu'il n'y a pas eu prédation non plus.

## **CONCLUSION**

A terme, l'objectif final est de lâcher ces Trichogrammes sur les palmiers infectés afin de limiter la population et la progression de *Paysandisia archon*.

(Proposer aux particuliers et professionnels une méthode de lutte efficace, respectueuse environnement et santé, économiquement abordable...)

## BIBLIOGRAPHIE

Aldana R.C. & Calvache H. (2002) Biología, hábitos y manejo de *Cyprissius daedalus* Cramer. Barrenador gigante de la palma. *Cenipalma, Boletín Técnico*, 15:0-38.

Andre N. & Tixier Malicorne P. (2013) Le papillon palmivore en Languedoc-Roussillon : son impact, ses conséquences et les plans d'action envisagés. *Colloque méditerranéen sur les ravageurs des palmiers, AFPP, Nice, France*, 157-169.

Ayvaz A., Karasu E., Karabörklü S., Tunçbilek A. Ş. (2008) Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Stored Products Research*, 44:232–240.

Chapin E. (2006) *Paysandisia archon* : situation 5 ans après son signalement en agriculture. *Ière Conférence sur l'entretien des espaces verts, jardins, gazons, forêts, zones aquatiques et autres zones non agricoles, AFPP, Avignon, France*, 157-163.

Delle-Vedove R. (2001) Médiation chimique et processus invasif chez *Paysandisia archon* (Lepidoptera : Castniidae) : Lépidoptère inféodé aux palmiers en région méditerranée. Thèse de doctorat, sous la direction de Martine Hossaert-McKey, Montpellier, Université Sciences et Techniques, 201 p.

Ducatillion C. (2013) Peut-on se passer des palmiers sur la Côte d'Azur (historique, importance sociétale, symbolique et économique) ? *Colloque méditerranéen sur les ravageurs des palmiers, AFPP, Nice, France*, 11-17.

EPPO/OEPP (2008) Data sheets on quarantine pests *Paysandisia archon*. *OEPP/EPPO*, 38:163-166.

Ferrero E., Fourcade A., Colombel E., Buradino M., Martin J.-C. & Tabone E. (2014) Un parasitoïde oophage pour contrôler *Paysandisia archon* : Le Trichogramme. Premier succès en laboratoire. (En soumission)

<http://www.iucnredlist.org/>

<http://www1.montpellier.inra.fr/ravageurs-du-palmier/index.php/fr/paysandisia-archon/16-biologie-du-papillon>

- Millet S., Bonhomme A., & Panchaud K. (2007) Vers un moyen de lutte contre *Paysandisia archon* ? Un champignon au secours des palmiers. *Phytoma*, 604:38-42.
- Nardi S., Ricci E., Lozzi R., Marozzi F., Ladurner E., Chiabrando F., & al. (2009) Use of entomopathogenic nematodes for the control of *Paysandisia*. *Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes*, 45:375-378.
- Peltier J.-B. (2013) Utilisation de la glu contre *Paysandisia archon*. *Colloque méditerranéen sur les ravageurs des palmiers, AFPP, Nice, France*, 131:140.
- Perez L., Andre N., Gutleben C., Lacordaire A.-I., Roberti A., Vendeville J. & Chapin E. (2013) Paysarch : Projet de lutte biologique avec *Steinernema carpocapsae* Weiser (Nematoda, Steinernematidae) contre le papillon palmivore, *Paysandisia archon* Burmeister 1880 (Lepidoptera, Castniidae), en condition d'application professionnelle. *Colloque méditerranéen sur les ravageurs des palmiers, AFPP, Nice, France*, 307-319.
- St-Onge M., Cormier D., Todorova S. & Lucas E. (2014) Comparison of *Ephestia kuehniella* eggs sterilization methods for Trichogramma rearing. *Biological control*, 70:73-77.
- Sarto I Monteys V. & Aguilar L. (2005) The Castniid Palm borer, *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880), in Europe: Comparative biology, pest status and possible control methods (Lepidoptera: Castniidae). *Nachr. entomol.*, 26:61-94.
- Sarto I Monteys V. (2013) *Paysandisia archon* (Castniidae): Description, biological cycle, behaviour, host plants, symptoms and damages. *Colloque méditerranéen sur les ravageurs des palmiers, AFPP, Nice, France*, 33-50.
- Sarto I Monteys V., Aguilar L., Saiz-Ardanaz M., Ventura D. & Marti M. (2005) Comparative morphology of the egg of the castniid palm borer, *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880) (Lepidoptera: Castniidae). *Systematics and Biodiversity*, 3(2):1-23.
- Tabone E., Buradino M., Colombel E., Salignon M., Fourcade A., Ganivet J. & Martin J.-C. (2013) Un parasitoïde oophage pour contrôler *Paysandisia archon* (Burmeister): Le Trichogramme. *3<sup>e</sup> conférence sur l'entretien des espaces verts, jardins, gazons, forêts, zones aquatiques et autres zones non agricoles, AFPP, Toulouse, France*, 235-244.

## **ANNEXES**

Annexe 1 : Fiche action 3 « LACHERS DE TRICHOGRAMMES SUR ŒUFS DE PAYSANDISIA ARCHON »

# Résumé

Master 2 STEE, parcours Biodiversité et Suivis Environnementaux

Stage du 15/03/14 au 15/09/14

Cabrol Bastien

## Lutte biologique contre le ravageur du palmier *Paysandisia archon* à l'aide de parasitoïdes oophages

**Résumé :** Originaire d'Amérique du sud, le papillon palmivore *Paysandisia archon* (Burmeister) poursuit sa progression en région méditerranéenne en entraînant des dégâts considérables sur les palmiers et des pertes économiques importantes.

Il est donc urgent de trouver une solution biologique pour contrôler ce ravageur, en respectant l'environnement et la santé humaine. Le stade œuf étant le plus accessible et précédant le stade larvaire phytophage, les parasitoïdes oophages sont une piste de recherche intéressante.

Les Trichogrammes, dont l'efficacité a déjà été prouvée en lutte biologique sur différentes cultures, ont été testés au laboratoire et sur le terrain. Au laboratoire, huit espèces de Trichogrammes ont été mis en présence des œufs du ravageur, selon plusieurs modalités. Parallèlement, des lâchers expérimentaux de ces parasitoïdes ont été effectués en conditions contrôlées (mésocosmes) et sur le terrain. Les taux d'avortement et de parasitisme des œufs ainsi obtenus ont été analysés afin d'évaluer l'effet des Trichogrammes. Ces derniers ont un effet significatif sur l'avortement des œufs, supérieur au taux d'avortement naturel. Certains œufs ont, eux, été parasités par les Trichogrammes (présence d'embryons à l'intérieur). Bien qu'aucune émergence de parasitoïdes n'ait été observée par la suite, les œufs parasités meurent et ne donnent pas de nouvelles larves.

Les Trichogrammes sont donc prometteurs dans la lutte biologique contre *Paysandisia archon*. A terme, l'objectif est de proposer aux professionnels une solution respectueuse de l'environnement et économiquement abordable afin de limiter la population et la progression de *Paysandisia archon*.

Maitre de stage : Tabone Elisabeth

Elisabeth.Tabone@sophia.inra.fr

06.43.62.75.47

INRA PACA, UEFM, Laboratoire Biocontrôle, Villa Thuret, 06160 Antibes Juan-les-Pins