

Évaluation d'un parasitoïde exotique, Asobara japonica (Ichneumonoidea, Braconidae), contre le diptère ravageur Drosophila suzukii (Diptera, Drosophilidae)

Philippe Lafargue

▶ **To cite this version:**

Philippe Lafargue. Évaluation d'un parasitoïde exotique, Asobara japonica (Ichneumonoidea, Braconidae), contre le diptère ravageur Drosophila suzukii (Diptera, Drosophilidae). Sciences agricoles. 2015. dumas-01205530

HAL Id: dumas-01205530

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01205530

Submitted on 25 Sep 2015

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

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

AGROCAMPUS OUEST

☑ **CFR Angers**

☐ **CFR Rennes**

Mémoire de Fin d'Études

☑ d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage

☐ de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage

☐ d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

Année universitaire : 2014 - 2015

Spécialité : Horticulture

Spécialisation : Gestion Durable du Végétal

Évaluation d'un parasitoïde exotique, *Asobara japonica* (Ichneumonoidea, Braconidae), contre le diptère ravageur *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae)

Par : Philippe Lafargue

Soutenu à Angers, le 8 Septembre 2015.

Devant le jury composé de :

Président : Josiane Le Corff

Maître de stage : Nicolas Borowiec

Enseignant référent : Bruno Jaloux

Yann Tricault, examinateur

Jérôme Jullien, examinateur

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST

Fiche de confidentialité et de diffusion du mémoire

Confidentialité :

☒ Non ☐ Oui si oui : ☐ 1 an ☐ 5 ans ☐ 10 ans

Pendant toute la durée de confidentialité, aucune diffusion du mémoire n'est possible[1].
A la fin de la période de confidentialité, sa diffusion est soumise aux règles ci-dessous (droits d'auteur et autorisation de diffusion par l'enseignant).

Date et signature du maître de stage[2] :

30/08/2015

Droits d'auteur :

L'auteur[3] autorise la diffusion de son travail

☒ Oui ☐ Non

Si oui, il autorise

☐ la diffusion papier du mémoire uniquement(4)

☐ la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

☒ la diffusion papier et électronique du mémoire (joindre dans ce cas la fiche de conformité du mémoire numérique et le contrat de diffusion)

Date et signature de l'auteur : le 10/09/2015 Phelagne

Autorisation de diffusion par le responsable de spécialisation ou son représentant :

L'enseignant juge le mémoire de qualité suffisante pour être diffusé

☐ Oui ☐ Non

Si non, seul le titre du mémoire apparaîtra dans les bases de données.

Si oui, il autorise

☐ la diffusion papier du mémoire uniquement(4)

☐ la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

☐ la diffusion papier et électronique du mémoire

Date et signature de l'enseignant :

(1) L'administration, les enseignants et les différents services de documentation d'AGROCAMPUS OUEST s'engagent à respecter cette confidentialité.
(2) Signature et cachet de l'organisme
(3).Auteur = étudiant qui réalise son mémoire de fin d'études
(4) La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option)) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé

Remerciements

Je tiens à remercier d'abord l'équipe RDLB dans son ensemble pour son bel esprit propice au travail … et à la détente. Merci à Nicolas Borowiec pour avoir suivi mon travail pendant six mois et relu mon mémoire en pleines vacances. Merci à Marcel Thaon et Laurent Kremmer (ESIM) pour leurs conseils avisés dans la capture et l'élevage des insectes, et leur précieux soutien technique. Christian Rebuf (ESIM) m'a aussi donné des conseils avisés pour l'élevage, merci ! Alors que le fond de l'R effraie, merci à Nicolas Ris pour m'avoir aidé sur la partie statistiques. Merci aux Bout qui viennent animer l'enclos de temps à autre, et on voit rien sur ta photo Géraldine, mais je la garde. Merci au reste de l'équipe et bon vent à vous !

L'enclos est une réserve à stagiaires où il fait bon vivre. Merci à Valentin pour son coaching en licornes, son humour à toute épreuve et pour m'avoir aidé à apprivoiser des drosophiles dans la pièce, à Emmanuelle pour sa bonne humeur et son dynamisme corsé, à Madalina (mulțumesc) qui m'a aidé pour les photos de parasitoïdes et qui a su apporter sa touche de folie dans la salle. J'ai passé du bon temps avec vous, j'espère qu'on se recroisera dans d'autres bureaux.

Merci à Sophia Deo qui est une vraie famille et qui m'a permis de rencontrer des personnes bien sympathiques et des endroits superbes. J'ai vécu de très belles choses en votre compagnie, à bientôt !

Merci tout particulièrement à mes colocs qui ont fait que ces 6 mois passés à Antibes se soient si admirablement bien passés. On a réussi à vivre ensemble sans trop de problèmes, partager sur nos expériences, et partager des moments formidables. Un énorme merci à vous tous : Enrique, Anaïs, Cécilia, Luân, Thomas, Suzanne, Ablaa, Cyndel, et surtout Gomez. Merci à l'Inra de favoriser des lieux privilégiés comme ceux-là.

Enfin, merci à Suzanne et Camille pour leur travail de relecture qui m'a bien soutenu dans les derniers moments.

Table des matières

Remerciements ..... **i**
Table des matières ..... **ii**
Liste des abréviations ..... **iv**
Liste des annexes ..... **v**
Liste des figures ..... **vi**
Liste des tableaux ..... **vii**
Avant-propos ..... **viii**

Introduction **1**
I. Synthèse bibliographique du contexte de l'étude **4**
I.1. La difficile lutte biologique contre *D. suzukii* 4
I.1.a. Prédateurs 4
I.1.b. Micro-organismes 4
I.1.c. Parasitoïdes de drosophiles 4
I.2. *Asobara japonica*, un parasitoïde naturel de *D. suzukii* 6
I.2.a. Présentation de l'espèce 6
I.2.b. Caractéristiques biologiques et écologiques 7
I.2.c. Efficacité dans la lutte contre *D. suzukii* 8
II. Matériel et méthodes **10**
II.1. Obtention et maintien des souches d'insectes 10
II.1.a. Souches du parasitoïde *Asobara japonica* 10
II.2.b. Espèces de drosophiles 10
II.2. Tests de parasitisme en conditions de non choix en laboratoire 13
II.2.a. Expérience principale en tubes 13
II.2.b. Test complémentaire de parasitisme sur des larves âgées de *D. subobscura* et *D. immigrans* 14
II.2.c. Test de parasitisme sur *D. busckii* 14
II.2.d. Calcul d'indices : Degré d'Infestation (DI) et Succès Parasitaire (SP) 14
II.3. Test de parasitisme en conditions semi-naturelles sur fraisiers 15
III.4. Analyses statistiques 17
III.4.a. Expérience principale en tubes 18
III.4.b Test de parasitisme en conditions semi-naturelles sur fraisers 19

III. Résultats 20
III.1. Tests de parasitisme en conditions de non choix en laboratoire 20
III.1.a. Expérience principale en tubes 20
III.1.b. Test complémentaire de parasitisme sur des larves âgées de *D. subobscura* et *D. immigrans* 24
III.1.c. Test de parasitisme complémentaire sur *Drosophila busckii* 25
III.2. Tests de parasitisme sur *D. suzukii* sur fraisiers 26
III.2.a. Généralités sur les émergences de parasitoïdes et de drosophiles 26
III.2.b. Analyse du nombre de parasitoïdes 26
III.2.c. Analyse du nombre de drosophiles 27
IV. Discussion 28
IV.1. Tests de parasitisme en conditions de non choix en laboratoire 28
IV.2. Test de parasitisme sur *D. suzukii* sur fraisiers 30
IV.3. Perspectives 31
Conclusion 32
Bibliographie 33
Sitographie 37

Liste des abréviations

CASDAR = Compte d'Affectation Spéciale Développement Agricole et Rural

CNRS = Centre National de Recherche Scientifique

DI = Degré d'infestation

GIS = Groupement d'Intérêt Scientifique

GLM = Generalized Linear Model

INRA = Institut National de la Recherche Agronomique

OILB-SROP = Organisation Internationale de la Lutte Biologique - Section Régionale Ouest Paléarctique (IOBC-WPRS en anglais)

RDLB = Recherche et Développement en Lutte Biologique

SP = Succès parasitaire

UMR = Unité Mixte de Recherche

UNS = Université de Nice Sophia Antipolis

Liste des annexes

Annexe 1 : Recette du milieu nutritif pour drosophiles

Annexe 2 : Expérience principale. Développement des témoins – Script R du modèle et tests statistiques

Annexe 3 : Expérience principale. Degré d'infestation – Script R du modèle et tests statistiques

Annexe 4 : Expérience principale. Succès parasitaire – Script R du modèle et tests statistiques

Annexe 5 : Expérience principale. Sexe-ratio – Script R du modèle et tests statistiques

Annexe 6 : Expérience sur fraisiers. Nombre de parasitoïdes – Script R du modèle et tests statistiques

Annexe 7 : Expérience sur fraisiers. Nombre de drosophiles – Script R du modèle et tests statistiques

Annexe 8 : Recette de la gélose nutritive pour parasitoïde

Liste des figures

Figure 1 : Taxonomie de l'espèce *Asobara japonica*

Figure 2 : Photo d'un individu mâle d'*Asobara japonica*

Figure 3 : Photo d'un individu femelle d'*Asobara japonica*

Figure 4 : Test de parasitisme de six espèces du genre *Asobara* sur *D. suzukii*

Figure 5 : Abondance relative des espèces du genre *Drosophila* capturées dans des vergers des vallées du Rhône et de la Saône

Figure 6 : Abondance relative des espèces de *Drosophila* capturées dans les Alpes-Maritimes en février 2015

Figure 7 : Abondance relative des espèces de *Drosophila* capturées dans les Alpes-Maritimes en avril 2015

Figure 8 : Photo de l'élevage des drosophiles en tubes sur du milieu nutritif

Figure 9 : Photo de l'élevage de *D. suzukii* en tubes sur du milieu nutritif

Figure 10 : Représentation schématique des tests de parasitisme en conditions de non-choix en laboratoire

Figure 11 : Photo de plants de fraisiers utilisés pour le bloc 1

Figure 12 : Photo de cage *insect-proof* utilisée pour le test de parasitisme en conditions semi-naturelles

Figure 13 : Photo des fraises récoltées après infestation et parasitisme, et placées dans une boîte *insect-proof*

Figure 14 : Photo de la même boîte que la figure précédente à la fin des émergences

Figure 15 : Photo de la vue d'ensemble des 20 cages utilisées pour le test de parasitisme dans la serre de quarantaine de type S2

Figure 16 : Test de parasitisme en conditions de non-choix en laboratoire (Bloc 1). Moyenne des émergences de drosophiles et de parasitoïdes

Figure 17 : Test de parasitisme en conditions de non-choix en laboratoire (Bloc 2). Moyenne des émergences de drosophiles et de parasitoïdes

Figure 18 : Nombre d'insectes émergés (*D. suzukii* ou *A. japonica*) à partir des fraises récoltées en fin d'expérience

Liste des tableaux

Tableau 1 : Phylogénie des espèces de drosophiles utilisées dans les expériences de parasitisme

Tableau 2 : Plan d'expérience du test de parasitisme en conditions de non-choix en laboratoire

Tableau 3 : Nombre de fraises récoltées à la fin de l'expérience, à partir desquelles on a compté les émergences.

Tableau 4 : Moyennes du développement (en % du nombre total d'œufs repiqués initialement, i.e. 50) des témoins de chaque espèce testée, en fonction du bloc (B1 ou B2)

Tableau 5 : Moyennes du degré d'infestation (en %) par les trois souches d'*A. japonica* en fonction des espèces de drosophiles analysées par le modèle et en fonction du bloc (B1 ou B2)

Tableau 6 : Moyennes du succès parasitaire (en %) des trois souches d'*A. japonica* sur les trois espèces de drosophiles analysées par le modèle, en fonction du bloc (B1 ou B2)

Tableau 7 : Moyennes de sexe-ratio (F/[M+F], en %) des parasitoïdes de la souche sexuée IR sur trois espèces hôtes.

Tableau 8 : Données complémentaires de degré d'infestation et de succès parasitaire (en %) sur le parasitisme tardif (larves âgées de cinq jours) de trois souches d'*A. japonica* sur *D. immigrans* et *D. subobscura*

Tableau 9 : Résultats du test de parasitisme d'*A. japonica* sur *D. busckii* en nombre approximatif d'insectes émergés.

Tableau 10 : Moyenne des parasitoïdes émergés des fraises récoltées par cage, en fonction du bloc et de la souche de parasitoïde

Tableau 11 : Moyenne du nombre de drosophiles émergées des fraises récoltées par cage, en fonction du bloc et de la souche de parasitoïde

Tableau 12 : Tableau comparatif des valeurs de DI et SP d'*A. japonica* calculées dans ce rapport et de celles calculées à partir des données présentées dans l'article d'Ideo *et al.* (2008)

Avant-propos

« Si nous nous approchons de la nature et de l'environnement sans cette ouverture à l'étonnement et à l'émerveillement, si nous ne parlons plus le langage de la fraternité et de la beauté dans notre relation avec le monde, nos attitudes seront celles du dominateur, du consommateur ou du pur exploiteur de ressources, incapable de fixer des limites à ses intérêts immédiats. En revanche, si nous nous sentons intimement unis à tout ce qui existe, la sobriété et le souci de protection jailliront spontanément. »

« Dans le schéma du gain il n'y a pas de place pour penser aux rythmes de la nature, à ses périodes de dégradation et de régénération, ni à la complexité des écosystèmes qui peuvent être gravement altérés par l'intervention humaine. De plus, quand on parle de biodiversité, on la conçoit au mieux comme une réserve de ressources économiques qui pourrait être exploitée, mais on ne prend pas en compte sérieusement, entre autres, la valeur réelle des choses, leur signification pour les personnes et les cultures, les intérêts et les nécessités des pauvres. »

Pape François (2015), Lettre encyclique *Laudato si'* sur la sauvegarde de la maison commune. *Libreria Editrice Vaticana*

Introduction

L'agro-écologie, définie par Tomich *et al.* (2011) comme « un ensemble disciplinaire alimenté par le croisement des sciences agronomiques (agronomie, zootechnie), de l'écologie appliquée aux agroécosystèmes et des sciences humaines et sociales (sociologie, économie, géographie) » [1], a été définie comme l'un des deux chantiers scientifiques prioritaires de l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) dans son document d'orientation 2010-2020 (Guillou *et al.*, 2010). Ce thème apparaît comme une réponse et une suite alternative au paradigme de l'agriculture chimique productiviste née de l'après-guerre, avec une volonté de proposer à la société une agriculture durable qui prend en compte les équilibres écologiques dans la fonction de production. Olivier de Schutter (2011) prétend que l'agro-écologie «peut simultanément accroître la productivité agricole et la sécurité alimentaire, améliorer les revenus et les moyens de subsistance ruraux et renverser la tendance vers la disparition d'espèces et l'érosion génétique ».

La lutte biologique, définie comme "l'utilisation d'organismes vivants (appelés auxiliaires) pour empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés par des organismes nuisibles" (OILB-SROP 1973), est un élément clé du concept d'agro-écologie car il permet de mettre au profit de l'homme les interactions écologiques déjà existantes pour protéger les cultures. C'est un outil inestimable pour la lutte contre les bio-agresseurs et les recherches sur ce sujet servent à la fois l'agriculture et la compréhension des interactions écologiques dans la nature. Au sein de l'Institut Sophia Agrobiotech (UMR Inra 1355, CNRS 7254, UNS) dont l'axe de recherche majeur est l'étude du « fonctionnement des interactions entre plantes, bioagresseurs et symbiotes » [2], la lutte biologique est la thématique principale de l'équipe RDLB (Recherche et Développement en Recherche Biologique). Celle-ci se donne pour mission d'évaluer la faisabilité de la lutte biologique sur certains modèles biologiques d'intérêt pour les filières concernées qu'ils soient des ravageurs émergents ou récurrents [3]. Il existe quatre types de lutte biologique définis par Eilenberg *et al.* (2001) :

- La lutte biologique par acclimatation, dite classique, qui consiste à introduire à l'échelle d'un territoire un agent auxiliaire exotique, ayant co-évolué avec le ravageur visé, afin qu'il s'établisse de manière pérenne dans le milieu d'introduction et puisse ainsi contrôler durablement les populations d'un ravageur donné, lui-même le plus souvent exotique.
- La lutte biologique par inoculation, qui vise à lâcher des auxiliaires dans la culture à protéger dans le but que ceux-ci se multiplient et contrôlent le bio-agresseur sur une période déterminée.
- La lutte biologique par inondation, différente de la précédente dans le fait qu'on ne cherche pas l'installation des individus dans la culture mais un simple contrôle des ravageurs par les individus relâchés eux-mêmes
- La lutte biologique par conservation dans laquelle on cherche à favoriser l'environnement local de la culture pour attirer les auxiliaires indigènes sur la parcelle et pérenniser autant que possible leur présence, même en absence de dégâts observés du ravageur concerné

L'équipe RDLB travaille sur ces quatre stratégies, et historiquement sur la première. Les projets traités répondent à des demandes du milieu professionnel en manque de solutions contre des ravageurs problématiques. Un résultat récent et marquant de lutte biologique classique est l'introduction en France de l'auxiliaire *Torymus sinensis* pour lutter contre le cynips du châtaignier. En plus de son intérêt agronomique évident, l'intérêt scientifique de ce projet est de comprendre les conditions qui déterminent le succès d'établissement et la dispersion d'une espèce exotique introduite (Borowiec *et al.*, 2014).

La présente étude s'intéresse spécialement au modèle *Drosophila suzukii* / *Asobara japonica*. La première espèce est une drosophile (Diptera, Drosophilidae) originaire du Japon

qui a envahi les États-Unis puis l'Europe à partir de 2008 (Hauser *et al.*, 2009 ; Raspi *et al.*, 2011). Elle est rapidement devenue un ravageur des fruits rouges, surtout des cerises et des fraises, à cause de facteurs biologique et écologique qui favorisent son installation. D'un point de vue biologique, elle se différencie des autres drosophiles par un ovipositeur denté qui lui permet de pondre ses œufs dans les fruits sains en maturation, les larves causant alors des dégâts en consommant les fruits de l'intérieur. Son impact économique sur la production de cerises a été évalué à 10 M€ de pertes directes en France en 2012 (Forum Phyto, 2013). D'un point de vue écologique, elle profite à la fois d'une polyphagie qui lui permet de coloniser de nombreux milieux divers et d'une grande résistance face aux parasitoïdes indigènes (Poyet, 2014). La lutte chimique est délicate car il existe peu de produits efficaces (Bruck *et al.*, 2011) et en France peu de produits sont autorisés dans les productions concernées.

L'équipe RDLB, conformément à ses axes de recherche, veut proposer une solution de lutte biologique pour contrôler cette drosophile qui bénéficie apparemment d'un relâchement de pression parasitaire en Europe (Poyet, 2014). En effet, seules deux espèces de parasitoïdes indigènes semblent pouvoir parasiter efficacement *D. suzukii* (Chabert *et al.*, 2012). La lutte biologique par lâchers paraît donc encore malvenue. Pour trouver des auxiliaires efficaces contre un ravageur exotique, il est souvent pertinent de diriger la prospection dans l'aire d'origine du ravageur visé. Or, il se trouve qu'il existe en France des souches d'un parasitoïde japonais de *D. suzukii*, conservées dans des laboratoires pour des questionnements académiques sur le parasitisme des drosophiles (Mabiala-Moundoungou *et al.*, 2010). Cet auxiliaire est *Asobara japonica* (Hymenoptera, Braconidae), à la biologie et l'écologie peu étudiées dans la littérature scientifique. Cependant, on sait que cette espèce est un des parasitoïdes principaux de *D. suzukii* au japon (Mitsui et Kimura, 2010), et qu'elle possède un bon taux de parasitisme par rapport aux espèces européennes (Chabert *et al.*, 2012 ; Kacsoh et Schlenke, 2012 ; Poyet *et al.*, 2013). Ce parasitoïde larvaire est donc un candidat pertinent de lutte biologique classique.

Avant d'introduire un auxiliaire exotique, il est nécessaire d'étudier les conséquences écologiques de son éventuelle introduction sur le territoire à coloniser. En effet, l'introduction d'espèces exogènes pour l'agriculture peut parfois occasionner des effets nuisibles non désirés, même si ce phénomène reste étonnamment rare (Malausa, 1999). C'est le cas de la coccinelle asiatique *Harmonia axyridis*, très compétitive avec les coccinelles indigènes (Brown *et al.*, 2008), ou du parasitoïde de pucerons *Lysiphlebus testaceipes* qui aurait déplacé deux espèces congénériques en Italie, c'est-à-dire modifié leur répartition et leur biologie par un mécanisme compétitif biologique complexe (Tremblay, 1984). L'évaluation des risques potentiels des agents de lutte biologique entomophages n'a pas été effectuée systématiquement depuis les débuts de l'utilisation de la méthode, contrairement aux agents de lutte biologique phytophages qui ont toujours subi un examen d'entrée méticuleux (Van Lenteren, 2006). Dans le cas qui nous intéresse, l'évaluation de l'impact d'*A. japonica* est d'autant plus nécessaire que le cadre réglementaire se veut de plus en plus strict sur les introductions d'arthropodes exotiques. Le décret du 30 janvier 2012 [4] instaure une nouvelle procédure de demande d'introduction jusque-là inexistante de « macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique ». Cette procédure comprend « une évaluation du risque phytosanitaire et environnemental que peut présenter l'introduction de ce macro-organisme dans l'environnement ». Cependant, cette évaluation est laissée au jugement de l'organisation, et est ensuite appréciée par l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), qui prend la décision d'autoriser ou non l'introduction.

Le présent travail s'intéresse donc à l'évaluation d'*A. japonica* pour une potentielle introduction en France afin de lutter contre *D. suzukii*. Cette évaluation se fait en deux parties.

D'une part, on procédera à une étude de la spécificité du parasitoïde, afin de prédire quels seront ses hôtes, autres que *D. suzukii*, en France. L'innocuité d'un auxiliaire est en effet plus sûre si celui-ci n'attaque que l'espèce cible, et généralement la spécificité entraîne une meilleure efficacité (Kaser et Heimpel, 2015). La gamme d'hôtes *d'A. japonica* a été étudiée au Japon par Ideo *et al.* (2008), mais pour déterminer la virulence d'un parasitoïde de drosophiles, il faut utiliser des populations sympatriques (Kraaijeveld et van del Wel, 1994 ; Kraaijeveld et van Alphen, 1994). C'est donc la raison de cette étude concernant les potentialités de parasitisme d'*A. japonica* vis-à-vis de différentes drosophiles indigènes. L'expérience se déroule en laboratoire en milieu de culture. Il s'agit de tests de parasitisme, testant trois souches du parasitoïde sur cinq espèces de drosophiles issues de piégeages sur le terrain, dont *D. suzukii*.

D'autre part, on veut acquérir plus de données sur l'efficacité de ce parasitoïde à contrôler *D. suzukii* dans les cultures de fraisiers. En effet, il faut s'assurer que le parasitoïde d'intérêt est réellement efficace, sinon il est inutile de prendre des risques environnementaux à l'introduire en France. Pour cela, nous procéderons à des tests de parasitisme des trois souches du parasitoïde dans des cages contenant des plants de fraisier individuels préalablement infestés par *D. suzukii*.

Toutes les expériences ont été réalisées à l'Institut Sophia Agrobiotech (Sophia Antipolis, France) entre mars et août 2015. Ce stage s'inscrit dans le CASDAR « *Drosophila suzukii* : connaissance du ravageur, caractérisation du risque et évaluation de méthodes pour sa maîtrise rapide et durable » (2013-2016) et le projet européen DROPSA (2013-2017) sur les ravageurs et les maladies des principales cultures fruitières européennes. Il est financé dans le cadre du groupement d'intérêt scientifique Fruits (GIS Fruits, plus d'informations sur [5])

Il y aura tout d'abord dans ce mémoire une partie de synthèse bibliographique résumant les informations existantes sur la lutte contre *D. suzukii*, et sur *A. japonica*, particulièrement sa capacité à parasiter *D. suzukii*. Puis on détaillera le protocole des expériences de spécificité en laboratoire et d'efficacité en serre. Les données obtenues seront commentées et analysées statistiquement. Enfin, on comparera ces données avec la littérature existante et on discutera de leur portée, avant de conclure sur cette étude.

I. Synthèse bibliographique du contexte de l'étude

I.1. La difficile lutte biologique contre *D. suzukii*

Cette partie est consacrée aux différentes solutions envisagées à l'heure actuelle comme utilisation d'organismes vivants capables de consommer et/ou tuer *D. suzukii* sous toutes ses formes de vie, afin de contrôler ses populations et diminuer les dégâts dont elle est responsable dans les cultures.

I.1.a. Prédateurs

Il y a très peu de littérature existante sur des prédateurs de *D. suzukii*, c'est-à-dire des animaux capables de tuer la drosophile à des fins alimentaires. Les prédateurs étudiés sont tous indigènes des zones infestées et les études sont très récentes. Aucun prédateur japonais de *D. suzukii* n'a été identifié à ce jour.

Certains prédateurs déjà commercialisés parviennent à faire baisser la population de drosophiles *in vitro* : les punaises Anthocoridae *Orius laevigatus* et *Anthocoris nemoralis* (Cuthbertson *et al.*, 2014 ; Gabarra *et al.*, 2015). Certains arthropodes testés n'ont presque aucun impact sur le ravageur : *Orius majusculus*, *Dalotia (Atheta) coriaria* et *Hypoaspis miles* (Cuthbertson *et al.*, 2014). Ces derniers résultats sont cependant contredits par le travail de Renkema *et al.* (2015) qui constatent une efficacité de *D. coriaria* allant jusqu'à 50% de mortalité de la mouche en cas de forte infestation.

Les résultats obtenus en laboratoire ont besoin d'une confirmation en champ qui s'avère délicate à cause de la difficulté probable à attraper les proies et l'abondance d'autres proies plus favorables. De nombreux insectes prédateurs semblent s'attaquer à *D. suzukii* en situation de non-choix, mais ils n'en sont pas pour autant de bons agents de lutte par augmentation car ce sont le plus souvent des prédateurs généralistes. Mais les candidats acceptables *in vitro*, tels que *O. laevigatus*, *A. nemoralis* et encore *Labidura riparia* (Gabarra *et al.*, 2015) peuvent être utilisés ou favorisés en lutte biologique par conservation car ils sont très polyphages et peuvent s'installer dans la culture avant la prolifération de *D. suzukii*.

I.1.b. Micro-organismes

Woltz *et al.* (2015) ont étudié l'effet de la pulvérisation de nématodes (trois espèces) et de champignons entomopathogènes (trois espèces) sur *D. suzukii*. Les nématodes se sont révélés très peu efficaces, notamment dans des conditions semi-naturelles. Parmi les espèces des champignons testées, une seule (*Metarhizium anisopliae*) a augmenté significativement la mortalité de *D. suzukii*. Les résultats de cette étude s'avèrent cependant contradictoires avec les résultats publiés par d'autres auteurs qui ne trouvent pas une telle efficacité (Naranjo-Lázaro *et al.*, 2014 ; Cuthbertson *et al.*, 2014), probablement à cause d'une différence de souches utilisées. À l'inverse, *Beauveria bassiana* a été jugée inefficace alors que ces autres auteurs ont noté une notable létalité sur *D. suzukii*. En conclusion, la lutte par champignons entomopathogènes peut être intéressante à condition de découvrir des souches efficaces.

I.1.c. Parasitoïdes de drosophiles

Les principaux ennemis naturels des drosophiles sont des hyménoptères parasitoïdes, en particulier les Braconidae et les Figitidae (Kanzawa, 1939 ; Janssen, 1989). Ils s'attaquent exclusivement aux larves ou aux pupes (Carton *et al.*, 1986). On recense environ une dizaine de genres de parasitoïdes de *D. suzukii* (Walsh *et al.*, 2011).

Parasitoïdes indigènes

D. suzukii a quitté le Japon sans son cortège de prédateurs et de parasitoïdes associés qui font que dans son aire d'origine elle n'est pas un ravageur problématique (Poyet, 2014). Il est intéressant d'examiner (i) les parasitoïdes indigènes présents dans les pays envahis afin de comprendre les pressions parasitaires que le nouveau ravageur subit en arrivant et (ii) comment il est possible d'utiliser les espèces d'intérêt pour contrôler au moins en partie le ravageur.

Sur ce constat, Chabert *et al.* (2012) ont évalué les taux de parasitisme occasionnés par cinq espèces de parasitoïdes de drosophiles rencontrées en Rhône-Alpes sur *D. suzukii*, ainsi que *A. japonica* comme témoin exotique. Les deux parasitoïdes de pupes (un ectoparasitoïde cosmopolite de diptères *Pachycrepoideus vindemmiae* (Pteromalidae) et un endoparasitoïde de drosophiles *Trichopria cf drosophilae* (Diapriidae)) se sont trouvés les seuls indigènes capables de parasiter *D. suzukii*. Parmi ces deux espèces, *T. cf drosophilae* est la plus efficace, avec un succès parasitaire de 90 à 100%, c'est-à-dire un taux d'émergence de parasitoïdes par rapport au nombre de drosophiles parasitées. Deux parasitoïdes larvaires (*Leptopilina boulardi* et *L. heteroma* (Figitidae)) ont provoqué une forte mortalité chez *D. suzukii* mais n'ont pas été capables de se développer dans les larves à cause d'une forte réaction de résistance par encapsulement de celles-ci. *A. tabida* (Braconidae) est incapable de tuer *D. suzukii*. Dans les travaux de Chabert *et al.* (2012), il n'existe pas de conclusion claire sur le parasitoïde le plus efficace à réduire une population de *D. suzukii* entre *A. japonica* et *T. cf drosophilae* même si le premier est jugé plus efficace par l'auteur, car en fonction des modalités de parasitisme, les deux espèces paraissent équivalentes.

Concomitamment à Chabert *et al.* (2012), Rossi Stacconi *et al.* (2013) relatent la première occurrence d'un parasitoïde sur *D. suzukii* dans des conditions naturelles en Oregon (É.-U.) et Trentin (Italie), il s'agit de *P. vindemmiae*. Mais les tests de parasitisme en laboratoire montrent un parasitisme négligeable sur *D. suzukii*. En plus de cela, à cause de sa gamme d'hôtes très généraliste et d'un cas d'introduction à Hawaii peu efficace (Guillén *et al.*, 2002), le parasitoïde n'est pas retenu par l'auteur comme un candidat sérieux de lutte biologique.

Des parasitoïdes indigènes étudiés, *T. cf drosophilae* semble être le seul candidat valable pour une lutte biologique par augmentation (inondation ou inoculation). C'est ce que montrent les essais au Ctifl de Balandran en culture de fraises (Trottin *et al.*, 2014). L'effet du parasitoïde sur la population de *D. suzukii* n'est pas évident, mais peut être *a priori* amélioré. C'est en tout cas l'espèce qui sera peut-être commercialisée par l'entreprise de biocontrôle italienne Bioplanet [6].

Les différents travaux effectués sur la communauté indigène de parasitoïdes indigènes de drosophiles (Rossi Stacconi *et al.*, 2015 ; Gabarra *et al.*, 2015) indiquent que celle-ci n'est pas capable pour l'instant de contrôler les populations de *D. suzukii*. En effet, les parasitoïdes de pupes sont trop peu nombreux et les parasitoïdes de larves inadaptés à l'espèce envahissante. Néanmoins, on peut attendre une adaptation des parasitoïdes indigènes, qui dépend du temps de résidence de l'herbivore et de ses stratégies de résistance de base (Cornell et Hawkins, 1993).

Parasitoïdes de l'aire d'origine

Au Japon, il existe une plus grande communauté de parasitoïdes de *D. suzukii*, constituée de trois espèces de parasitoïdes larvaires et d'un genre de parasitoïdes de pupes (Gabarra *et al.*, 2015). Devant le constat du manque d'efficacité des parasitoïdes européens, il est intéressant d'évaluer ceux d'origine japonaise pour profiter de la co-évolution qui s'est déroulée entre les parasitoïdes et l'espèce hôte, et qui a conduit au contournement des résistances de *D. suzukii*. En effet, les larves de *D. suzukii* présentent un très fort taux

d'hémocytes qui sont responsables d'une réaction immunitaire particulièrement forte contre les parasitoïdes (Kacsoh et Schlenke, 2012 ; Poyet *et al.*, 2013).

Ganaspis xanthopoda et *A. japonica* sont deux parasitoïdes majeurs de drosophiles au Japon capables de parasiter *D. suzukii* (Mitsui et Kimura, 2010). Cependant, selon la même source, *A. japonica* est plus efficace sur cette drosophile que *G. xanthopoda*. Mais l'espèce semble mal connue car les individus sortant de *D. lutescens* sont incapables de se développer dans *D. suzukii* et vice-versa, ce qui est un indice que *G. xanthopoda* est en fait un complexe de deux espèces cryptiques, ce que Kasuya *et al.* (2013) ont tenté de clarifier. Dans cette dernière étude, *Ganaspis* semble être le principal parasitoïde de *D. suzukii* dans les fruits en maturation, ce qui fait de l'espèce un bon candidat de lutte biologique classique.

Peu de travaux évaluent les parasitoïdes japonais pour lutter contre *D. suzukii*. Dans notre travail, on s'intéressera à *A. japonica* car c'est une espèce facilement disponible en laboratoire.

I.2. *Asobara japonica*, un parasitoïde naturel de *D. suzukii*

Dans cette partie, on cherche à mieux connaître l'espèce que l'on va étudier par la suite, et expliquer spécialement en quoi *A. japonica* est un candidat pertinent dans la lutte biologique classique contre *D. suzukii*.

I.2.a. Présentation de l'espèce

L'espèce a été décrite en 1998 par Belokobylskij et sa taxonomie est présentée dans la figure 1.

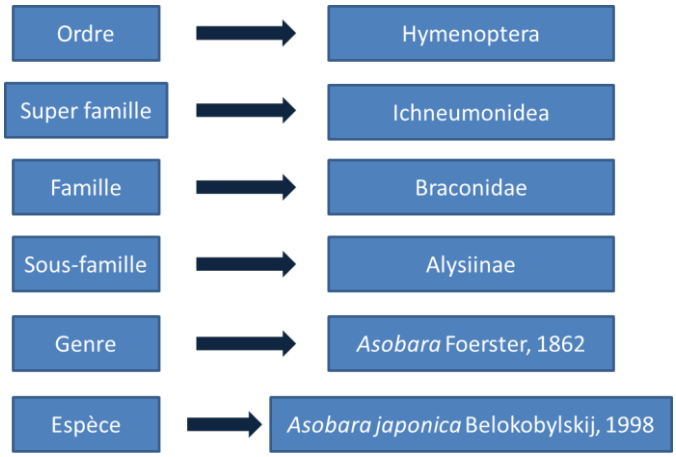


Figure 1 : Taxonomie de l'espèce *Asobara japonica*

Son aire de répartition est décrite comme se limitant strictement au Japon [7]. Néanmoins, elle est largement représentée dans l'archipel nippon, de Sapporo au nord jusqu'à Iriomote-Jima au sud-ouest (Mitsui *et al.*, 2007). Sa présence dans d'autres pays asiatiques n'est pas exclue mais inconnue. Mitsui et Kimura (2010) considèrent que les populations des îles subtropicales sont ancestrales par rapport aux populations des îles principales japonaises qui les auraient colonisées récemment.

Il est très difficile de trouver une description morphologique de l'espèce. Cependant, on connaît le genre pour *A. tabida*, parasitoïde indigène très étudié pour son parasitisme sur les drosophiles, dont une caractéristique morphologique principale est les antennes longues, fines et bicolores. On retrouve ce caractère chez *A. japonica*. Le dimorphisme sexuel se manifeste simplement dans la présence d'un ovipositeur apparent chez la femelle (fig. 2 et 3).

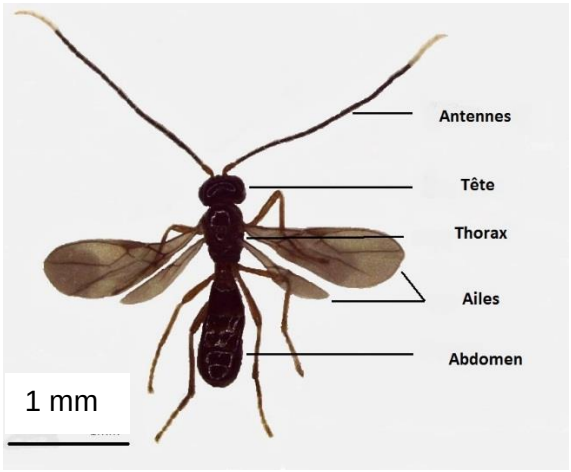


Figure 2 : Individu **mâle** d'*Asobara japonica* (Inra Sophia Antipolis, 24/08/2015, P. Lafargue)

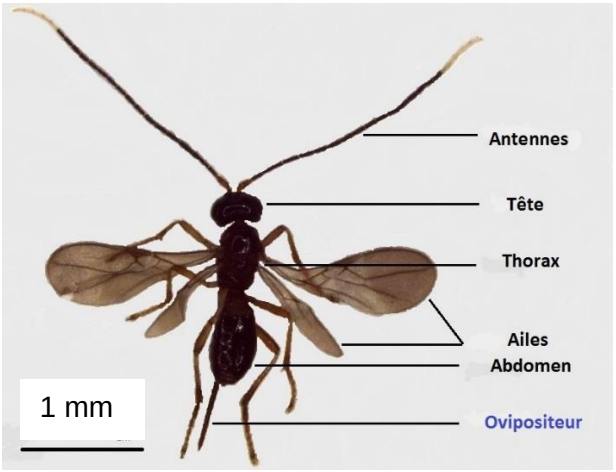


Figure 3 : Individu **femelle** d'*Asobara japonica* (Inra Sophia Antipolis, 24/08/2015, P. Lafargue)

I.2.b. Caractéristiques biologiques et écologiques

Asobara japonica Belokobylskij est un micro-hyménoptère endoparasitoïde koïnobionte solitaire larvaire de drosophiles (Ideo *et al.*, 2008). Cela signifie que les adultes pondent les œufs à l'intérieur des larves des hôtes et que les larves naissantes maintiennent l'hôte en vie le temps de leur propre développement. Puis, lors du stade pupe de l'hôte, avant l'émergence de l'adulte parasitoïde, l'insecte hôte meurt. Une seule larve peut se développer dans chaque hôte. C'est l'un des parasitoïdes de drosophiles les plus abondants au Japon, avec *Ganaspis xanhopoda* (Mitsui et Kimura, 2010).

Cycle biologique

Peu de choses sont connues de son cycle biologique, sinon qu'il existe une diapause en hiver, sauf pour les populations des îles Iriomote, au sud-ouest (Murata *et al.*, 2009). Celle-ci se fait dans les pupes des drosophiles. D'après Mitsui et Kimura (2010), les émergences d'*A. japonica* se font au début du mois de mai, un mois après l'émergence des hôtes drosophiles. Ainsi, ils évitent une fastidieuse recherche d'hôtes rares et trouvent des hôtes déjà abondants. Il existe donc un temps de latence sans pression parasitaire pour les drosophiles au début du printemps.

Habitat

Mitsui et Kimura (2010) ont remarqué qu'*A. japonica* ne se trouvait que rarement dans les forêts des îles centrales du Japon auxquelles elle ne se sont pas encore adaptées, mais plutôt dans les aires urbaines et les petits bosquets et vergers. Néanmoins, en voyant la large gamme d'hôtes de l'espèce, on peut supposer qu'elle s'adapte facilement à divers habitats, ce que corrobore sa répartition dans la plupart du Japon (Nomano et al., 2014).

Détermination sexuelle et infection par *Wolbachia*

On constate une différenciation sexuelle très nette dans les différentes populations japonaises de l'insecte. Celles ancestrales des îles subtropicales se reproduisent sexuellement, produisant des mâles et des femelles (76% de femelles à Iriomote-Jima, n=200) tandis que celles des îles principales sont thélytoques, ne produisant que des femelles (95,4% de femelles à Tokyo, n=503) (Mitsui *et al.*, 2007). Cette parthénogénèse thélytoque est due à l'infection des populations des îles du nord par *Wolbachia* (Kremer *et al.*, 2009 ; Kraaijeveld *et al.*, 2011 ; Reumer *et al.*, 2012), un genre bactérien de symbiotes cytoplasmiques d'arthropodes et de nématodes hérités maternellement, et capable de manipuler la reproduction de ses hôtes (Stouthamer *et al.*, 1999). Contrairement à *Asobara*

tabida, *Wolbachia* n'est pas obligatoire pour l'oogenèse dans les populations thélytoques d'*A. japonica*, mais les femelles issues d'une mère infectée ne sont plus attractives pour les mâles, rendant ainsi la symbiose obligatoire pour avoir des filles dans les populations thélytoques infectées (Kremer *et al.*, 2009).

Selon Murata *et al.* (2009), *A. japonica* est une espèce singulière dans le fait que la majorité des populations connues est parthénogénétique. En effet, il semblerait que la parthénogénèse soit une « impasse évolutive » qui empêche l'espèce de bien s'adapter à un nouvel environnement, conduisant parfois à l'extinction.

Parasitisme particulier avec un venin et un antidote

Mabiala-Moundoungou *et al.* (2010) ont montré qu'*A. japonica* est un spécialiste de la guerre chimique contre ses hôtes, contrairement à d'autres parasitoïdes comme *Leptopilina heterotoma* (Cynipoidea, Figitidae) qui injectent un virus dans le sang des drosophiles pour désactiver ses défenses immunitaires. La particularité d'*A. japonica* réside dans le cocktail qu'il injecte dans le corps de l'hôte avant de pondre : un poison et son antidote. L'antidote atténue certains effets du poison qui, injecté seul, est capable de tuer l'animal par paralysie, en parvenant tout de même à endommager le système de défense immunitaire de l'hôte en réduisant le taux d'hémocytes circulants. Le parasitoïde arrive donc à conserver son hôte dans un état de survie suffisant pour son propre développement, sans laisser à l'hôte la possibilité de se défendre par encapsulement (i.e. système de défense des insectes contre les endoparasitoïdes utilisant une chaîne de réaction qui conduit à l'agrégation de cellules sanguines et à la mélanisation de la capsule ainsi formée). C'est la première occurrence d'un poison létal chez un parasitoïde Braconidae (Furihata et Kimura, 2009).

Gamme d'hôtes

La gamme d'hôtes a été étudiée par Ideo *et al.* (2008) afin de préciser la biologie et l'écologie peu connues de cette espèce. L'auteur rappelle que la gamme d'hôtes d'un parasitoïde est fortement influencée à la fois par l'habitat et la position taxonomique des hôtes. Néanmoins, il montre que l'habitat s'est révélé être le facteur principal de choix des hôtes Drosophilidae pour *A. japonica*. Celui-ci parasite plutôt les larves de drosophiles se nourrissant de bananes et de champignons en décomposition, plutôt que celles se trouvant dans les litières de feuilles. Finalement, une vingtaine d'espèces de drosophiles sont susceptibles d'être attaquées par *A. japonica* : le genre *Chymomyza* et les sous-genres *Dorsilopha*, *Sophophora* et *Drosophila* du genre *Drosophila*. Cependant, certaines espèces appartenant à ces groupes sont résistantes (par exemple, *D. immigrans*), et d'autres meurent lorsqu'elles sont parasitées, sans permettre le développement d'un parasitoïde adulte (par exemple, *D. busckii* subit une forte mortalité larvaire après parasitisme). Nomano *et al.* (2014) rapportent également qu'*A. japonica* se développe au Japon sur plus de 25 espèces de drosophiles, dont principalement *D. simulans* et *D. lutescens*.

Ces résultats semblent confirmer que la distance génétique entre les espèces importe moins dans le choix d'hôtes d'*A. japonica*, au moins au sein du genre *Drosophila*, que les conditions écologiques dans lesquelles les drosophiles sont retrouvées. Il se trouve donc que cette espèce possède une gamme d'hôtes particulièrement large, ce qui est notable pour un parasitoïde koïnobionte, souvent supposés plus spécifiques (Althoff, 2003).

I.2.c. Efficacité dans la lutte contre *D. suzukii*

Il existe quelques travaux qui ont étudié l'impact qu'avait *A. japonica* sur *D. suzukii* dans les territoires envahis (Chabert *et al.*, 2012 ; Kacsoh *et al.*, 2012 ; Poyet *et al.*, 2013) ou dans leur aire d'origine commune (Ideo *et al.*, 2008 ; Mitsui *et al.*, 2007 ; Nomano *et al.*, 2014). Mais aucun d'eux n'a pu montrer l'efficacité potentielle de cette espèce à contrôler les populations de *D. suzukii* qui ravagent les productions de fruits dans les pays récemment

envahis. On ne dispose d'aucune donnée sur des essais en champ ni même en abri confiné *insect-proof* sur les cultures d'intérêt.

Du côté japonais, Mitsui *et al.* (2007) ont relaté le premier cas d'un parasitisme d'*A. japonica* sur *D. suzukii* (2 pupes parasitées sur un total de 1152 collectées). Les travaux d'Ideo *et al.* (2008) confirment ce résultat, avec en plus un test de parasitisme qui donne un résultat de 70% d'*A. japonica* émergés des pupes formées. L'étude de Nomano *et al.* (2014) est particulièrement intéressante car elle examine la capacité du genre *Asobara* à parasiter *D. suzukii*. Il en ressort que malgré sa mauvaise spécificité, *A. japonica* montre de bons résultats par rapport aux autres espèces congénériques (fig. 4). Toutefois, le parasitoïde a été très peu retrouvé dans la nature dans les pupes de *D. suzukii*, peut-être parce qu'il recherche préférentiellement les fruits en décomposition.

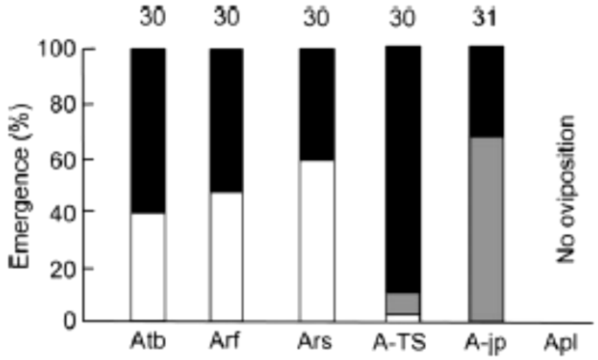


Figure 4 : Fréquence de larves desquelles des mouches (blanc), des parasitoïdes (gris) ou aucun des deux (noir) ont émergé dans les tests de parasitisme utilisant *Asobara tabida* (Atb), *A. rufescens* (Arf), *A. rossica* (Ars), *Asobara* sp. TS1 (A-TS) et *A. pleuralis* (Apl). Le nombre d'individus utilisés dans les expériences est donné sur les colonnes (Nomano *et al.*, 2014). Le parasitisme d'*A. japonica* (Ajp) est donnée comme référence (Mitsui et Kimura, 2010).

En France, les données de laboratoire montrent que par rapport aux parasitoïdes indigènes français, *A. japonica* est très efficace, avec un degré d'infestation supérieur à 90% et un succès parasitaire (cf. II.2.d. pour le détail de ces deux indices) d'environ 40-70% (Chabert *et al.*, 2012). Dans Kacsoh et Schlenke (2012), *A. japonica* se révèle être le parasitoïde ayant le taux d'émergence le plus élevé sur *D. suzukii* (80%) parmi les 24 espèces de parasitoïdes testées (Hymenoptera : Figitidae, Diapriidae, Pteromalidae, Braconidae). Ces derniers ont aussi montré que *D. suzukii* avait une meilleure aptitude à l'encapsulement des endoparasitoïdes que *D. melanogaster* pour la plupart des parasitoïdes étudiés, et que cette résistance était due au nombre d'hémocytes dans le sang, très élevé chez *D. suzukii*. De ce fait, *D. suzukii* résiste à bon nombre d'endoparasitoïdes larvaires. Néanmoins, *A. japonica* semble être le parasitoïde qui arrive le mieux à contourner cette forte charge de cellules défensives (voir plus haut), ce que les auteurs justifient par le fait que les deux espèces soient sympatriques dans leur zone d'origine, et par le fait qu'*A. japonica* ait une stratégie de virulence dirigée préférentiellement vers *D. suzukii*.

Finalement, on sait qu'*A. japonica* est un des seuls parasitoïdes japonais capable de parasiter *D. suzukii* malgré un système immunitaire particulièrement défensif. En laboratoire, son parasitisme est montré très efficace. Néanmoins, on sait également que le parasitoïde est capable de s'attaquer à plus de 25 espèces différentes drosophiles et qu'il ne fréquente pas les mêmes niches écologiques que *D. suzukii*, préférant les fruits en décomposition plutôt que les fruits sains où les larves du ravageur se développent. Ces éléments ne permettent pas de donner une conclusion claire sur la possibilité d'utiliser ce parasitoïde comme agent de lutte biologique contre *D. suzukii*. En effet, il manque trop de données, notamment écologiques, pour mieux comprendre l'efficacité potentielle d'*A. japonica* en champ et les risques environnementaux encourus en cas de lâcher de l'auxiliaire.

II. Matériel et méthodes

II.1. Obtention et maintien des souches d'insectes

II.1.a. Souches du parasitoïde *Asobara japonica*

Origine

Les individus de l'espèce *Asobara japonica* utilisés dans toutes les expérimentations appartiennent à trois souches originaires du Japon et maintenues en laboratoire à Sophia Antipolis (UMR ISA) :

- « A » est dite souche historique car elle a été importée du Japon (Ideo *et al.*, 2008) jusqu'à Amiens (Université de Picardie Jules Verne, Laboratoire de Biologie des Entomophages ; cf. Mabiala *et al.*, 2010) en passant par les Pays-Bas (Prof. J. van Alphen, Leiden University) avant le changement de règlementation relatif à l'importation de macro-organismes exotiques (arrêté du 28 juin 2012). Elle est plutôt parthénogénétique thélytoque, générant donc une grande majorité de femelles.
- « IR » provient de l'île japonaise d'Iriomote, proche de Taiwan. Elle est conservée à l'INRA de Sophia Antipolis. On la teste dans nos expérimentations à cause de son efficacité sur *D. suzukii* constatée en élevage (Laurent Kremmer, comm. pers.). C'est une souche sexuée de sexe-ratio (F/[F+M]) de 0,7 (observations personnelles).
- « TK » vient des environs de Tokyo. Elle est testée à cause d'une suspicion du Prof. Masahito T. Kimura (Université d'Hokkaido) d'une meilleure spécificité pour *D. suzukii*.

Maintien des souches d'*A. japonica* au laboratoire

Les trois souches d'*A. japonica* sont élevées sur *D. melanogaster* de la souche 'Nasrallah' pour se multiplier, car il semble que ce soit la souche de drosophile la moins résistante au parasitoïde (Christian Rebuf, données non publiées). Les adultes sont maintenus en vie dans des tubes en plastique contenant une gélose d'eau sucrée additionnée de nipagine (antifongique), avec un peu de miel sur du papier comme complément alimentaire (recette en annexe 8). L'élevage des parasitoïdes et des drosophiles se fait dans une pièce climatique située dans un bâtiment de quarantaine d'insectes de l'INRA de Sophia Antipolis, nommé Entomopolis. Les conditions de température, d'humidité et de photopériode sont donc les mêmes, à savoir une consigne de 23°C (± 2°C), une humidité relative d'environ 70% (extrêmes de 35% et 90%) et une photopériode de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité. Lors des phases de changement de tube des parasitoïdes, on utilise du CO_2 pour les anesthésier.

II.2.b. Espèces de drosophiles

Origine

Afin d'évaluer au mieux la spécificité d'*A. japonica*, il faut la tester sur les espèces les plus communes et représentatives de la communauté française de drosophiles, ainsi que sur *D. suzukii*. A partir de données existantes concernant la diversité des espèces indigènes de drosophiles en France (fig. 5 d'après Fleury *et al.*, 2009 ; fig. 6 et 7 d'après L. Kremmer, données non publiées), une liste d'espèces d'intérêt a été établie : *D. melanogaster, D. simulans, D. immigrans, D. suzukii, D. subobscura* et *Drosophila* sp1. Il est également intéressant d'obtenir *D. busckii, D. hydei*, *D. testacea* et *D. phalerata*. Toutes ces espèces ont été recherchées sauf *D. simulans* du fait de sa grande ressemblance avec *D.*

melanogaster (Fleury *et al.*, 2004) et de son absence en élevage à l'INRA de Sophia Antipolis, et sauf *Drosophila* sp1 à ce jour non identifiée.

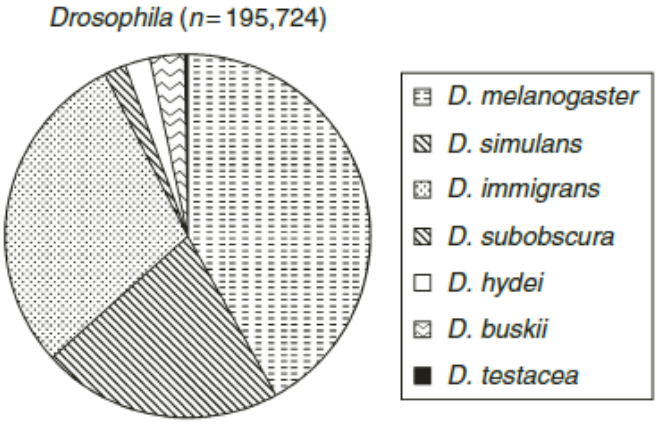


Figure 5 : Abondance relative des espèces de *Drosophila* capturées dans des vergers des vallées du Rhône et de la Saône (pièges à banane). Il s'agit de l'agrégation des données récoltées sur 6 sites, cinq périodes entre avril et septembre 1998 et 16 réplicats par site et période, soit 480 pièges. (Fleury et al., 2009)

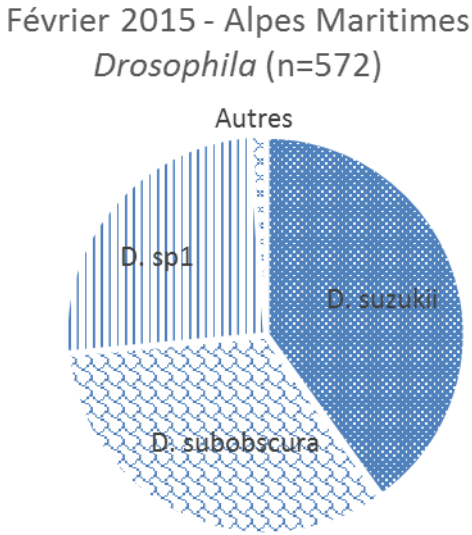


Figure 6 : Abondance relative des espèces de *Drosophila* capturées dans les Alpes-Maritimes en février 2015 (pièges à fruits rouges) (Laurent Kremmer, données non publiées)

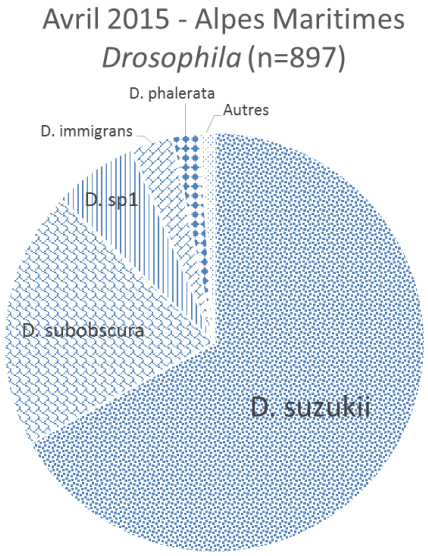


Figure 7: Abondance relative des espèces de *Drosophila* capturées dans les Alpes-Maritimes en avril 2015 (pièges à fruits rouges) (Laurent Kremmer, données non publiées)

Des souches plus ou moins récentes de *D. melanogaster* (2013), *D. suzukii* (2014) et *D. subobscura* (2015) sont déjà disponibles en élevage et seront utilisées par la suite. Les *D. melanogaster* proviennent de la station expérimentale SEFRA dans la Drôme, les *D. suzukii* ont été fournies par R. Allemand (Université de Lyon 1) dans le cadre du travail de Chabert *et al.* (2012) et les *D. subobscura* ont été récupérées à partir d'échantillonnages de terrain dans les Alpes-Maritimes en 2015. Des individus de *D. immigrans* ont été capturés dans un compost à Cagnes-sur-Mer (06) et conservés pour fonder une population d'élevage. De même, la population de *D. busckii* provient du même compost ainsi que de pommes de terre en décomposition à Sophia Antipolis. Cela constitue le pool des 5 espèces gardées en élevage dans le bâtiment Entomopolis.

Les autres espèces mentionnées plus haut n'ont pas pu être mises en élevage car elles n'ont pas été trouvées dans les piégeages et ne sont pas non plus disponibles dans les autres laboratoires de recherche français contactés.

La phylogénie des espèces utilisées est un facteur qui peut expliquer un parasitisme différent d'*A. japonica*. Même si l'on a vu qu'apparemment dans d'autres travaux ce facteur ne semble pas primordial (Ideo *et al.*, 2008), elle est représentée dans le tableau 1.

Tableau 1 : Phylogénie des espèces de drosophiles utilisées dans les expériences de parasitisme.

Espèce	**Groupe**	**Sous-groupe**	**Références**
D. melanogaster	*D. melanogaster*	*D. melanogaster*	Lewis *et al.* (2005)
D. suzukii	*D. melanogaster*	*D. suzukii*	Lewis *et al.* (2005)
D. immigrans	*D. immigrans*	*D. immigrans*	Ideo *et al.* (2008)
D. subobscura	*D. obscura*	*D. subobscura*	Molto *et al.* (1994) et Gao *et al.* (2007)
D. busckii	-	-	-

Maintien des espèces de drosophiles en laboratoire

L'élevage des drosophiles est effectué dans la même salle climatique que les parasitoïdes, dans le bâtiment Entomopolis. Les consignes sont donc les mêmes : 23°C et une photopériode de 16:8. L'humidité relative est assez variable mais se maintient à environ 70%. Ces paramètres sont choisis pour satisfaire au mieux les exigences climatiques des cinq espèces de drosophiles et les parasitoïdes cohabitant dans la même pièce.

Les mouches sont maintenues dans des tubes en plastique transparent fermés par des bouchons en mousse (h. : 8 cm, diam. : 3,5 cm, soit un volume de 68 ml) (fig. 8). Les *D. suzukii* sont placées dans des tubes plus grands (h. :10 cm, diam. : 5 cm, soit un volume de 175 ml) car elles semblent plus sensibles à l'exiguïté des tubes d'élevage (fig. 9). Les tubes sont garnis de 15 ml d'un milieu classique riche en nutriments, composé d'eau, d'agar, de farine de maïs, de levure de bière et de moldex (alcool et nipagine) pour éviter le développement de bactéries et de champignons dans le milieu (recette dans l'annexe 1). Pour faciliter la ponte, on utilise des cages en tissu de 40x40x40cm pleines de drosophiles dans lesquelles on dépose des tubes de milieu ouverts, ou encore des boîtes cylindriques d'environ 10x15cm (h x D) pleines de drosophiles, tapissés de milieu et disposées dans une étuve. Pour stimuler la ponte de *D. suzukii*, nous utilisons du jus de myrtille issu de l'agriculture biologique qui est rajouté sur le milieu avec une simple pipette. Lors des phases de changement de tube des drosophiles, on utilise du CO_2 pour les anesthésier.

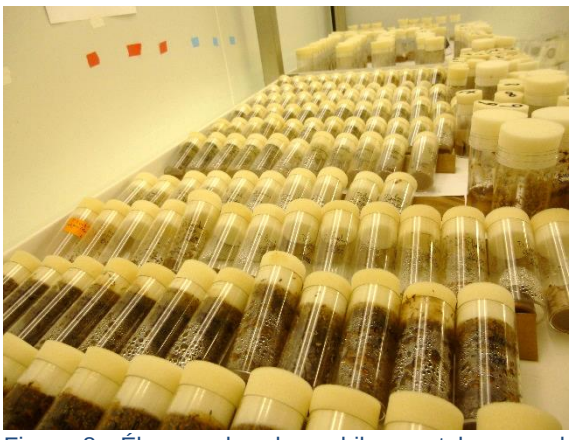


Figure 8 : Élevage des drosophiles en tubes sur du milieu nutritif (Inra Sophia Antipolis, 16/06/2015, P. Lafargue)

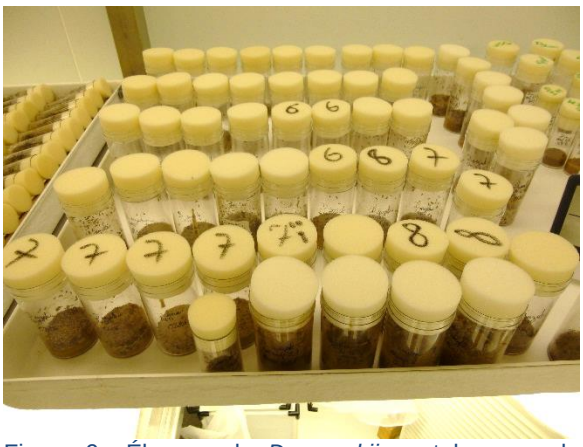


Figure 9 : Élevage de *D. suzukii* en tubes sur du milieu nutritif (Inra Sophia Antipolis, 16/06/2015, P. Lafargue)

II.2. Tests de parasitisme en conditions de non choix en laboratoire

Tous les tests de parasitisme consistent à mettre en contact des adultes parasitoïdes sur des jeunes larves de drosophiles et à compter ce qui émerge quelques jours après une telle opération.

II.2.a. Expérience principale en tubes

Pour cela, 50 œufs de la même espèce de drosophile sont placés dans un tube d'élevage contenant du milieu classique (recette en annexe 1) à l'aide d'une lame de rasoir montée sur un mandrin. Le repiquage des œufs est préféré à celui des larves car cette méthode est plus adaptée à l'obtention d'individus du même âge et elle présente aussi un avantage pratique notable. Une fois les œufs introduits dans les tubes, ces derniers sont placés dans la pièce d'élevage pendant 48 heures afin de permettre aux jeunes larves d'éclore. Cela correspond à un âge propice au parasitisme par le parasitoïde (Ideo *et al.*, 2008). Au bout de 48h, deux femelles d'*A. japonica* de la même souche (âgées de 2 à 10 jours) sont introduites dans les tubes. *A. japonica* ne s'attaquant qu'aux larves, les femelles de parasitoïdes sont retirées des tubes dès que des pupes de drosophiles sont observés dans les tubes témoins (sans parasitoïde).

À la fin du développement, environ une quinzaine de jours après le repiquage des œufs, tous les adultes émergents (drosophiles et parasitoïdes) sont identifiés et dénombrés. Les parasitoïdes sont sexés afin de calculer le sexe-ratio (F/[F+M]) de la population émergente de parasitoïdes de chaque tube. De plus, afin d'estimer la réponse immunitaire des différentes espèces de drosophiles vis-à-vis du parasitisme par *A. japonica*, la présence de capsules (amas de cellules sanguines mélanisées issu du processus de résistance des drosophiles contre les parasitoïdes) dans l'abdomen des adultes de drosophiles a été vérifiée à la loupe binoculaire, après avoir écrasé les adultes entre deux lames de verre.

Tableau 2 : Plan d'expérience du test de parasitisme en conditions de non-choix en laboratoire. Les colonnes représentent les espèces de drosophiles soumises au parasitisme. Les lignes représentent les trois souches d'*A. japonica* utilisées ainsi que le témoin. Les valeurs représentent le nombre de répétitions pour chacune des modalités.

Plan d'expérience	*D. melanogaster*		*D. suzukii*		*D. immigrans*		*D. subobscura*	
	Bloc 1	Bloc 2	Bloc 1	Bloc 2	Bloc 1	Bloc 2	Bloc 1	Bloc 2
Témoin	5	4	4	5	5	5	4	6
Souche A	7	7	8	7	7	7	5	7
Souche IR	7	7	8	7	7	7	5	7
Souche TK	7	7	8	7	7	7	5	7

Dans cette expérience, les deux variables explicatives sont « l'espèce de drosophile » (quatre modalités) et « la souche d'*A. japonica* utilisée » (trois modalités) (tab. 2). Le témoin consiste à déposer les 50 œufs de drosophiles sans les soumettre au parasitisme d'*Asobara japonica*. Le premier bloc a duré du 9 juin (repiquage des oeufs) jusqu'au 8 juillet (derniers individus émergés). Le second bloc a duré du 24 juin au 23 juillet. L'expérience est représentée dans un schéma d'ensemble (fig. 10).

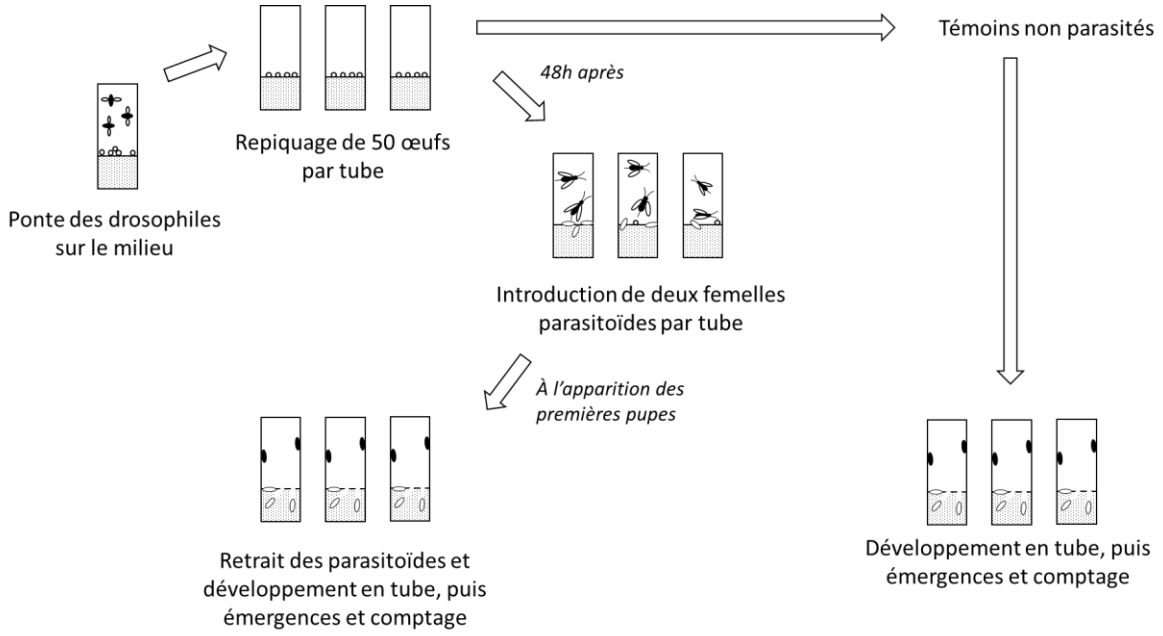


Figure 10 : Représentation schématique des tests de parasitisme en conditions de non-choix en laboratoire.

II.2.b. Test complémentaire de parasitisme sur des larves âgées de *D. subobscura* et *D. immigrans*

A cause d'un faible taux de parasitisme sur *D. subobscura* et *D. immigrans*, on a également réalisé les mêmes tests mais en introduisant les parasitoïdes cinq jours après le repiquage des œufs au lieu de deux, dans des conditions identiques au test principal. Pour *D. immigrans*, on a fait trois témoins et trois réplicats par souche du parasitoïde ; pour *D. subobscura*, il y a eu trois témoins et quatre réplicats par souche du parasitoïde. On veut ainsi s'assurer que le non-développement du parasitoïde n'est pas simplement dû à l'âge de la larve de drosophile. En effet, il est probable que deux jours après le repiquage, les larves de *D. subobscura* soient plus jeunes physiologiquement que les autres espèces étant donné le long développement pré-imaginal de l'espèce.

II.2.c. Test de parasitisme sur *D. busckii*

Initialement, *D. busckii* a été intégrée dans le test de parasitisme et manipulée comme les quatre autres espèces mentionnées. Cependant, il s'est avéré que cette espèce s'est très mal développée dans l'expérience, et les données d'émergences sont inexploitables. Nous avons donc réalisé une expérience complémentaire afin de savoir si *A. japonica* est capable d'utiliser *D. busckii* comme hôte pour se reproduire. Pour cela, on a laissé six tubes de milieu classique dans une cage remplie de drosophiles de cette espèce du 30 juillet au 3 août. Deux tubes sont laissés comme témoins non parasités. Dans les quatre autres, on introduit trois femelles parasitoïdes de la souche IR d'*A. japonica* le 3 août. À cause du grand nombre d'insectes, on compte approximativement les émergences de drosophiles et de parasitoïdes adultes, sans sexer les parasitoïdes émergents.

II.2.d. Calcul d'indices : Degré d'Infestation (DI) et Succès Parasitaire (SP)

À partir du nombre d'émergences observées, on calcule deux indices qui permettent de mieux décrire le parasitisme : le degré d'infestation DI et le succès parasitaire SP (Chabert *et al.*, 2012). Le premier traduit le nombre de drosophiles qui ont été infestées par le parasitoïde et qui en meurent, que le parasitoïde se développe ou non ; il s'agit donc strictement d'un taux de mortalité induit directement par le parasitoïde dans la population. Le deuxième correspond au nombre de parasitoïdes qui ont émergés de la population de drosophiles infestées, donnant ainsi une idée de la capacité du parasitoïde à se développer dans l'hôte considéré. Les deux sont calculés par rapport au nombre de drosophiles qui auraient émergé sans parasitisme, ce qu'on peut appeler le développement intrinsèque de la population (N_0). On estime cette valeur ici par la moyenne par espèce et par bloc du nombre d'adultes obtenu dans les tubes témoins. Les formules sont les suivantes :

$$DI = \frac{N_0 - N_d}{N_0} \text{ et } SP = \frac{N_p}{N_0 - N_d}$$

avec N_0 le développement intrinsèque de la population, Nd le nombre de drosophiles émergées et Np le nombre de parasitoïdes émergés

Évidemment, il est possible que le nombre d'insectes total émergeant ($N_d + N_p$) d'un tube soit supérieur au développement intrinsèque estimé N_0. Dans ce cas, on remplace simplement le N_0 par ($N_d + N_p$) dans les formules ci-dessus (Chabert *et al.*, 2012).

La formule de Chabert *et al.* (2012) prend aussi en compte l'encapsulement, que nous omettons ici car aucune capsule n'a été observée dans les drosophiles parasitées.

II.3. Test de parasitisme en conditions semi-naturelles sur fraisiers

L'objectif de cette expérience est de vérifier la capacité des différentes souches d'*A. japonica* à contrôler efficacement les populations de *D. suzukii* en conditions semi-naturelles. Pour cela, nous avons effectué des tests de parasitisme sur plantes entières (fraisiers) en serre. Il s'agit d'intégrer des composantes écologiques, notamment des *stimuli* végétaux et un environnement plus proche des conditions naturelles qu'un tube de milieu nutritif en laboratoire. On estime que les conditions semi-naturelles sont moins favorables pour le parasitoïde japonais qu'un tube de milieu avec l'hôte à disposition. Dans cette expérience, on souhaite donc vérifier qu'il est capable de parasiter *D. suzukii* dans des fraises infestées. Par contre, les résultats de cet essai ne permettent pas de définir la capacité d'*A. japonica* à contrôler *D. suzukii* dans une culture de fraises sous abris par exemple.

Les fraisiers de la variété 'Mara des Bois' (fig.11) utilisés proviennent du G.A.E.C. Valerioti, entreprise de production de fraises basée à Gattières (06). Les plants n'ont pas été traités chimiquement. Les plants reçus en pain de terreau ont été rempotés dans du terreau de tourbe et arrosés tous les deux jours environ à l'eau claire. Pour le premier bloc les plants utilisés sont jeunes et récemment replantés en pain de terreau avant d'être en phase de production ; pour le deuxième bloc les plants sont retirés de la serre de production où ils sont déjà bien développés.

Les expériences se déroulent dans une serre de type S2 de confinement biologique (fig. 15). Tous les fraisiers utilisés pour cette expérience possédaient une dizaine de fraises allant du blanc (non mûr) au rouge (mûr). Les plants sont répartis individuellement dans des cages

insect-proof en plexiglas (fig. 12) puis six femelles et trois mâles de *D. suzukii* sont introduits dans chacune des cages pour infester les fraises (Girod, 2014). Quelques jours plus tard (quatre jours dans le bloc 1 ; cinq jours dans le bloc 2), huit femelles parasitoïdes d'une même souche sont introduits dans la cage. La répartition des souches dans les cages est faite aléatoirement. Une dizaine de jours après l'introduction des drosophiles (huit jours dans le bloc1 ; dix jours dans le bloc 2), on prélève les fraises rouges des fraisiers (tab. 3) et pour chaque fraisier on pèse l'ensemble des fraises récoltées sur ce plant. Les fraises sont placées dans des boîtes *insect-proof* (fig. 13 et 14), en rassemblant toutes les fraises du même plant dans la même boîte. Tous les individus émergents sont dénombrés et les parasitoïdes sont sexés.

Tableau 3 : Nombre de fraises récoltées à la fin de l'expérience, à partir desquelles on a compté les émergences.

Bloc 1	IR-1	IR-2	Témoin-3	TK-4	TK-5	IR-6	TK-7	IR-8	A-9	A-10	IR-11	Témoin-12	A-13	TK-14	A-15	IR-16	TK-17	TK-18	A-19	A-20
Fraises récoltées	3	4	5	7	4	5	5	4	3	7	8	6	6	5	3	4	8	6	2	4
Bloc 2	TK-1	Témoin-2	TK-3	IR-4	A-5	Témoin-6	IR-7	IR-8	Témoin-9	TK-10	TK-11	Témoin-12	IR-13	Témoin-14	A-15	A-16	IR-17	A-18	A-19	TK-20
Fraises récoltées	11	26	12	8	14	7	14	10	12	5	14	10	13	11	8	13	16	10	20	11



Figure 11 : Plants de fraisiers utilisés pour le bloc 1 (Inra Sophia Antipolis, 06/06/2015, P. Lafargue)



Figure 12 : Cage *insect-proof* utilisée pour le test de parasitisme en conditions semi-naturelles (Inra Sophia Antipolis, 18/06/2015, P. Lafargue)



Figure 13 : Fraises récoltées après infestation et parasitisme, et placées dans une boîte *insect-proof* (Inra Sophia Antipolis, 28/07/2015, P. Lafargue)



Figure 14 : Même boîte que la figure précédente à la fin des émergences (Inra Sophia Antipolis, 24/08/2015, P. Lafargue)

Les conditions dans la serre sont d'environ 30°C (min : 23°C, max : 40°C) maintenus par un système de ventilation, et une humidité relative de 60% environ (min : 15%, max : 80%).



Figure 15 : Vue d'ensemble des 20 cages utilisées pour le test de parasitisme dans la serre de quarantaine de type S2 (Inra Sophia Antipolis, 25/06/2015, P. Lafargue)

Pour cette expérience, deux répétitions ont été réalisées. Le bloc 1 a duré du 18 juin (entrée des *D. suzukii* dans les cages) au 17 juillet (dernières émergences des fraises). Le bloc 2 a duré du 17 juillet au 22 août. Le premier bloc est constitué de deux témoins (pas d'introduction d'*A. japonica* dans la cage) et de six réplicats de chacune des trois souches d'*A. japonica*, soit un total de 20 cages. Le deuxième bloc est constitué de cinq témoins et de cinq réplicats pour chacune des trois souches d'*A. japonica*, soit un total de 20 cages.

II.4. Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été faites grâce au logiciel R (R Core team, 2015), disponible en ligne [8]. Les analyses statistiques et les scripts R effectués sont tous en annexes (2 à 7), et le texte y fera directement référence pour aborder la significativité ou non de certains effets. Les modèles utilisés sont tous des modèles linéaires généralisés (GLM) et ont été sélectionnés grâce à la fonction *stepwise* du package *Rcmdr* en utilisant une procédure *backward* et le critère d'information d'Akaike (Venables et Ripley, 2002). Certaines comparaisons deux-à-deux ont été effectuées avec le test de Tukey (Bretz *et al.*, 2010).

III.4.a. Expérience principale en tubes

Développement des témoins non parasités (annexe 2)

Pour analyser le nombre de drosophiles dans les tubes témoins non parasités, on utilise un GLM de loi binomiale (succès = émergence de l'adulte drosophile à partir d'un œuf ; échec = non émergence) résumé ainsi :

Nombre de drosophiles ~ bloc + hôte + bloc:hôte

Avec *nombre de drosophiles* le nombre de drosophiles adultes émergées compté à partir d'un tube, *bloc* le bloc 1 ou le bloc 2, *hôte* l'espèce de drosophile testée, et *bloc:hôte* l'interaction entre ces deux variables.

Degré d'infestation d'*A. japonica* (annexe 3)

Pour analyser le degré d'infestation comme défini dans la partie II.2.d. de ce rapport, on utilise un GLM de loi binomiale (succès = infestation, c'est-à-dire mort de la drosophile ; échec = non infestation, c'est-à-dire développement de la drosophile jusqu'au stade adulte) résumé ainsi :

Nombre de drosophiles corrigé ~ bloc + hôte + souche + bloc:hôte + bloc:souche + hôte:souche

Avec *nombre de drosophiles corrigé* le nombre compté de drosophiles émergées corrigé en le multipliant par le taux de développement des témoins (i.e. la moyenne du nombre de drosophiles émergées dans les tubes témoins divisé par 50, le nombre d'œufs déposé au début de l'expérience), *souche* la souche d'*A. japonica* utilisée dans le test de parasitisme considéré, et les autres termes les interactions entre les différentes variables.

Pour cette analyse, les données concernant les témoins (pas d'exposition au parasitoïde) ont été retirées. De la même manière, après exploration des données, nous avons décidé de retirer celles concernant *D. immigrans* à cause de son faible taux de parasitisme qui provoque un grand nombre de valeurs nulles, ce qui perturbe les résultats du modèle

Les données utilisées ne prennent en compte ni les témoins ni les résultats de *D. immigrans*, qui perturbe les résultats du modèle à cause de son faible taux de parasitisme.

Succès parasitaire d'*A. japonica* (annexe 4)

Pour analyser le succès parasitaire comme défini dans la partie II.2.d. de ce rapport, on utilise un GLM de loi binomiale (succès = émergence d'un parasitoïde à partir d'un œuf infesté ; échec = non émergence d'un parasitoïde à partir d'un œuf infesté, c'est-à-dire mort à la fois de l'hôte et du parasitoïde) résumé ainsi :

*Nombre de parasitoïdes ~ bloc * hôte * souche*

Avec *nombre de parasitoïdes* le nombre compté de parasitoïdes émergés qui sortent d'un tube, et les autres termes les trois autres variables testées comme expliqués plus haut et leurs interactions.

Les données utilisées ne prennent pas *D. immigrans* qui présente pour cet indice presque uniquement des valeurs nulles.

Sexe-ratio (annexe n)

Pour analyser le sexe-ratio (F/[F+M]), on utilise un GLM de loi binomiale (succès = le parasitoïde émergé est une femelle ; échec = le parasitoïde émergé est un mâle) résumé ainsi :

Sexe-ratio ~ bloc + hôte

III.4.b Test de parasitisme en conditions semi-naturelles sur fraisers

Nombre de parasitoïdes

Pour analyser le nombre de parasitoïdes émergés des cages de fraisiers, on utilise un GLM de loi de Poisson (données de comptage), résumé ainsi :

Nombre de parasitoïdes ~ bloc + souche + init_rouge + fin_rouge + poids_fraise

Avec *nombre de parasitoïdes* le nombre compté de parasitoïdes adultes émergés à partir d'une cage de fraisiers, *souche* la souche d'*A. japonica* utilisée, *init_rouge* le nombre de fraises rouges dans la cage au début de l'expérience, *fin_rouge* le nombre de fraises récoltées à la fin de l'expérience dans chaque cage, et *poids_fraise* le poids total des fraises récoltées à la fin de l'expérience dans chaque cage.

Les données prises en comptes ne contiennent pas les témoins.

Nombre de drosophiles

Pour analyser le nombre de drosophiles émergées des cages de fraisiers, on utilise un GLM de loi de Poisson (données de comptage), résumé ainsi :

*Nombre de drosophiles ~ bloc * souche + init_rouge + fin_rouge*

Avec *nombre de drosophiles* le nombre compté de drosophiles émergeant d'une cage de fraisier, et les autres termes comme expliqués plus haut.

III. Résultats

III.1. Tests de parasitisme en conditions de non choix en laboratoire

III.1.a. Expérience principale en tubes

Généralités concernant les émergences des drosophiles et des parasitoïdes

Le test de laboratoire a permis l'émergence de 2109 drosophiles et 1310 *A. japonica* (dont 230 mâles et 1080 femelles) à partir d'un total de 10200 œufs repiqués. On a observé des émergences de drosophiles dans les témoins des quatre espèces.

Les émergences de drosophiles d'un seul tube s'étalent sur environ cinq jours. Il est donc difficile de donner le calendrier exact des émergences. Pour cela il faudrait relever les émergences plusieurs fois par jour, ce que nous n'avons pas pu faire. Cependant, on constate que les émergences pour chaque espèce ou souche sont simultanées entre les différents tubes à peu de jours près. *D. melanogaster* est toujours la première espèce à émerger, avec la quasi-totalité des individus arrivant au stade adulte 12 à 13 jours après la dépose des œufs dans le milieu. Viennent ensuite les *D. immigrans* qui émergent entre 13 et 14 jours (avec un retard d'un jour dans les tubes parasités du bloc 2). *D. suzukii* émerge entre 13 et 16 jours, et *D. subobscura* entre 14 et 17 jours. Quant à *A. japonica*, pour chaque espèce hôte la souche IR émerge toujours un à deux jours avant les deux autres souches et sept jours après le pic d'émergence des drosophiles hôtes.

Les comptages des émergences sont présentés dans les figures 16 et 17, présentant la moyenne du nombre d'émergences d'insectes adultes pour chaque modalité.

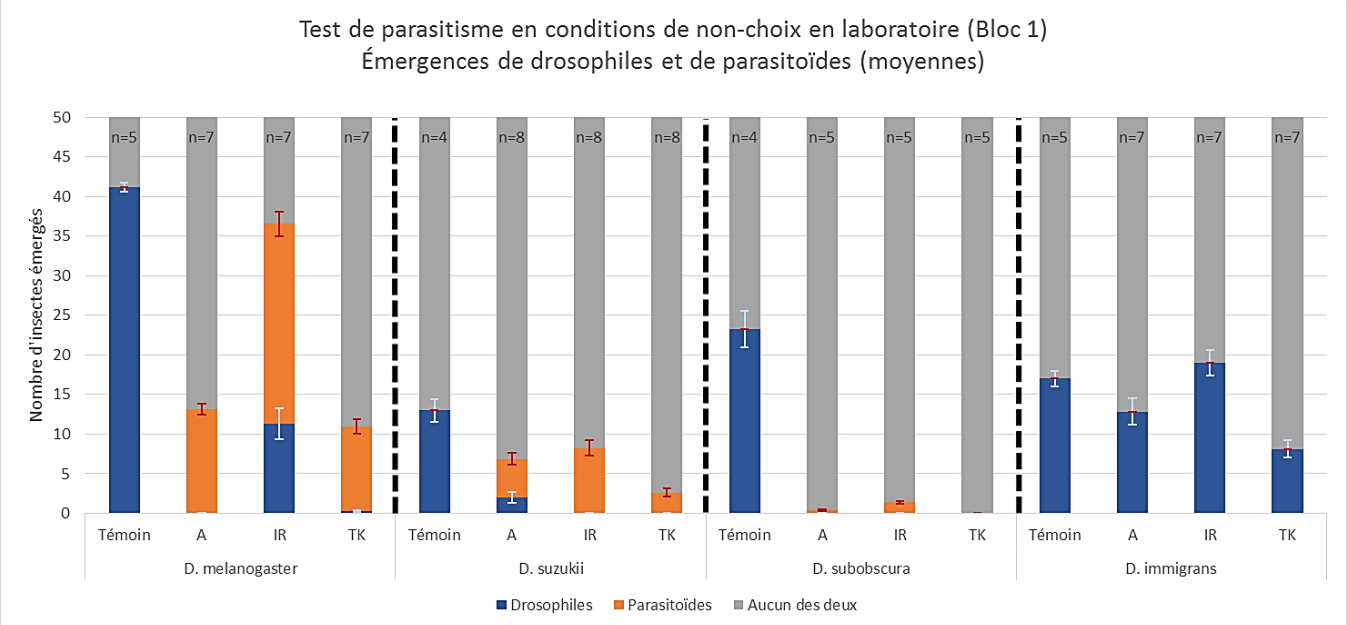


Figure 16 : Moyennes des émergences de drosophiles et de parasitoïdes selon chaque modalité (espèce de drosophile x souche du parasitoïde *A. japonica*). Test de parasitisme en conditions de non-choix en laboratoire (**Bloc 1**). Les barres d'erreur représentent l'écart-type divisé par le nombre de répétitions considéré dans la moyenne (nombre indiqué en haut de chaque colonne).

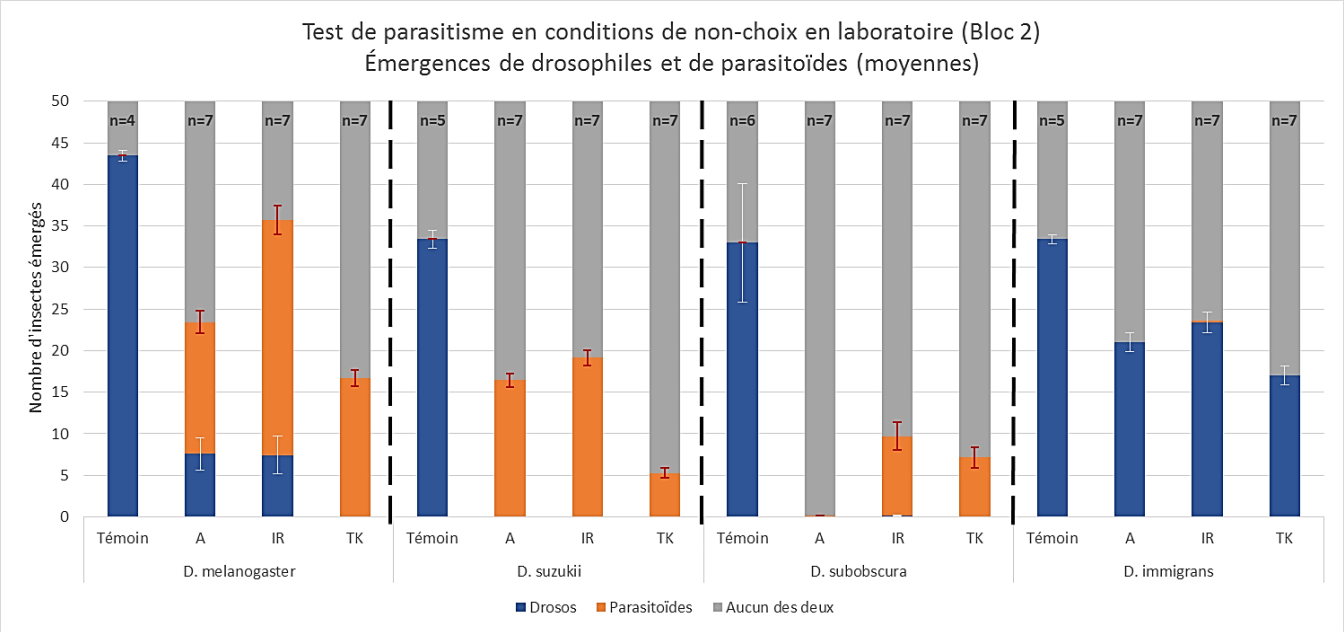


Figure 17 : Moyennes des émergences de drosophiles et de parasitoïdes selon chaque modalité (espèce de drosophile x souche du parasitoïde *A. japonica*). Test de parasitisme en conditions de non-choix en laboratoire (**Bloc 2**). Les barres d'erreur représentent l'écart-type divisé par le nombre de répétitions considéré dans la moyenne (nombre indiqué en haut de chaque colonne).

Développement des témoins non parasités

On a d'abord comparé les différences de développement entre les deux blocs, qu'on devine dans les figures 16 et 17. Pour cela, on ne s'intéresse ici qu'au nombre de drosophiles émergées des tubes témoins non parasités. Le test de déviance appliqué au modèle binomial confirme un effet significatif du bloc, de l'hôte et de l'interaction hôte:bloc (statistiques du test en Annexe 2). *D. melanogaster* a le meilleur développement parmi les cinq espèces de drosophiles avec une moyenne d'environ 85% des œufs repiqués qui conduisent à un adulte vivant (tab. 4). Le développement des autres espèces est de 60% pour *D. subobscura* et 50% pour *D. immigrans* et *D. suzukii*. On voit également que les drosophiles se sont mieux développées dans le bloc 2 que dans le bloc 1, sauf *D. melanogaster* qui a un développement équivalent entre les deux blocs. Pour *D. suzukii* par exemple, le développement est de 25% dans le bloc 1 et de 65% dans le bloc 2. A la vue de ces résultats, on utilisera la moyenne du développement des témoins par bloc dans le calcul des indices DI et SP, au lieu de prendre une moyenne globale (cf III.4.a.).

Tableau 4 : Moyennes du développement (en % du nombre total d'œufs piqués initialement, i.e. 50) des témoins de chaque espèce testée, en fonction du bloc (B1 ou B2), c'est-à-dire le pourcentage de drosophiles émergées dans les tubes témoins non parasités.

Développement des témoins	B1	B2	Total général
D. melanogaster	82,4	87,0	**84,4**
D. suzukii	25,5	66,8	**48,4**
D. subobscura	46,5	66,0	**58,2**
D. immigrans	33,2	66,8	**50,0**
Total général	**48,1**	**70,6**	59,9

Degré d'infestation par *A. japonica*

Le degré d'infestation (DI) traduit le nombre d'hôtes que les deux femelles parasitoïdes dans le tube auront parasités pendant le temps d'exposition. Seuls les effets « hôte », « souche » et l'interaction « souche:bloc » sont significatifs (statistiques du test en annexe 3). Le bloc n'a pas d'effet sur le degré d'infestation, ce qui signifie que même si les drosophiles se développent mieux dans le second bloc que dans le premier, le pourcentage d'individus parasités ne diffère pas selon les blocs. Comme expliqué dans le paragraphe précédent, on a conservé la valeur par bloc du taux de développement des témoins. Ainsi, le nombre de drosophiles qui émergent des tubes parasités sont corrigés grâce à cette même valeur calculée pour chacun des deux blocs. Cela explique donc que l'effet bloc soit fortement estompé, car l'infestation dans chaque bloc est pondérée par le nombre de drosophiles témoins émergées dans ce même bloc.

Dans le tableau 5, l'effet hôte est assez visible. *D. suzukii* et *D. subobscura* sont infestées au même niveau par *A. japonica* (toutes souches confondues). Étant donné le fort degré d'infestation, proche de 100% pour les deux espèces, on peut considérer qu'aux erreurs de manipulation près, tous les individus de ces deux espèces ont été infestés et sont donc morts à cause du parasitisme. *D. melanogaster* est très fortement infestée également mais à moindre mesure (90% environ). *D. immigrans* a subi un taux de mortalité global d'environ 40%.

Les souches ne semblent pas très différentes, mais les graphiques d'émergences (fig 16 et 17) nous montrent que le parasitisme par la souche TK a permis l'émergence de seulement deux drosophiles adultes, ce qui explique son très bon degré d'infestation sur les trois espèces *D. melanogaster*, *D. suzukii* et *D. subobscura*. Les deux autres souches ont permis quelques émergences de *D. melanogaster*, ce qui leur confère un degré d'infestation plus bas, en particulier pour la souche IR.

Tableau 5 : Moyennes du degré d'infestation (en %) par les trois souches d'*A. japonica* en fonction des espèces de drosophiles analysées par le modèle et en fonction du bloc (B1 ou B2). Le nombre de répétitions de tubes de 50 larves parasitées est présenté dans tableau 2. Les données concernant *D. immigrans* sont ajoutées en italique à titre indicatif car non prises en compte dans le modèle.

Degré d'infestation		A	IR	TK	Total général
D. melanogaster	**Total**	**91,3**	**78,2**	**99,7**	**89,7**
	B1	100,0	72,6	99,3	90,6
	B2	82,6	83,7	100,0	88,8
D. suzukii	**Total**	**93,3**	**100,0**	**100,0**	**97,8**
	B1	87,5	100,0	100,0	95,8
	B2	100,0	100,0	100,0	100,0
D. subobscura	**Total**	**100,0**	**99,7**	**100,0**	**99,9**
	B1	100,0	100,0	100,0	100,0
	B2	100,0	99,6	100,0	99,9
Total (sans *D. immigrans*)		**94,6**	**92,5**	**99,9**	95,6
D. immigrans	Total	*39,5*	*24,4*	*50,8*	*38,2*
	B1	*41,8*	*18,9*	*52,5*	*37,8*
	B2	*37,1*	*29,9*	*49,1*	*38,7*

Succès parasitaire par *A. japonica*

Le succès parasitaire correspond à la capacité du parasitoïde à effectuer son développement pré-imaginal dans un hôte. Il s'agit donc du nombre d'œufs pondus dans les hôtes qui ont pu parvenir au stade adulte. Dans cette étude, tous les facteurs étudiés et leurs interactions sont significatifs, excepté l'interaction souche:bloc (statistiques du test en Annexe 4).

Le succès parasitaire général est meilleur dans le bloc 2 (35%) que dans le bloc 1 (31%), sans distinction d'hôte ou de souche de parasitoïde. Ceci peut être expliqué numériquement par la grande différence de succès parasitaire sur *D. subobscura* entre le bloc 1 (2%) et le 2 (18%), car les variations inter-blocs des deux autres espèces sont faibles.

Les différences de développement d'*A. japonica* en fonction de l'espèce de drosophile parasitée sont bien visibles dans le tableau 6. *D. melanogaster* est l'espèce la plus favorable au parasitoïde. Environ 50% des drosophiles infestées de cette espèce aboutissent à l'émergence d'un parasitoïde adulte, contre 37% chez *D. suzukii* et 11 % chez *D. subobscura*. *D. immigrans* n'apparaît pas ici mais le succès parasitaire d'*A. japonica* est très faible, voire nul. En moyenne il émerge environ un individu parasitoïde adulte sur 1000 drosophiles parasitées.

Les trois souches du parasitoïde *A. japonica* se différencient également dans leur succès parasitaire global. La souche IR est celle qui présente le succès parasitaire le plus élevé pour les trois espèces de drosophiles. À un niveau global, c'est-à-dire sans considérer le bloc ou l'espèce, la souche IR présente un succès parasitaire de 50%, contre 27% et 21% pour les souches A et TK respectivement. De plus, la souche IR présente de très bons résultats, notamment sur *D. melanogaster* (74%) et *D. suzukii* (53%). Même si le bloc 1 donne un moins bon SP global, le SP le plus élevé a été rencontré dans le bloc 1 par la souche IR sur *D. melanogaster* (82%).

Tableau 6 : Moyennes du succès parasitaire (en %) des trois souches d'*A. japonica* sur les trois espèces de drosophiles analysées par le modèle, en fonction du bloc (B1 ou B2). Le nombre de répétitions de tubes de 50 larves parasitées est présenté dans tableau 2.

Succès parasitaire		A	IR	TK	Total général
D. melanogaster	**Total**	**35,1**	**74,2**	**32,4**	**47,2**
	B1	31,9	81,7	26,3	46,6
	B2	38,2	66,6	38,4	47,8
D. suzukii	**Total**	**40,6**	**53,5**	**18,4**	**37,5**
	B1	33,1	50,2	20,6	34,6
	B2	49,2	57,3	15,8	40,8
D. subobscura	**Total**	**1,0**	**19,7**	**12,6**	**11,1**
	B1	1,7	6,0	0,0	2,6
	B2	0,4	29,4	21,6	17,2
Total général		**27,1**	**50,7**	**21,5**	33,1

Sexe-ratio

Le sexe-ratio est défini ici comme le rapport du nombre de parasitoïdes femelles émergées sur le nombre total de parasitoïdes émergés.

Souches thélytoques : Dans l'essai principal, la souche A a un sexe-ratio total de 97%. Cette valeur étant particulièrement élevée, on peut considérer que les 3% de mâles sont une marge acceptable pour définir la souche comme thélytoque. La souche TK quant à elle est ici strictement parthénogénétique thélytoque, ayant engendré 100% de femelles.

Souche sexuée : La souche IR a un sexe-ratio total de 68%. Le bloc n'a pas d'effet sur le sexe-ratio de cette souche et seul l'effet hôte est significatif (statistiques du test en Annexe 5). Les résultats par hôte sont présentés dans le tableau 7. Le sexe-ratio de la souche IR montre un plus grand biais vers les femelles dans l'espèce *D. subobscura* par rapport à *D. melanogaster* et *D. suzukii*.

Tableau 7 : Moyennes de sexe-ratio (F/[M+F], en %) des parasitoïdes de la souche sexuée IR sur trois espèces hôtes. Le nombre n représente le nombre de valeurs gardées pour l'analyse.

Sexe-ratio de la souche IR	Sexe-ratio
D. melanogaster (n=26)	64,9
D. suzukii (n=26)	67,4
D. subobscura (n=10)	74,1
Total général	**68,0**

Encapsulement

Il s'est avéré qu'aucune des drosophiles n'a présenté de capsules après parasitisme. Cela paraît cohérent avec d'autres expériences utilisant *A. japonica* à l'INRA (J.-L. Gatti, comm. pers.).

III.1.b. Test complémentaire de parasitisme sur des larves âgées de *D. subobscura* et *D. immigrans*

On a vu précédemment qu'*A. japonica* avait un faible degré d'infestation (38%) et un très faible succès parasitaire (0,1%) sur *D. immigrans*. De plus, le parasitoïde présente un degré d'infestation très élevé (100%) sur *D. subobscura* quelle que soit la souche et un succès parasitaire bien plus faible que sur *D. melanogaster* et *D. suzukii* (11%). Cette seconde expérience vise à effectuer des tests de parasitisme sur des larves plus âgées de ces deux espèces. Considérant le peu de répétitions réalisées, nous n'avons pas procédé à une analyse statistique des résultats.

Le développement des témoins (67%, n=3) pour *D. immigrans* a été équivalent au bloc 2 de l'essai principal (67%, n=5). Pour D. subobscura, le développement des témoins est de 67% (n=3), ce qui est également équivalent au résultat du bloc 2 (66%, n=6).

Sur *D. immigrans*, le degré d'infestation est plus faible que dans l'expérience principale (6% au lieu de 40%) (tab. 8). Il n'y a eu aucune émergence de parasitoïdes dans cette espèce, donc le succès parasitaire est encore une fois nul. Cela corrobore les résultats de l'expérience principale, et montre une fois de plus l'incapacité d'*A. japonica* à se développer dans cette espèce.

Quant à *D. subobscura*, le degré d'infestation (63%) est moindre que dans l'essai principal (100%) (tab. 8), tandis que le succès parasitaire a notablement augmenté entre les deux manipulations. En effet, sur larves âgées, le succès parasitaire global est de 66%, contre 11% dans le test principal sur larves jeunes. De plus, on constate une variation du succès parasitaire selon les trois souches considérées (souche A présentant le meilleur SP) différente de celle observée dans l'essai principal où la souche IR présentait un meilleur SP. Au vu du peu de répétitions réalisées, ces résultats restent difficilement interprétables en l'état. Ainsi, en modifiant l'âge des larves parasitées, on a montré que le développement d'*A. japonica* est possible dans *D. subobscura*, alors qu'il apparaissait difficile dans l'essai principal qui montrait une forte mortalité induite par le parasitoïde.

Tableau 8 : Données complémentaires de degré d'infestation et de succès parasitaire (en %) sur le parasitisme tardif (larves âgées de 5 jours) de trois souches d'*A. japonica* sur *D. immigrans* et *D. subobscura*. Le nombre n correspond au nombre de tubes de 50 œufs de drosophiles effectués pour chaque modalité.

Parasitisme tardif		Degré d'infestation	Succès parasitaire
D. immigrans	**Total**	**5,8**	**0,0**
	A (n=3)	0,7	0,0
	IR (n=3)	2,6	0,0
	TK (n=3)	14,2	0,0
D. subobscura	**Total**	**62,6**	**65,8**
	A (n=4)	77,0	96,8
	IR (n=4)	62,1	67,5
	TK (n=4)	48,8	33,2

III.1.c. Test de parasitisme complémentaire sur *Drosophila busckii*

Le test complémentaire sur *D. busckii* permet de montrer qu'*A. japonica* est capable d'effectuer son développement pré-imaginal dans cet hôte (tab. 9).

Tableau 9 : Résultats du test de parasitisme d'*A. japonica* sur *D. busckii* en nombre approximatif d'insectes émergés.

	D. busckii	*A. japonica*
Témoin 1	27	0
Témoin 2	40	0
IR 1	30	90
IR 2	30	105
IR 3	120	40
IR 4	55	50

Ne sachant pas le nombre initial d'œufs de *D. busckii* pondus dans le milieu, le degré d'infestation et le succès parasitaire d'*A. japonica* n'ont évidemment pas pu être calculés. De plus, il n'y a pas de différence visible dans le nombre de drosophiles sorties des tubes témoins ou des tubes parasités, donc on ne pas conclure sur l'impact réel du parasitoïde sur cette espèce. On sait simplement avec ce test complémentaire que *D. busckii* permet le développement d'*A. japonica* à un taux qui semble non négligeable.

III.2. Tests de parasitisme sur *D. suzukii* sur fraisiers

III.2.a. Généralités sur les émergences de parasitoïdes et de drosophiles

Les émergences sont présentées dans la figure 18. On a constaté l'émergence de drosophiles (212 dans 14 cages dans le bloc 1 ; 265 dans 11 cages dans le bloc 2) et de parasitoïdes (99 dans 12 cages dans le bloc 1 ; 21 dans 5 cages dans le bloc 2). Il y a cinq cages dans le bloc 1 et sept dans le bloc 2 d'où aucun insecte n'est sorti, drosophile ou parasitoïde. À cause de la différence de développement des fraisiers dans les deux blocs, on a récolté en moyenne cinq fraises par cage dans le premier bloc et 12 fraises par cage dans le deuxième. Dans le bloc 2, des punaises prédatrices Anthocoridae, des araignées et des chenilles ont été observés dans les boîtes de fraises récoltées.

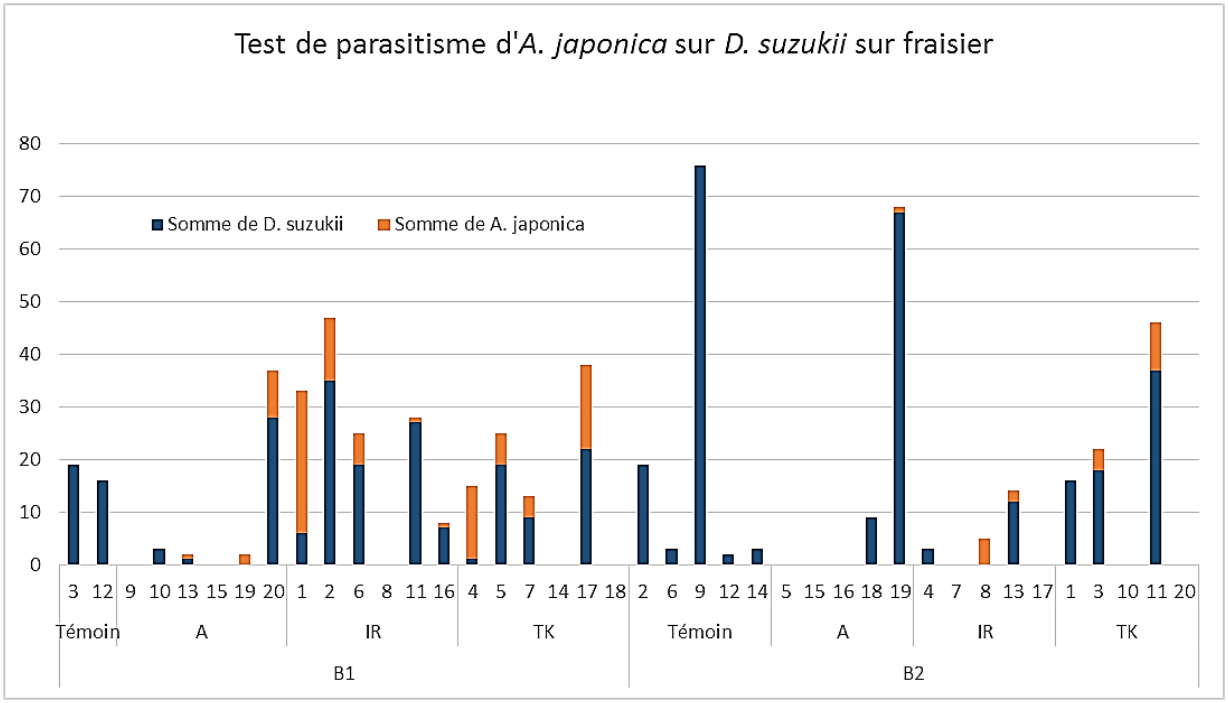


Figure 18 : Nombre d'insectes émergés (*D. suzukii* ou *A. japonica*) à partir des fraises récoltées en fin d'expérience. Chaque colonne est la somme de tous les insectes émergés dans une cage dont le numéro est renseigné en bas de la colonne.

III.2.b. Analyse du nombre de parasitoïdes

Le nombre de parasitoïdes émergés traduit la capacité d'une souche à localiser et se développer dans les hôtes *a priori* présents dans les fraises. Il existe un effet significatif du bloc (test en annexe 6), visible dans le tableau 10. Dans le bloc 1, la moyenne est de 5,5 parasitoïdes émergés par cage, contre 1,4 dans le bloc 2. L'effet de la souche est également significatif, et les comparaisons de moyenne deux-à-deux (test de Tukey en annexe 6) montrent qu'il existe une différence entre la souche A dont peu d'individus ont émergé et chacune des deux autres. Par contre, il n'existe pas de différence entre la souche IR et la souche TK. Le poids de fraises récoltées par cage n'a pas influencé le nombre de parasitoïdes, mais leur nombre a un effet significatif. Plus le nombre de fraises est faible, plus le nombre de parasitoïdes émergés est élevé. Cela peut être simplement dû au fait que les faibles nombres de fraises correspondent au bloc 1, plus favorable aux parasitoïdes. Ce que l'on peut expliquer biologiquement par le fait que la recherche d'hôtes a été plus facile dans des cages avec un plus faible nombre de fraises à prospecter.

Tableau 10 : Moyenne des parasitoïdes émergés des fraises récoltées par cage, en fonction du bloc et de la souche de parasitoïde. Le nombre n correspond au nombre de répétitions pour chaque modalité.

Moyenne du nombre de parasitoïdes émergés par cage	Bloc 1	Bloc 2	Total
A	2 (n=6)	0,2 (n=5)	**1,2**
IR	7,8 (n=6)	1,4 (n=5)	**4,9**
TK	6,7 (n=6)	2,6 (n=5)	**4,8**
Total général	**5,5**	**1,4**	3,6

III.2.c. Analyse du nombre de drosophiles

Le nombre de drosophiles adultes émergées est une valeur intéressante car grâce à elle on pourra caractériser l'efficacité d'*A. japonica* à contrôler les populations de *D. suzukii*. Elle correspond donc à la capacité d'*A. japonica* à réduire la population de *D. suzukii* dans les cages de fraisiers. Ni le bloc ni la souche (dont les témoins) n'ont un effet significatif sur le nombre de drosophiles émergés. Par contre, le nombre de fraises récoltées a un effet, et on voit que plus ce nombre est grand, plus on compte des émergences de drosophiles. Enfin, on observe l'effet de l'interaction souche:bloc, résumé dans le tableau 11. On comprend bien dans ce tableau que les blocs et les souches n'ont pas d'effet car les valeurs comparées entre elles sont équivalentes. Par contre, au sein de chaque bloc, on voit un effet souche assez contradictoire entre les blocs. Par exemple, la souche IR qui semble moins efficace que les deux autres à réduire la population de *D. suzukii* dans le bloc 1, est la plus efficace dans le bloc 2. Cette variabilité entre les deux blocs ne se retrouve pas sur les valeurs globales sans s'intéresser aux souches. La différence entre les souches est donc difficile à interpréter.

Tableau 11 : Moyenne du nombre de drosophiles émergées des fraises récoltées par cage, en fonction du bloc et de la souche de parasitoïde. Le nombre n correspond au nombre de répétitions pour chaque modalité.

Moyenne du nombre de drosophiles émergées par cage	Bloc 1	Bloc 2	Total
Témoin	17,5 (n=2)	20,6 (n=5)	**19,7**
A	5,3 (n=6)	15,2 (n=5)	**9,8**
IR	15,7 (n=6)	3,0 (n=5)	**9,9**
TK	8,5 (n=6)	14,2 (n=5)	**11,1**
Total	**10,6**	**13,3**	11,9

IV. Discussion

Le but du stage est de fournir des données de spécificité et d'efficacité d'*A. japonica*, afin de déterminer s'il est pertinent pour les acteurs concernés (principalement les équipes RDLB et ESIM, Évolution et Spécificité des Interactions Multitrophiques, de l'INRA de Sophia Antipolis, et le Ctifl de Blandran) de continuer l'étude de ce parasitoïde dans un dessein de lutte biologique contre *D. suzukii*. Dans cette même éventualité, il y a la nécessité de constituer un dossier de demande d'introduction du parasitoïde sur le territoire métropolitain. À partir des résultats de la présente étude et des résultats déjà disponibles dans la littérature, cette partie de discussion donnera des éléments de réponse sur lesquels ces groupes de recherche pourront s'appuyer, et des pistes d'investigation à explorer pour mieux répondre à la problématique.

IV.1. Tests de parasitisme en conditions de non choix en laboratoire

Espèces hôtes d'*A. japonica*

Le but des tests de parasitisme en laboratoire étaient de déterminer la gamme d'hôtes d'*A. japonica* parmi les cinq espèces testées. La valeur de succès parasitaire est celle qui juge le mieux la capacité du parasitoïde à utiliser un hôte pour se reproduire. Avec les valeurs de SP calculées, on sait désormais que dans les conditions de l'expérience, *D. melanogaster* (SP = 47,2%), *D. suzukii* (SP = 37,5%), *D. subobscura* (SP = 65,8% sur larves âgées) et *D. busckii* (SP = NA) sont des hôtes possibles pour le développement d'*A. japonica*. Au contraire, *D. immigrans* est la seule espèce des cinq testées qui ne permet pas le développement de parasitoïdes adultes. Pour les quatre premières, cela rejoint les résultats d'Ideo *et al.* (2008) qui étaient arrivé aux mêmes conclusions qu'ici avec des souches japonaises, mais sans mention de *D. subobscura*. Les valeurs de DI et SP calculables sont présentées en comparaison à nos valeurs dans le tableau 12.

Tableau 12 : Tableau comparatif des valeurs de DI et SP d'*A. japonica* calculées dans ce rapport et de celles calculées à partir des données présentées dans l'article d'Ideo *et al.* (2008). Le parasitisme dans cette dernière étude se fait sur des larves âgées de trois jours, sauf sur *D. busckii* où les larves ont 6 jours.

(en %)		*D. melanogaster*	*D. suzukii*	*D. subobscura*	*D. busckii*	*D. immigrans*
Degré d'infestation	Lafargue (2015)	89,7	97,8	99,9	NA	38,2
	Ideo *et al.* (2008)	*100*	*99*	NA	*100*	*0*
Succès parasitaire	Lafargue (2015)	47,2	37,5	11,1	NA	0,1
	Ideo *et al.* (2008)	*75*	*57*	NA	*89*	*0*

Dans ce tableau récapitulatif, on constate premièrement que l'on peut parvenir aux mêmes conclusions quant à la spécificité d'*A. japonica* avec les deux études. Cependant, il existe quelques différences dans les valeurs des indices choisis. Ceci s'explique notamment à cause de certaines différences de méthodologie, comme par exemple l'âge des larves exposées a parasitisme. L'utilisation de larves plus âgées dans Ideo *et al.* (2008) peut partiellement expliquer un meilleur succès parasitaire d'*A. japonica* sur *D. melanogaster* et *D. suzukii*. Un tel facteur doit donc être plus précisément pris en compte si l'on veut générer des données les plus pertinentes possible sur le parasitisme d'*A. japonica*, ou d'autres parasitoïdes. Un test optimal comprend une phase de pré-test pour balayer différents âges de larves et statuer avec le plus de précision possible l'âge optimal du parasitisme.

De plus, et comme Kraaijeveld et van del Wel (1994) l'ont observé sur *A. tabida*, la virulence d'un parasitoïde dépend de l'origine de la souche de parasitoïde et de la souche de

drosophile. Ainsi, on aurait pu avoir des résultats très différents avec d'autres souches françaises des mêmes espèces de drosophiles.

Quant à *D. immigrans*, on a montré un degré d'infestation non nul qui signifie qu'*A. japonica* a tout de même un impact non négligeable sur l'espèce, bien qu'elle ne parvienne pas à l'utiliser comme hôte pour son développement. Ceci est en opposition avec les résultats d'Ideo *et al.* (2008) qui ont montré une parfaite résistance de la drosophile vis-à-vis du parasitisme par *A. japonica*, traduite par un développement équivalent des témoins non parasités et des individus mis en présence de parasitoïdes. Il est possible que les souches japonaises de *D. immigrans* aient pu développer une stratégie de résistance plus élaborée envers *A. japonica* suite à un contact prolongé avec ce dernier. L'âge des larves n'est probablement pas déterminant dans cette différence de résultats étant donné que le venin d'*A. japonica* ne semble pas avoir d'effet sur les drosophiles non-hôtes qu'il ne peut pas utiliser pour son développement (Furihata et Kimura, 2009).

Étant donné que ces résultats s'accordent globalement avec ceux d'Ideo *et al.* (2008), il n'est pas forcément nécessaire de faire les mêmes essais avec d'autres espèces de Drosophilidae. Compte tenu de la polyphagie observée d'*A. japonica* au sein de la famille des Drosophilidae, il serait intéressant de poursuivre l'investigation de la gamme d'hôtes de ce parasitoïde en étudiant par exemple sa capacité à se développer dans d'autres familles de diptères. Des essais préliminaires menés à l'Inra semblent d'ailleurs montrer la capacité d'*A. japonica* à parasiter et se développer dans une autre mouche des fruits : C*eratitis capitata* (Diptera : Tephritidae) (L. Kremmer, données non publiées).

Résistance des drosophiles au parasitisme

On n'a observé aucune résistance des drosophiles sous forme d'encapsulement. Pourtant, une telle réaction est possible chez *D. suzukii* et a déjà été observée par Poyet *et al.* (2013) qui observent un taux d'encapsulement de 10% des drosophiles infestées pour la souche de Gotheron (26). Dans Mabiala-Moundoungou *et al.* (2010), aucune capsule n'a été observée chez *D. melanogaster*.

Mortalité des larves jeunes

On a pu montrer que des larves trop jeunes de *D. subobscura* exposées à *A. japonica* subissaient une forte mortalité larvaire. Les larves n'ont pas le temps d'atteindre le stade pupe et meurent avant à cause de l'injection de venin par le parasitoïde. Ce résultat a également été découvert chez Ideo *et al.* (2008) sur *D. busckii*. Les larves de trois jours sont mortes à cause du parasitisme alors que les larves de six jours ont pu se développer jusqu'à la pupe et laisser le parasitoïde émerger. Cela montre qu'il est nécessaire de tester plusieurs âges d'exposition aux parasitoïdes afin de s'assurer qu'un fort taux de mortalité constaté n'est pas simplement dû à l'âge des larves. En effet, on peut penser que le poison injecté par la femelle parasitoïde lors de la ponte est trop puissant pour une jeune larve.

Différence entre les souches du parasitoïde

L'essai effectué a permis de comparer les différentes souches d'*A. japonica* disponibles. Ceci a été réalisé afin d'apporter des données tangibles en vue du dépôt éventuel d'un dossier de demande d'introduction d'*A. japonica* en France, et notamment préciser la spécificité et l'efficacité des trois souches disponibles. Du point de vue de la spécificité, on ne constate pas de différence qualitative. En effet, les trois souches parasitent les mêmes espèces de drosophiles. Cela écarte donc la suspicion du Prof. Kimura envers une meilleure spécificité de la souche TK sur *D. suzukii*. On constate par contre une différence quantitative significative dans les valeurs de DI et de SP. C'est ainsi que la souche TK a le meilleur degré d'infestation (DI total sans *D. immigrans* = 99,9%), n'ayant permis quasiment aucune émergence de drosophiles, contrairement aux souches A (94,6%) et IR (92,5%). Cette dernière souche est celle qui a le moins provoqué de mortalité chez *D. melanogaster*. Quant

au succès parasitaire, IR est la souche qui possède le succès parasitaire (SP total sans *D. immigrans* = 50,7%) le plus élevé sur chacune des trois espèces hôtes étudiées dans l'expérience principale, par rapport à A (27,1%) et TK (21,5%).

On souhaiterait obtenir une souche qui soit la plus spécifique possible de *D. suzukii*. On a pu montrer que IR est la seule souche qui présente un degré d'infestation plus élevé pour *D. suzukii* que pour les autres espèces. C'est de plus la souche qui a le moins d'effets létaux sur *D. melanogaster*, ce qui peut être considéré comme un un avantage du point de vue de l'impact écologique, étant donné la grande proportion de *D. melanogaster* dans la communauté des drosophiles indigènes de France. Par contre, IR s'y développe mieux que sur *D. suzukii*. Effectivement, ¾ des individus parasités de *D. melanogaster* donnent naissance à un individu parasitoïde, contre ½ sur *D. suzukii*. À ce propos, la souche A est la seule qui se développe mieux sur *D. suzukii* que sur les autres drosophiles. Cependant, la différence de développement de cette souche entre les deux espèces est faible. Si les perspectives d'introduction d'*A. japonica* doivent être maintenues, des tests plus précis devront être effectués pour mieux comparer la spécificité de ces souches.

Sexe-ratio de la progéniture des parasitoïdes

La qualité des hôtes parasités, dont la taille et la densité, a un effet à la fois sur la taille et le sexe-ratio des parasitoïdes Braconidae qui en émergent (Tillman et Cate, 1993 ; Yu *et al.*, 2003). De manière générale, il semble qu'il y ait un biais vers les mâles lorsque l'hôte est de mauvaise qualité. Dans cette étude, le sexe-ratio des *A. japonica* émergents a été calculé. Les souches A et TK étant thélytoques, leur sexe-ratio n'est pas variable. Par contre, le sexe-ratio de la souche IR dépend apparemment de l'espèce hôte. En effet, le sexe-ratio des *A. japonica* des cette souche est plus biaisé vers les femelles chez *D. subobscura* que chez *D. melanogaster* et *D. suzukii*. Cela peut signifier que *D. subobscura* est un meilleur hôte par rapport aux deux autres espèces. Ce qui semble d'ailleurs être confirmé par le bon succès parasitaire (65,8%) du parasitoïde sur *D. subobscura* observé dans le test de parasitisme complémentaire sur larves âgées. Cependant, ce résultat ne peut être qu'un élément explicatif, car le sexe-ratio peut aussi être influencé par d'autres facteurs, comme par exemple l'âge de la mère ou une forte densité de mères (Rotary et Gerling, 1973).

IV.2. Test de parasitisme sur *D. suzukii* sur fraisiers

Il est difficile d'évaluer précisément l'efficacité d'*A. japonica* à réduire une population de *D. suzukii* à partir des données collectées. En effet, l'effet souche (qui comprend les témoins) sur le nombre de drosophiles n'est pas significatif, ce qui signifie qu'*a priori* il y a le même nombre de drosophiles qui sort des cages qu'elles aient été parasitées ou non. Cependant, on voit qu'il y a eu environ deux fois moins de drosophiles à émerger lorsque celles-ci avaient été parasitées, ce qui peut être vu comme une tendance. Il y a eu introduction de parasitoïdes dans 33 cages, et dans seulement six d'entre elles on a obtenu plus de huit parasitoïdes émergés, ce qui correspond à la population parentale de chaque cage. Cela ne donne pas de renseignement évident sur la capacité d'*A. japonica* à bien coloniser une production de fraises en serre car les populations sont toutes séparées. Toutefois, il semble difficile d'engager une lutte biologique si le parasitisme d'un parasitoïde ne produit pas une génération au moins équivalente en nombre à la génération parentale.

Les résultats obtenus permettent par contre de comparer les différentes souches entre elles. La souche A se distingue des deux autres par sa moindre capacité à se reproduire à partir de larves dans les fraises, et ce dans les deux blocs considérés. Or, c'est celle qui arrive le mieux à se développer sur *D. suzukii* dans les tests en laboratoire. Il serait donc intéressant d'approfondir le résultat du test de parasitisme sur fraisier afin de définir si la souche A peut ou non parasiter les larves de *D. suzukii* dans les fraises.

Personne n'a encore étudié *A. japonica* en conditions semi-naturelles comme nous l'avons fait ici, à part P. Girod en 2014 dans des conditions similaires à nos expériences, à la différence près du nombre plus élevé de parasitoïdes introduits dans chaque cage (soit dix femelles et cinq mâles). La réduction de moitié de la population de *D. suzukii* observée est retrouvée dans ses résultats. N'utilisant que la souche A pour ses essais, il y a pourtant eu des émergences de parasitoïdes (environ 17 par cage en moyenne, pour environ 20 drosophiles émergées en moyenne), ce qui contredit nos résultats qui montrent une difficulté de cette souche à parasiter les larves dans les fraises.

Le test de parasitisme réalisé dans les cages de fraisiers peut probablement être amélioré de plusieurs façons. Premièrement, le poids des fraises n'a pas influencé le nombre de drosophiles émergées, ce qui veut dire que la charge en fraises n'est pas un facteur limitant, ce qui nous permet donc d'introduire plus de drosophiles pour infester les fraises. Deuxièmement, il existe une grande différence entre le nombre moyen de drosophiles obtenues dans les témoins non parasités de Girod (2014) (environ 70) et le nombre obtenu dans notre essai (environ 20), qui peut être expliquée entre autres facteurs par la variété de fraise utilisée.

IV.3. Perspectives

Les résultats de spécificité sont conformes à ceux d'Ideo *et al.* (2008) qui ont montré une large gamme d'hôtes pour *A. japonica*. Si on s'en tient à ces résultats et aux nôtres, *A. japonica* peut être considérée comme très peu spécifique, ce qui n'est pas souhaitable pour un agent potentiel de lutte biologique par acclimatation. On remarque d'ailleurs qu'une espèce polyphage et bien répandue dans l'aire envahie telle que *P. vindemmiae*, capable de parasiter *D. suzukii*, ne parvient pas à en contrôler les populations. *A. japonica* possède une polyphagie équivalente, on peut donc supposer qu'elle ne sera pas plus efficace dans ce rôle. En effet, il n'y a aucune preuve qu'un tel auxiliaire lâché dans l'environnement puisse attaquer efficacement l'espèce cible *D. suzukii* s'il peut parasiter d'autres espèces présentes en abondance sur le territoire. Lapchin (2002) tend à montrer qu'un parasitoïde s'adapte préférentiellement à un hôte de moindre résistance, comme c'est le cas de *D.* melanogaster par rapport à *D. suzukii* dans notre étude. Les tests de non-choix d'Ideo *et al.* (2008) suggèrent que *D. suzukii* n'est pas un hôte préférentiel d'*A. japonica*, mais il manque des données de préférence de parasitisme d'*A. japonica* en conditions de choix et semi-naturelles pour conclure sur une telle hypothèse.

Du point de vue de l'évaluation de l'impact environnemental de l'introduction d'*A. japonica* en France, on peut simplement supposer qu'il serait faible si on considère une gamme d'hôtes uniquement constituée de drosophiles. En effet, malgré les bons taux de parasitisme montrés pour des parasitoïdes indigènes de drosophiles (Fleury *et al.*, 2004), on observe que les populations de drosophiles ne sont pas décimées, même si ces parasitoïdes exercent une forte pression sur celles-ci. Par contre, certains phénomènes complexes et difficilement prévisibles peuvent survenir dans les interactions entre *A. japonica* et les parasitoïdes indigènes, telles que la compétition, le déplacement des caractères (cf Dayan et Simberloff, 2005) et d'autres interactions secondaires (Messing *et al.*, 2006). De toute façon, sans une meilleure connaissance de la biologie et de l'écologie, l'estimation des conséquences de son introduction en France ne peut rester qu'au stade d'hypothèses.

Le test de parasitisme en cages de fraisiers a permis de montrer qu'*A. japonica* est capable de localiser et parasiter *D. suzukii*, et de s'y développer correctement. On a également montré une différence entre les souches qui peuvent être la base pour de futurs essais. Il faudrait particulièrement mieux estimer l'efficacité du parasitoïde en conditions réelles de production de fraises.

La conclusion de nos expériences est donc une certaine timidité pour l'utilisation d'*A. japonica* en lutte biologique classique, non pour les risques qu'engendrerait son introduction

en France (qu'il reste encore à évaluer en cherchant la spécificité sur d'autres diptères), mais plutôt pour son manque de spécificité et d'efficacité. *A. japonica* ne présente pas d'intérêt si l'on ne prouve pas le mieux possible qu'il peut s'installer en France et contrôler efficacement les populations de *D.* suzukii. Cependant, les travaux réalisés peuvent servir de base expérimentale à l'évaluation d'autres agents potentiels de lutte biologique contre *D. suzukii*. En effet, même si ce parasitoïde est écarté, il existe encore *a priori* une diversité spécifique importante de parasitoïdes de *D. suzukii* au Japon. Le projet de rechercher d'autres parasitoïdes japonais est d'ailleurs mené par l'équipe RDLB et le CABI (Centre for Agricultural Biosciences International). Une mission de prospection a été réalisée au Japon en 2015 par N. Ris (INRA), avec le Prof. Kimura. On peut notamment espérer récupérer des souches de *Ganaspis xanthopoda* (cf partie I.1.c.) ou d'*Asobara* sp. TK1, espèce découverte par Nomano *et al.* (2014) et qui ne parasite que *D. suzukii*, ces deux parasitoïdes étant des candidats sérieux de lutte biologique classique.

Une autre solution de lutte biologique réside dans l'utilisation des ressources biologiques indigènes. Cela peut se produire notamment suite à une adaptation des parasitoïdes existants, puisque la diversité des parasitoïdes d'un herbivore envahissant augmente avec le temps (Cornell et Hawkins, 1993), à la fois à cause d'une adaptation des parasitoïdes au nouvel arthropode, et d'autre part à cause du recrutement de nouveaux parasitoïdes dû à de l'expansion de l'aire géographique du ravageur. Ce phénomène évolutif semble cependant assez long dans le cas de *D. suzukii* qui présente un cortège de parasitoïdes indigènes relativement stable (Gabarra *et al.*, 2014).

Conclusion

Dans cette étude, nous avons évalué la capacité d'*Asobara japonica*, parasitoïde Braconidae exotique, à parasiter et se développer dans *Drosophila suzukii*, ravageur exotique nuisible aux cultures de cerises et de fraises principalement. Il s'agissait notamment d'évaluer sa spécificité d'hôtes, pour estimer les conséquences environnementales de son éventuelle introduction en France, et son efficacité, pour préciser sa capacité à contrôler *D. suzukii* en conditions semi-naturelles sur fraisier. Les résultats obtenus dans cette étude permettent d'affirmer que les différentes souches testées d'*A. japonica* ne sont pas spécifiques de *D. suzukii* mais parasitent trois des quatre drosophiles testées (*D. melanogaster*, *D. subobscura* et *D. busckii*). La dernière espèce, *D. immigrans*, résiste bien au parasitoïde et ne permet pas son développement. Lors de l'évaluation de l'efficacité du parasitoïde sur des plants de fraisier infestés par *D. suzukii*, nous avons remarqué que le parasitoïde est capable de localiser les larves qui sont dans les fraises, de les parasiter et de s'y développer. Dans les deux tests de parasitisme, en laboratoire et sur fraisier, on a observé une différence entre les trois souches d'*A. japonica* utilisées. Il semblerait que la souche IR soit la plus spécifique et l'une des plus efficaces sur *D. suzukii*, mais ces conclusions doivent être étayées par d'autres expérimentations en conditions de culture de fraises.

Finalement, *A. japonica* n'est pas le candidat le plus évident pour une lutte biologique classique. En effet, le manque de spécificité représente tout de même un risque pour l'environnement en cas d'introduction même si on le suppose faible, et laisse présumer un manque d'efficacité sur *D. suzukii*, même en cas de bonne acclimatation sur le territoire. Les travaux réalisés ici peuvent donc être un support pour de futures évaluations de parasitoïdes exotiques. Cependant, il y manque un test de parasitisme en conditions de choix, et si possible dans des conditions semi-naturelles, afin de s'approcher au plus près des conditions écologiques dans lesquelles se trouverait le parasitoïde introduit.

Bibliographie

Althoff, D. M. (2003). **Does parasitoid attack strategy influence host specificity? A test with New World braconids.** *Ecological Entomology, 28(4)*, 500-502.

Belokobylskij, S.A. (1998). **9. Alysiinae (Alysiini).** In: Ler, P.A. 'Key to the insects of Russian Far East. Vol. 4. Neuropteroidea, Mecoptera, Hymenoptera. Pt 3.' Dal'nauka, Vladivostok. 706 pp. pp.41-162, 163-298, 411-520, 531-558.

Borowiec, N., Thaon, M., Brancaccio, L., Warot, S., Vercken, E., Fauvergue, X., Ris, N., & Malausa, J.C. (2014). **Classical biological control against the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera, Cynipidae) in France.** *Plant Protection Quarterly*, *29*(1), 7.

Bretz, F., Hothorn, T., & Westfall, P. (2010). **Multiple comparisons using R.** *CRC Press.*

Brown, P. M. J., Adriaens, T., Bathon, H., Cuppen, J., Goldarazena, A., Hägg, T., Kenis, M., Klausnitzer, B.E.M., Kovar, I., Loomans, A.J.M., Majerus, M.E.N., Nedved, O., Pedersen, J., Rabitsch, W., Roy, H.E., Ternois, V., Zakharov, I.A., & Roy, D. B. (2008). ***Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid.** *BioControl, 53(1)*, 5-21.

Bruck, D. J., Bolda, M., Tanigoshi, L., Klick, J., Kleiber, J., DeFrancesco, J., Gerdeman, B., & Spitler, H. (2011). **Laboratory and field comparisons of insecticides to reduce infestation of *Drosophila suzukii* in berry crops.** *Pest management science, 67(11),* 1375-1385*.*

Carton, Y., & Bouletreau, M. (1986). **The Drosophila parasitic wasps**. In : The genetics and Biology of Drosophila (No. 3c, pp. 347-394).

Chabert, S., Allemand, R., Poyet, M., Eslin, P., & Gibert, P. (2012). **Ability of European parasitoids (Hymenoptera) to control a new invasive Asiatic pest, *Drosophila suzukii*.** *Biological Control*, *63*(1), 40-47.

Cornell, H. V., & Hawkins, B. A. (1993). **Accumulation of native parasitoid species on introduced herbivores: a comparison of hosts as natives and hosts as invaders.** *American Naturalist*, *141(6)* 847-865.

Cuthbertson, A. G., Blackburn, L. F., & Audsley, N. (2014). **Efficacy of commercially available invertebrate predators against *Drosophila suzukii*.** *Insects*, *5*(4), 952-960.

Dayan, T., & Simberloff, D. (2005). **Ecological and community-wide character displacement: the next generation.** *Ecology Letters, 8(8)*, 875-894.

De Schutter, O. (2011). **Agroécologie et droit à l'alimentation.** Rapport présenté à la 16ème session du Conseil des droits de l'homme de l'ONU [A/HRC/16/49], 8.

Eilenberg, J., Hajek, A., & Lomer, C. (2001). **Suggestions for unifying the terminology in biological control.** *BioControl*, *46*(4), 387-400.

Fleury, F., Ris, N., Allemand, R., Fouillet, P., Carton, Y., & Bouletreau, M. (2004). **Ecological and genetic interactions in Drosophila-parasitoids communities: a case study with *D. melanogaster*, *D. simulans* and their common *Leptopilina* parasitoids in south-eastern France.** In Drosophila melanogaster, Drosophila simulans: So Similar, So Different (pp. 181-194). Springer Netherlands.

Fleury, F., Gibert, P., Ris, N., & Allemand, R. (2009). **Ecology and life history evolution of frugivorous *Drosophila* parasitoids.** *Advances in parasitology, 70*, 3-44.

ForumPhyto (2013). **Étude d'impact économique des usages orphelins en fruits et légumes et pommes de terre (résumé).** 5 pp.

Furihata, S.X., & Kimura, M.T. (2009). **Effects of *Asobara japonica* venom on larval survival of host and non host *Drosophila* species.** *Physiological entomology, 34*, 292-295.

Gabarra, R., Arnó, J., Lara, L., Verdú, M. J., Ribes, A., Beitia, F., Urbaneja, A., del Mar Téllez, M., Mollá, O., & Riudavets, J. (2014). **Native parasitoids associated with *Tuta absoluta* in the tomato production areas of the Spanish Mediterranean Coast.** *BioControl, 59(1)*, 45-54.

Gabarra, R., Riudavets, J., Rodríguez, G. A., Pujade-Villar, J., & Arnó, J. (2015). **Prospects for the biological control of Drosophila suzukii.** *BioControl, 60(3)*, 331-339.

Girod, P. (2014). **Étude expérimentale de l'impact potentiel de l'introduction d'une espèce exotique sur un écosystème. Aspects écologiques et évolutifs.** Rapport de stage. Master Protection des plantes et agro-système, Université Nice Sophia Antipolis, Nice, 28 pp.

Guillén, L., Aluja, M., Equihua, M., & Sivinski, J. (2002**). Performance of two fruit fly (Diptera: Tephritidae) pupal parasitoids (*Coptera haywardi* [Hymenoptera: Diapriidae] and *Pachycrepoideus vindemmiae* [Hymenoptera: Pteromalidae]) under different environmental soil conditions.** *Biological Control, 23(3)*, 219-227.

Guillou, M., Riba, G., Houllier, F., Eddi, M., Leverve, X., Guyomard, H., Soussana, J.-F., Chemineau, P. (2010). **Document d'orientation Inra 2010 - 2020 : une science pour l'impact.** http://prodinra.inra.fr/record/184508

Hauser, M., Gaimari, S., & Damus, M. (2009). ***Drosophila suzukii* new to North America**. *Fly times*, *43*, pp. 12-15.

Ideo, S., Watada, M., Mitsui, H., & Kimura, M. T. (2008**). Host range of *Asobara japonica* (Hymenoptera: Braconidae), a larval parasitoid of drosophilid flies.** *Entomological science, 11(1)*, 1-6.

Janssen, A. (1989). **Optimal host selection by *Drosophila* parasitoids in the field.** *Functional Ecology,* 469-479.

Kacsoh, B. Z., & Schlenke, T. A. (2012). **High hemocyte load is associated with increased resistance against parasitoids in *Drosophila suzukii*, a relative of *D. melanogaster*.** *PLoS One, 7(4),* e34721.

Kanzawa, T. (1939). **Studies on *Drosophila suzukii* Mats.** *Kofu, Yamanashi Prefecture Agricultural Experiment Station, 49 pp.*

Kaser, J. M., & Heimpel, G. E. (2015). **Linking risk and efficacy in biological control host–parasitoid models.** *Biological Control, 90*, 49-60.

Kasuya, N., Mitsui, H., Ideo, S., Watada, M., & Kimura, M. T. (2013). **Ecological, morphological and molecular studies on *Ganaspis* individuals (Hymenoptera: Figitidae) attacking *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae).** *Applied entomology and zoology, 48(1)*, 87-92.

Kraaijeveld, K., Reumer, B. M., Mouton, L., Kremer, N., Vavre, F., & van Alphen, J. J. (2011). **Does a parthenogenesis-inducing *Wolbachia* induce vestigial cytoplasmic incompatibility?** *Naturwissenschaften, 98(3)*, 175-180.

Kraaijeveld, A. R., & WEL, N. N. (1994). **Geographic variation in reproductive success of the parasitoid Asobara tabida in larvae of several *Drosophila* species.** *Ecological Entomology, 19(3)*, 221-229.

Kraaijeveld, A. R., & Alphen, J. J. V. (1994). **Geographical variation in resistance of the parasitoid *Asobara tabida* against encapsulation by Drosophila melanogaster larvae: the mechanism explored.** *Physiological Entomology, 19(1)*, 9-14.

Kremer, N., Charif, D., Henri, H., Bataille, M., Prevost, G., Kraaijeveld, K., & Vavre, F. (2009). **A new case of *Wolbachia* dependence in the genus *Asobara*: evidence for parthenogenesis induction in *Asobara japonica*.** *Heredity, 103(3)*, 248-256.

Lapchin, L. (2002). **Host-Parasitoid Association and Diffuse Coevolution: When to Be a Generalist?.** *The American Naturalist, 160(2)*, 245-254.

Mabiala-Moundoungou, A. D. N., Doury, G., Eslin, P., Cherqui, A., & Prevost, G. (2010). **Deadly venom of *Asobara japonica* parasitoid needs ovarian antidote to regulate host physiology.** *Journal of insect physiology*, *56(1),* 35-41.

Malausa, J. C. (1999). **Les risques pour l'entomofaune sauvage liés à l'utilisation d'insectes auxiliaires dans la lutte biologique contre les ravageurs des cultures.** In : Fraval A., Silvy C. La lutte biologique (II). Dossiers de l'Environnement de l'INRA, (19).

Messing, R., Roitberg, B., & Brodeur, J. (2006). **Measuring and predicting indirect impacts of biological control: competition, displacement and secondary interactions.** In : Bigler, F., Babendreier, D., & Kuhlmann, U. (2006). Environmental impact of invertebrates for biological control of arthropods: methods and risk assessment. CABI.

Mitsui, H., & Kimura, M. T. (2010). **Distribution, abundance and host association of two parasitoid species attacking frugivorous drosophilid larvae in central Japan.** *European Journal of Entomology, 107(4)*, 535-540.

Mitsui, H., Van Achterberg, K., Nordlander, G., & Kimura, M. T. (2007**). Geographical distributions and host associations of larval parasitoids of frugivorous Drosophilidae in Japan.** *Journal of Natural History, 41(25-28)*, 1731-1738.

Murata, Y., Ideo, S., Watada, M., Mitsui, H., & Kimura, M. T. (2009). **Genetic and physiological variation among sexual and parthenogenetic populations of *Asobara japonica* (Hymenoptera: Braconidae), a larval parasitoid of drosophilid flies.** *European Journal of Entomology, 106(2),* 171-178.

Naranjo-Lázaro, J. M., Mellín-Rosas, M. A., González-Padilla, V. D., Sánchez-González, J. A., Moreno-Carrillo, G., & Arredondo-Bernal, H. C. (2014). **Susceptibility of *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae) to entomophatogenic fungi.** *Southwestern Entomologist*, *39*(1), 201-203.

Nomano, F. Y., Mitsui, H., & Kimura, M. T. (2015). **Capacity of Japanese *Asobara* species (Hymenoptera; Braconidae) to parasitize a fruit pest *Drosophila suzukii* (Diptera; Drosophilidae).** *Journal of Applied Entomology, 139(1-2)*, 105-113.

Poyet, M., Havard, S., Prevost, G., Chabrerie, O., Doury, G., Gibert, P., & Eslin, P. (2013). **Resistance of *Drosophila suzukii* to the larval parasitoids *Leptopilina heterotoma* and *Asobara japonica* is related to haemocyte load.** *Physiological entomology, 38(1)*, 45-53.

Poyet, M. (2014). **L'opportunité de niche favorise l'invasion de *Drosophila suzukii* en France.** Thèse de Doctorat en Biologie évolutive – Biologie des populations – Écophysiologie, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon, 257 pp.

Raspi, A., Canale, A., Canovai, R., Conti, B., Loni, A., & Strumia, F. (2011). **Insetti delle aree protette del comune di San Giuliano Terme.** *Felici Editore, San Giuliano Terme, Pisa*.

Reumer, B. M., van Alphen, J. J., & Kraaijeveld, K. (2012). **Occasional males in parthenogenetic populations of *Asobara japonica* (Hymenoptera: Braconidae): low Wolbachia titer or incomplete coadaptation ?.** *Heredity, 108(3)*, 341-346.

Rossi Stacconi, M.V., Grassi, A., Dalton, D. T., Miller, B., Ouantar, M., Loni, A., Ioratti, C., Walton, V.M., & Anfora, G. (2013). **First field records of *Pachycrepoideus vindemmiae* as a parasitoid of Drosophila suzukii in European and Oregon small fruit production areas.** *Entomologia, 1(1)*, 3.

Rotary, N., & Gerling, D. (1973). **The influence of some external factors upon the sex ratio of *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae).** *Environmental Entomology, 2(1)*, 134-138.

Stouthamer, R., Breeuwer, J. A., & Hurst, G. D. (1999). ***Wolbachia pipientis*: microbial manipulator of arthropod reproduction.** *Annual Reviews in Microbiology, 53(1)*, 71-102.

Tillman, P. G., & Cate, J. R. (1993). **Effect of host size on adult size and sex ratio of *Bracon mellitor* (Hymenoptera: Braconidae).** *Environmental entomology, 22(5)*, 1161-1165.

Tomich, T. P., Brodt, S., Ferris, H., Galt, R., Horwath, W. R., Kebreab, E., Leveau, J.H.J., Liptzin, D., Lubell, M., Merel, P., Michelmore, R., Rosenstock, T., Scow, K., Six, J., Williams, N., & Yang, L. (2011). **Agroecology: a review from a global-change perspective.** *Annual Review of Environment and Resources*, *36*, 193-222.

Tremblay, E. (1984). **The parasitoid complex [Hym.: Ichneumonoidea] of *Toxoptera aurantii* [Hom.: Aphidoidea] in the Mediterranean area.** *Entomophaga, 29(2)*, 203-209.

Trottin, Y., Paulhiac, E., Zicot, A., Baffert, V., Leyre, J.M., Weydert, C., Poyet, M., Ris, N., & Gibert, P. (2014). **Étude expérimentale sur *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae) : efficacité d'un parasitoïde indigène de pupes en culture de fraisier sous serre en France.** In : Colloque ravageurs et insectes invasifs et émergents, Montpellier, 21 octobre 2014, 9 pp.

Van Lenteren, J. C. (2006). **Foreword**. In : Bigler, F., Babendreier, D., & Kuhlmann, U. (2006). Environmental impact of invertebrates for biological control of arthropods: methods and risk assessment. CABI.

Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2002). **Modern Applied Statistics Statistics with S. Fourth edition.** *Springer*.

Walsh, D. B., Bolda, M. P., Goodhue, R. E., Dreves, A. J., Lee, J., Bruck, D. J., Walton, V. M., O'Neal, S. D., & Zalom, F. G. (2011). ***Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential.** *Journal of Integrated Pest Management*, *2*(1), G1-G7.

Woltz, J. M., Donahue, K. M., Bruck, D. J., & Lee, J. C. (2015). **Efficacy of commercially available predators, nematodes and fungal entomopathogens for augmentative control of *Drosophila suzukii*.** *Journal of Applied Entomology*. doi: 10.1111/jen.12200

Yu, S. H., Ryoo, M. I., Na, J. H., & Choi, W. I. (2003). **Effect of host density on egg dispersion and the sex ratio of progeny of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae).** *Journal of Stored Products Research, 39(4)*, 385-393.

Sitographie

[1] David, C., Wezel, A., Bellon, S., Doré, T., Malézieux, E. (2011). **Agroécologie.** http://mots-agronomie.inra.fr/mots-agronomie.fr/index.php/Agro%C3%A9cologie (consulté le 24/08/2015)

[2] INRA (2014). **Institut Sophia Agrobiotech.** http://www6.paca.inra.fr/institut-sophia-agrobiotech (consulté le 24/08/2015)

[3] INRA (2014). **Recherche et Développement en lutte Biologique.** https://www6.paca.inra.fr/institut-sophia-agrobiotech/Equipes-ISA/RDLB (consulté le 24/08/2015)

[4] Légifrance (2012). **Décret n° 2012-140 du 30 janvier 2012 relatif aux conditions d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique**. http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000025241913&dateTexte=&categorieLien=id (consulté le 24/08/2015)

[5] INRA (2011). **Le groupement d'Intérêt Scientifique Fruits.** https://www.gis-fruits.org/ (consulté le 24/08/2015)

[6] International Association for the Plant Protection Sciences (2015). **Italy : A parasitoid may save us from *Drosophila suzukii.*** https://iapps2010.wordpress.com/2015/07/29/italy-a-parasitoid-may-save-us-from- drosophila-suzukii/ (consulté le 12/08/2015)

[7] Home of Ichneumonoidea (2012). ***Asobara japonica* Belokobylskij 1998.** http://www.ichneumonoidea.name/local.php?taxonidLC=90238760 (consulté le 15/05/2015)

[8] The R Foundation (2015). **The R Project for Statistical Computing.** https://www.r-project.org/ (consulté le 11/08/2015)

AGROCAMPUS OUEST

☑ **CFR Angers**

☐ **CFR Rennes**

INRA PACA

400, rte des Chappes

BP 167

06903 Sophia Antipolis Cédex

Année universitaire : 2014 - 2015

Spécialité : Horticulture

Spécialisation : Gestion Durable du Végétal

Mémoire de Fin d'Études

☑ d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage

☐ de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage

☐ d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

Évaluation d'un parasitoïde exotique, *Asobara japonica* (Ichneumonoidea, Braconidae), contre le diptère ravageur *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae)

Par : Philippe Lafargue

ANNEXES

Soutenu à Angers, le 8 Septembre 2015.

Devant le jury composé de :

Président : Josiane Le Corff

Maître de stage : Nicolas Borowiec

Enseignant référent : Bruno Jaloux

Yann Tricault, examinateur

Jérôme Jullien, examinateur

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST

ANNEXE 1

Recette du milieu nutritif pour drosophiles

UMR 1112 ROSE
GROUPE GENOMIQUE FONCTIONNELLE
des INSECTES

Standard Operating Procedure

Title: Preparation milieu pour Drosophiles | *Page number:* 1/1

SOP # GENO-ELEVAGE-INSECTES_003 | *Version #* 2 | *Date:* 9/01/06

EAU	1l	2l	3l	4l	5l
AGAR	20g	40g	60g	80g	100G
LEVURE	100g	200g	300g	400g	500g
SEMOULE DE MAÏS	100g	200g	300g	400g	500g
MOLDEX	60ml	120ml	180ml	240ml	300ml

-Mélanger l'eau et l'agar dans la cocotte minute puis régler la grosse plaque chauffante sur thermostat 1, laisser chauffer 15 minutes environ en remuant de temps en temps.
-Ajouter la levure de bière et la farine de mais, bien homogénéiser la mixture au fouet
-Couvrir et laisser cuire 20 minutes thermostat 3, remuer de temps en temps.
-Laisser refroidir 10 minutes.
-Ajouter le MOLDEX sous une sorbonne, avec des gants, bien mélanger.
-Répartir le milieu dans les tubes avec une pissette à l'embout séctionné.
-Laisser sécher sous une mousseline afin d'éviter d'éventuelles pontes de drosophiles « en liberté ».
-Bouchonner les tubes après totale évacuation de l'eau de condensation.

Estimated time: 1H30

Materials	*Products*
-Cocotte minute *-Plaque chauffante* *-Tubes+bouchons mousse*	*-Agar :Fisher Labosi* *-Levure de bière :Fisher Labosi* *-Farine de maïs : UPAE Jouy en Josas* *-Hydroxybenzoate de methyle (moldex) :Acros* *-Eau*

Reagents preparation

Composition du Moldex : *-1,9l éthanol*
-200g Hydroxybenzoate de Méthyle
-100ml H2O

ANNEXE 2

Expérience principale

Développement des témoins – Script R du modèle et tests statistiques

> data1_temoin.glm <- glm(cbind(nb_droso,nb_mort) ~ hote*bloc, family=binomial(), data=data1)

> stepwise(data1_temoin.glm, direction='backward', criterion='AIC')

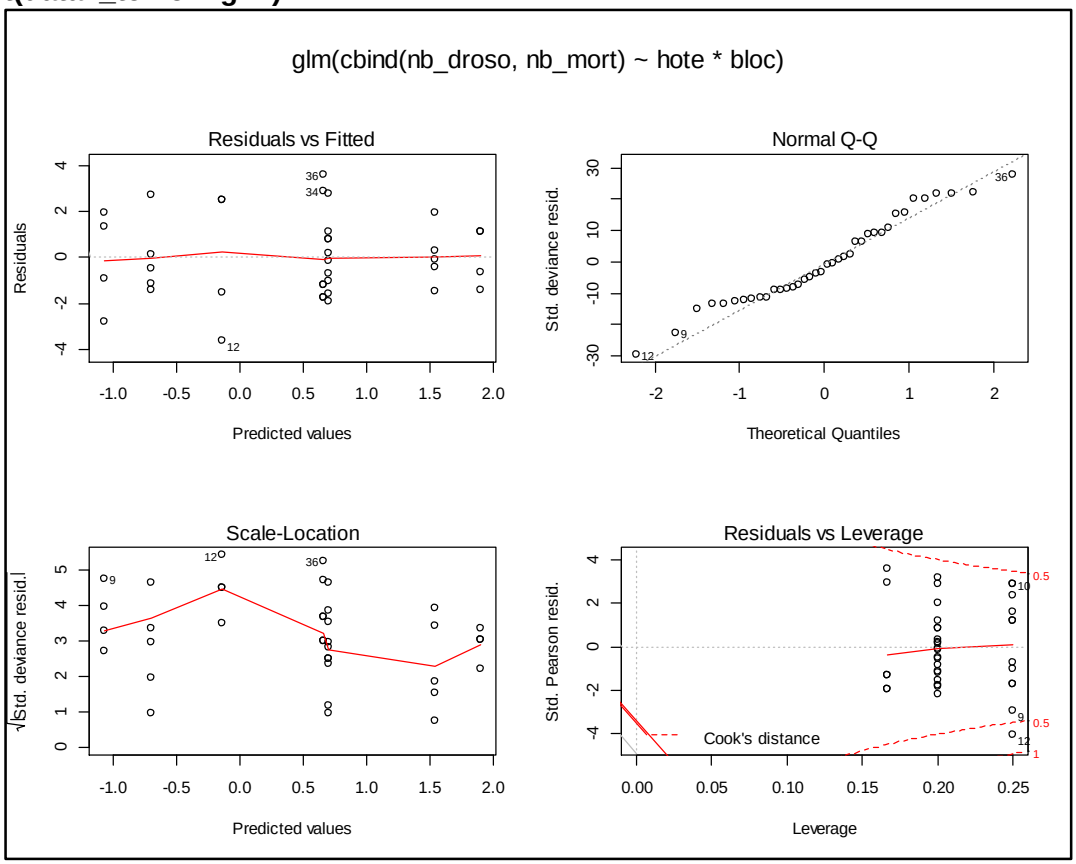
```
Direction:  backward
Criterion:  AIC

Start:  AIC=280.74
cbind(nb_droso, nb_mort) ~ hote * bloc

            Df Deviance    AIC
<none>           111.22 280.74
- hote:bloc  3   133.60 297.12
```

On retient le modèle complet avec les deux facteurs et l'interaction.

> plot(data1_temoin.glm)



Le diagnostic graphique ci-dessus nous montre la bonne qualité de l'ajustement du modèle au jeu de données, on va donc le retenir.

> anova(data1_temoin.glm, test="Chisq")

On réalise une analyse de déviance sur le modèle retenu, la déviance associée à chaque facteur étant testée grâce à un test de Chi².

```
Analysis of Deviance Table

Model: binomial, link: logit

Response: cbind(nb_droso, nb_mort)

Terms added sequentially (first to last)


          Df Deviance Resid. Df Resid. Dev  Pr(>Chi)
NULL                         37     440.89
hote       3  173.067        34     267.83 < 2.2e-16 ***
bloc       1  134.228        33     133.60 < 2.2e-16 ***
hote:bloc  3   22.383        30     111.22 5.428e-05 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Tous les effets testés sont significatifs.

> summary(data1_temoin.glm)

```
Call:
glm(formula = cbind(nb_droso, nb_mort) ~ hote * bloc, family =
binomial(), data = data1)

Deviance Residuals:
   Min      1Q  Median      3Q     Max
-3.598  -1.329  -0.279   1.121   3.580

Coefficients:
              Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)    -0.6992     0.1343  -5.206 1.93e-07 ***
hotemel         2.2428     0.2136  10.501  < 2e-16 ***
hotesub         0.5589     0.1953   2.862  0.00421 **
hotesuz        -0.3730     0.2106  -1.771  0.07658 .
blocB2          1.3983     0.1899   7.362 1.81e-13 ***
hotemel:blocB2 -1.0410     0.3284  -3.170  0.00153 **
hotesub:blocB2 -0.5948     0.2665  -2.232  0.02563 *
hotesuz:blocB2  0.3730     0.2836   1.315  0.18847
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

    Null deviance: 440.89  on 37  degrees of freedom
Residual deviance: 111.22  on 30  degrees of freedom
AIC: 280.74

Number of Fisher Scoring iterations: 4
```

ANNEXE 3

Expérience principale

Degré d'infestation – Script R du modèle et tests statistiques

> data3_bin_inf.glm <- glm (cbind(inf,non_inf) ~ hote*souche*bloc, family=binomial(), data=data3)

> stepwise(data3_bin_inf.glm, direction='backward', criterion='AIC')

```
Direction:  backward
Criterion:  AIC

Start:  AIC=449.65
cbind(inf, non_inf) ~ hote * souche * bloc

                   Df Deviance    AIC
- hote:souche:bloc  4   370.26 441.65
<none>                  370.26 449.65

Step:  AIC=441.65
cbind(inf, non_inf) ~ hote + souche + bloc + hote:souche +
hote:bloc + souche:bloc


              Df Deviance    AIC
<none>             370.26 441.65
- hote:souche  4   379.33 442.73
- hote:bloc    2   378.74 446.13
- souche:bloc  2   516.98 584.37
```

Ici, on gardera un modèle sans interaction triple.

> data3_bin_inf.glm2 <- glm (cbind(inf,non_inf) ~ hote + souche + bloc + hote:souche + hote:bloc + souche:bloc, family=binomial(), data=data3)

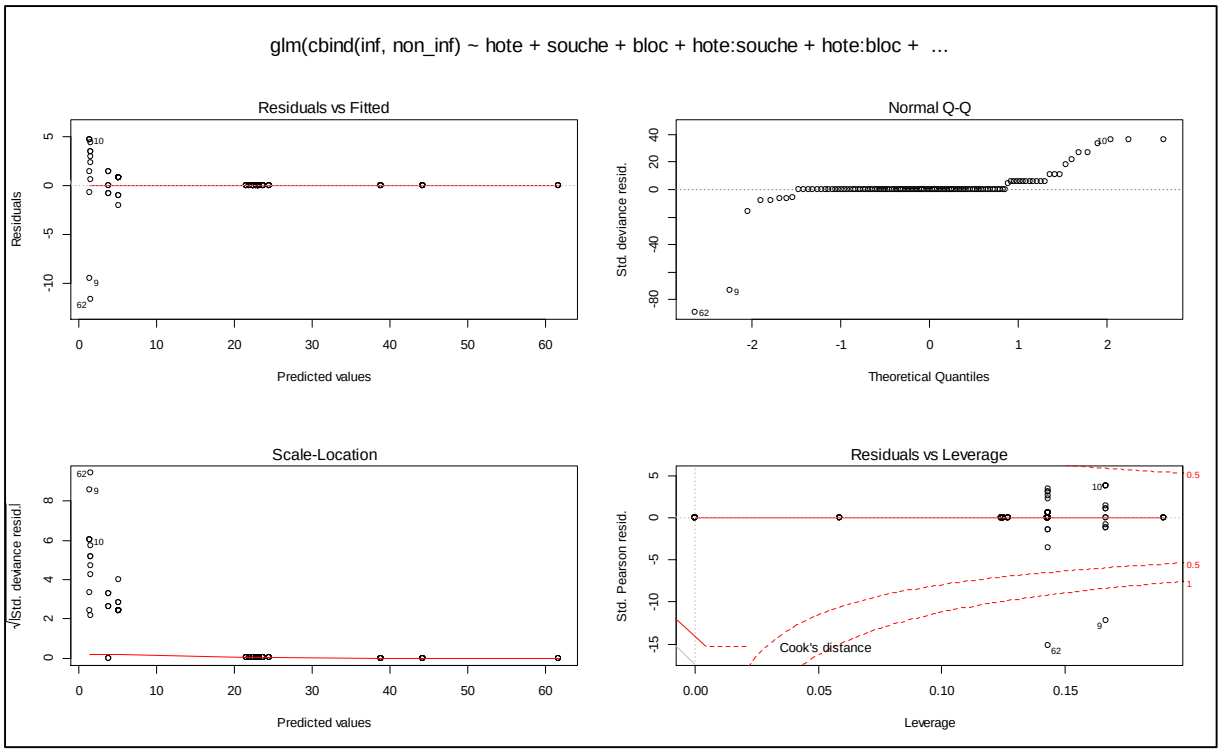
> AIC(data2_bin_inf.glm)

A titre indicatif, voici le critère d'information d'Akaike du même modèle en prenant *D. immigrans* dans les données :

```
[1] 1215.432
```

Cela est un argument en faveur du retrait de D. immigrans pour analyser les valeurs de degré d'infestation.

> plot(data3_bin_inf.glm2)



Le diagnostic ne permet pas d'infirmer l'hypothèse que le modèle s'ajuste bien aux données.

> anova(data3_bin_inf.glm2, test="Chisq")

```
Analysis of Deviance Table

Model: binomial, link: logit

Response: cbind(inf, non_inf)

Terms added sequentially (first to last)


           Df Deviance Resid. Df Resid. Dev Pr(>Chi)
NULL                         119     889.84
hote        2  268.677       117     621.16   <2e-16 ***
souche      2   99.489       115     521.67   <2e-16 ***
bloc        1    0.381       114     521.29   0.5371
hote:souche 4    2.317       110     518.97   0.6777
hote:bloc   2    1.998       108     516.98   0.3683
souche:bloc 2  146.720       106     370.26   <2e-16 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

On voit ici que seuls les effets « hôte », « souche » et l'interaction entre les effets « souche » et « bloc » sont significatifs.

> summary(data3_bin_inf.glm2)

```
Call:
glm(formula = cbind(inf, non_inf) ~ hote + souche + bloc +
hote:souche + hote:bloc + souche:bloc, family = binomial(), data =
data3)
```

```
Deviance Residuals:
     Min        1Q    Median        3Q       Max
-11.6567    0.0000    0.0001    0.0002    4.6796

Coefficients:
                           Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)                  21.514   1522.339   0.014    0.989
hote[T.sub]                  40.138   3263.866   0.012    0.990
hote[T.suz]                  22.731   6056.960   0.004    0.997
souche[T.IR]                -20.107   1522.339  -0.013    0.989
souche[T.TK]                -16.355   1522.339  -0.011    0.991
bloc[T.B2]                  -19.938   1522.339  -0.013    0.990
hote[T.sub]:souche[T.IR]    -19.633   2462.002  -0.008    0.994
hote[T.suz]:souche[T.IR]     -1.023   5160.419   0.000    1.000
hote[T.sub]:souche[T.TK]    -20.739   4882.579  -0.004    0.997
hote[T.suz]:souche[T.TK]     -5.023   6673.267  -0.001    0.999
hote[T.sub]:bloc[T.B2]      -19.238   2142.748  -0.009    0.993
hote[T.suz]:bloc[T.B2]       -1.887   5563.704   0.000    1.000
souche[T.IR]:bloc[T.B2]      22.423   1522.339   0.015    0.988
souche[T.TK]:bloc[T.B2]      37.833   3451.884   0.011    0.991

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

    Null deviance: 889.84  on 119  degrees of freedom
Residual deviance: 370.26  on 106  degrees of freedom
  (3 observations deleted due to missingness)
AIC: 441.65

Number of Fisher Scoring iterations: 19
```

ANNEXE 4

Expérience principale

Succès parasitaire – Script R du modèle et tests statistiques

> data3_bin_para.glm <- glm (cbind(nb_para_tot, (inf-nb_para_tot)) ~ hote*souche*bloc, family=binomial(), data=data3)

> stepwise(data3_bin_para.glm, direction='backward', criterion='AIC')

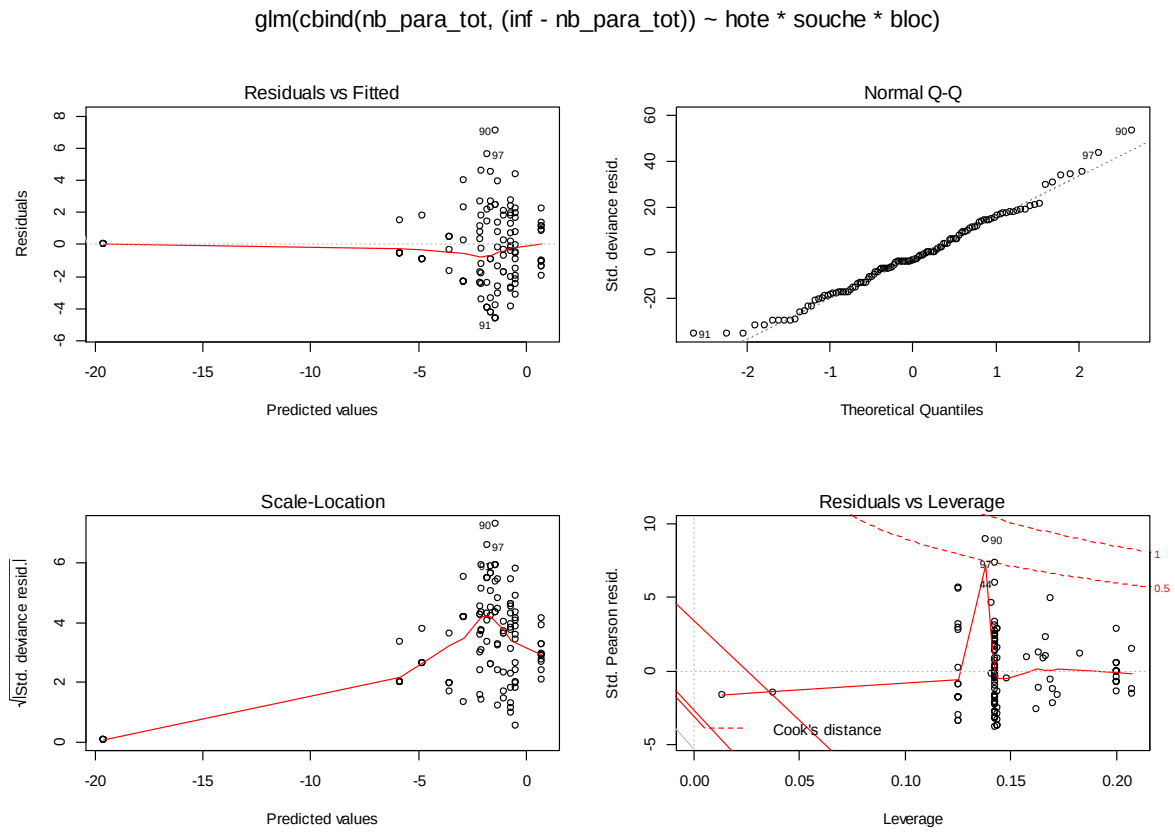
```
Direction:  backward
Criterion:  AIC

Start:  AIC=1007.74
cbind(nb_para_tot, (inf - nb_para_tot)) ~ hote * souche * bloc

                    Df Deviance    AIC
<none>                   639.11 1007.7
- hote:souche:bloc  4   659.20 1019.8
```

On gardera le modèle complet ici, avec l'interaction triple.

> plot(data3_bin_para.glm)



Le diagnostic ne permet pas d'infirmer l'hypothèse que le modèle s'ajuste bien aux données.

> anova(data3_bin_para.glm, test="Chisq")

```
Analysis of Deviance Table

Model: binomial, link: logit

Response: cbind(nb_para_tot, (inf - nb_para_tot))

Terms added sequentially (first to last)


                 Df Deviance Resid. Df Resid. Dev  Pr(>Chi)
NULL                             119    1916.09
hote              2   627.40       117    1288.69 < 2.2e-16 ***
souche            2   292.32       115     996.37 < 2.2e-16 ***
bloc              1   151.09       114     845.28 < 2.2e-16 ***
hote:souche       4   126.01       110     719.26 < 2.2e-16 ***
hote:bloc         2    55.32       108     663.95 9.716e-13 ***
souche:bloc       2     4.74       106     659.20 0.0934594 .
hote:souche:bloc  4    20.09       102     639.11 0.0004785 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

La plupart des effets sont significatifs.

> summary(data3_bin_para.glm)

```
Call:
glm(formula = cbind(nb_para_tot, (inf - nb_para_tot)) ~ hote *
    souche * bloc, family = binomial(), data = data3)

Deviance Residuals:
   Min      1Q  Median      3Q     Max
-4.624  -1.960  -0.447   1.286   7.154

Coefficients:
                      Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)            -1.0312     0.1214  -8.492  < 2e-16 ***
hotesub                -3.7891     0.7203  -5.261 1.43e-07 ***
hotesuz                -1.0451     0.2088  -5.005 5.59e-07 ***
soucheIR                1.7493     0.1832   9.547  < 2e-16 ***
soucheTK               -0.2608     0.1782  -1.464  0.14322
blocB2                  0.5533     0.1713   3.230  0.00124 **
hotesub:soucheIR       -0.4762     0.8274  -0.576  0.56493
hotesuz:soucheIR       -1.2946     0.2839  -4.561 5.10e-06 ***
hotesub:soucheTK      -14.5496   702.4886  -0.021  0.98348
hotesuz:soucheTK       -0.5560     0.3330  -1.670  0.09495 .
hotesub:blocB2         -1.5881     1.2394  -1.281  0.20009
hotesuz:blocB2          0.8083     0.2667   3.030  0.00244 **
soucheIR:blocB2        -0.5475     0.2523  -2.170  0.02997 *
soucheTK:blocB2         0.0498     0.2433   0.205  0.83778
hotesub:soucheIR:blocB2  3.6958     1.3176   2.805  0.00503 **
hotesuz:soucheIR:blocB2  0.3300     0.3684   0.896  0.37030
hotesub:soucheTK:blocB2 18.8239   702.4893   0.027  0.97862
hotesuz:soucheTK:blocB2 -0.6536     0.4260  -1.534  0.12492
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1
```

```
(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

    Null deviance: 1916.09  on 119  degrees of freedom
Residual deviance:  639.11  on 102  degrees of freedom
  (3 observations deleted due to missingness)
AIC: 1007.7

Number of Fisher Scoring iterations: 15
```

ANNEXE 5

Expérience principale

Sexe-ratio – Script R du modèle et tests statistiques

On utilise data4, c'est-à-dire les données de parasitisme sur *D. melanogaster*, *D. suzukii* et *D. subobscura* de la souche IR.

> data4_sexe_ratio.glm <- glm (cbind(nb_para_fem, nb_para_male) ~ hote*bloc, family=binomial(), data=data4)

> stepwise(data4_sexe_ratio.glm, direction='backward', criterion='AIC')

```
Direction:  backward
Criterion:  AIC

Start:  AIC=129.19
cbind(nb_para_fem, nb_para_male) ~ hote * bloc

            Df Deviance    AIC
- hote:bloc  2   28.835 126.28
<none>           27.747 129.19

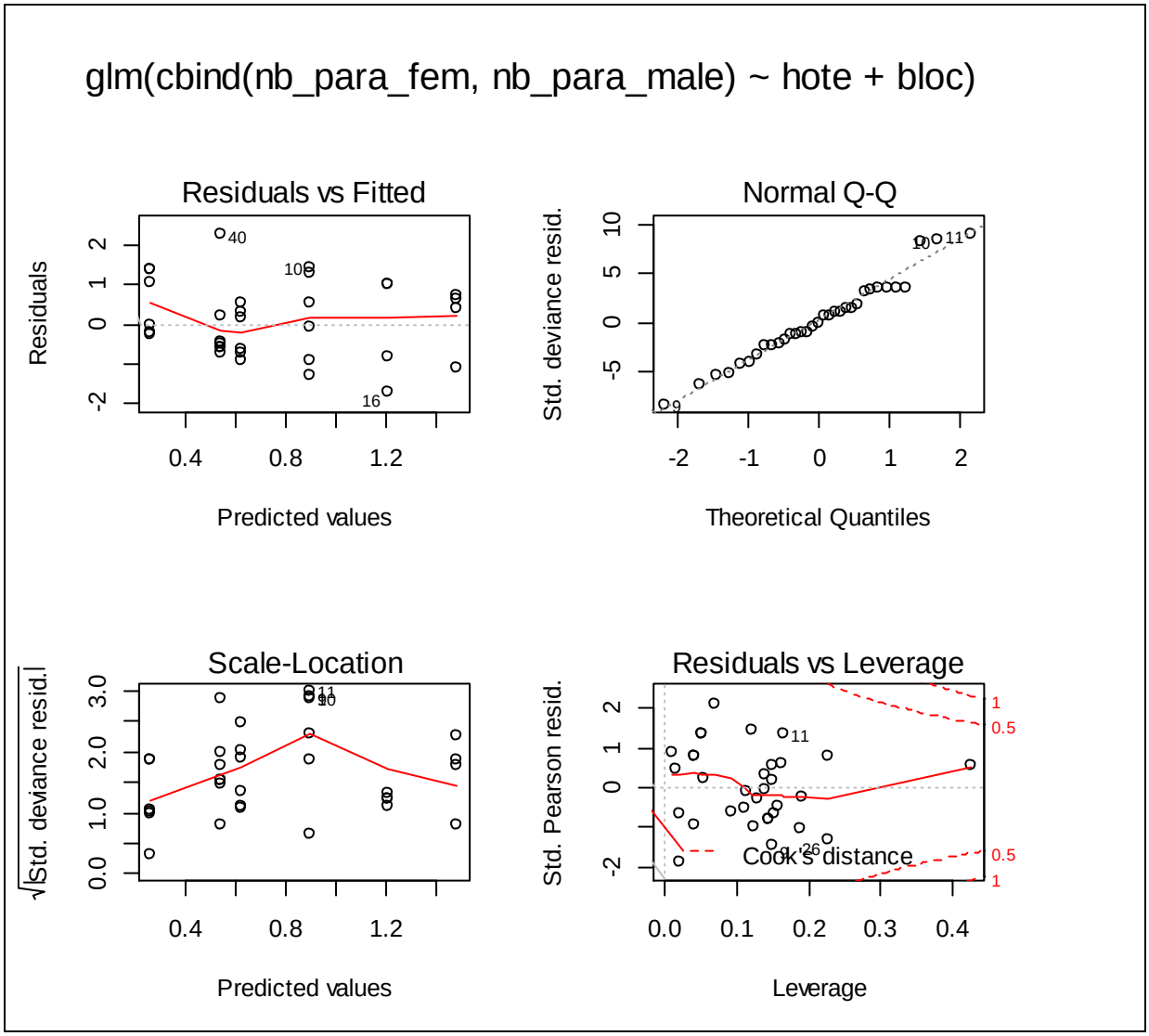
Step:  AIC=126.28
cbind(nb_para_fem, nb_para_male) ~ hote + bloc

       Df Deviance    AIC
<none>      28.835 126.28
- bloc  1   31.247 126.69
- hote  2   38.483 131.93
```

On ne retient que les effets de l'hôte et du bloc dans le modèle.

> data4_sexe_ratio.glm2 <- glm (cbind(nb_para_fem, nb_para_male) ~ hote + bloc, family=binomial(), data=data4)

> plot(data4_sexe_ratio.glm2)



Le diagnostic ne permet pas d'infirmer l'hypothèse que le modèle s'ajuste bien aux données.

> anova(data4_sexe_ratio.glm2, test="Chisq")

```
Analysis of Deviance Table

Model: binomial, link: logit

Response: cbind(nb_para_fem, nb_para_male)

Terms added sequentially (first to last)


     Df Deviance Resid. Df Resid. Dev Pr(>Chi)
NULL                    32     41.946
hote  2  10.6992        30     31.247  0.00475 **
bloc  1   2.4117        29     28.835  0.12043
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

> summary(data4_sexe_ratio.glm2)

```
Call:
glm(formula = cbind(nb_para_fem, nb_para_male) ~ hote + bloc, family
= binomial(), data = data4)

Deviance Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-1.7130  -0.5741   0.0000   0.6054   2.2822

Coefficients:
            Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)   0.6193     0.1475   4.200 2.67e-05 ***
hote[T.sub]   0.5857     0.3246   1.804   0.0712 .
hote[T.suz]  -0.3570     0.1859  -1.920   0.0548 .
bloc[T.B2]    0.2788     0.1793   1.555   0.1200
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

    Null deviance: 41.946  on 32  degrees of freedom
Residual deviance: 28.835  on 29  degrees of freedom
  (2 observations deleted due to missingness)
AIC: 126.28

Number of Fisher Scoring iterations: 4
```

ANNEXE 6

Expérience sur fraisiers

Nombre de parasitoïdes – Script R du modèle et tests statistiques

> data5_nbpar <- glm(nb_para_tot~bloc*souche+init_rouge+fin_rouge+poids_fraise, family=poisson(), data=data5)

> stepwise(data5_nbpar, direction='backward', criterion='AIC')

```
Direction:  backward
Criterion:  AIC

Start:  AIC=237.58
nb_para_tot ~ bloc * souche + init_rouge + fin_rouge + poids_fraise

               Df Deviance    AIC
- poids_fraise  1   162.38 235.63
- bloc:souche   2   164.78 236.03
<none>              162.34 237.58
- fin_rouge     1   173.85 247.10
- init_rouge    1   176.21 249.46

Step:  AIC=235.63
nb_para_tot ~ bloc + souche + init_rouge + fin_rouge + bloc:souche

              Df Deviance    AIC
- bloc:souche  2   164.90 234.15
<none>             162.38 235.63
- fin_rouge    1   174.68 245.93
- init_rouge   1   177.14 248.39

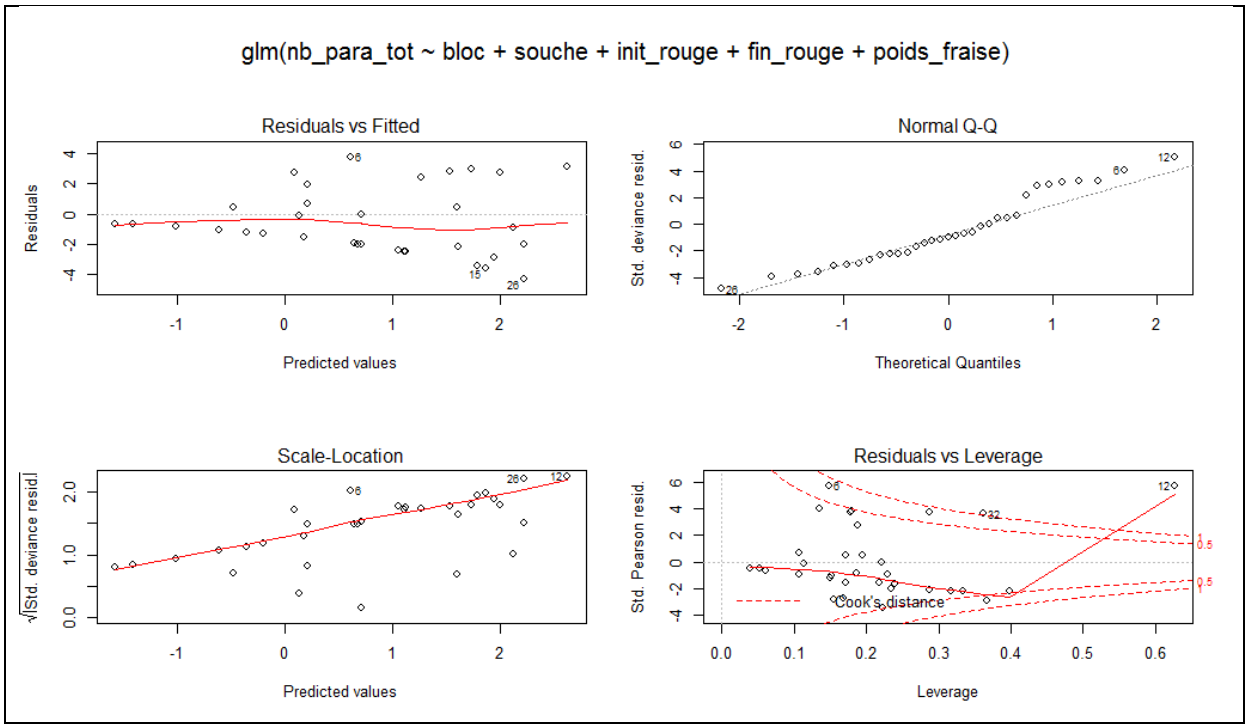
Step:  AIC=234.15
nb_para_tot ~ bloc + souche + init_rouge + fin_rouge

             Df Deviance    AIC
<none>            164.90 234.15
- fin_rouge   1   176.31 243.56
- init_rouge  1   181.38 248.63
- souche      2   192.09 257.34
- bloc        1   196.80 264.05
```

On retient le modèle sans l'interaction bloc:souche. Par contre on conserve le poids des fraises pour vérifier son effet sur le nombre de parasitoïdes.

> data5_nbpar <- glm(nb_para_tot ~ bloc + souche + init_rouge + fin_rouge + poids_fraise, family=poisson(), data=data5)

> plot(data5_nbpar)



Le diagnostic ne permet pas d'infirmer l'hypothèse que le modèle s'ajuste bien aux données.

> anova(data5_nbpar, test="Chisq")

```
Analysis of Deviance Table

Model: poisson, link: log

Response: nb_para_tot

Terms added sequentially (first to last)


             Df Deviance Resid. Df Resid. Dev  Pr(>Chi)
NULL                         32     256.32
bloc          1   41.836        31     214.48 9.927e-11 ***
souche        2   33.019        29     181.46 6.762e-08 ***
init_rouge    1    5.152        28     176.31 0.0232188 *
fin_rouge     1   11.405        27     164.90 0.0007324 ***
poids_fraise  1    0.127        26     164.78 0.7217763
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

les effets suivants sont significatifs : bloc, souche, init_rouge et fin_rouge.

> summary(data5_nbpar)

```
Call:
glm(formula = nb_para_tot ~ bloc + souche + init_rouge + fin_rouge,
family = poisson(), data = data5)

Deviance Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-4.2938  -2.0287  -0.9594   0.6651   3.7748

Coefficients:
```

```
             Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)  0.87751    0.37512   2.339  0.01932 *
blocB2      -3.84452    0.78688  -4.886 1.03e-06 ***
souchexIR    1.27292    0.31119   4.090 4.31e-05 ***
souchexTK    1.33464    0.31153   4.284 1.83e-05 ***
init_rouge  -0.34325    0.08554  -4.013 6.00e-05 ***
fin_rouge    0.27641    0.08658   3.192  0.00141 **
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

    Null deviance: 256.32  on 32  degrees of freedom
Residual deviance: 164.90  on 27  degrees of freedom
AIC: 234.15

Number of Fisher Scoring iterations: 6
```

> summary(glht(data5_nbpar,mcp(souche="Tukey")))

```
         Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts


Fit: glm(formula = nb_para_tot ~ bloc + souche + init_rouge +
fin_rouge + poids_fraise, family = poisson(), data = data5)

Linear Hypotheses:
               Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
xIR - xA == 0   1.25665    0.31460   3.994 0.000184 ***
xTK - xA == 0   1.31809    0.31479   4.187 8.27e-05 ***
xTK - xIR == 0  0.06143    0.20185   0.304 0.949084
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
(Adjusted p values reported -- single-step method)
```

ANNEXE 7

Expérience sur fraisiers

Nombre de drosophiles – Script R du modèle et tests statistiques

> data6_nbdroso <- glm(nb_droso ~ bloc*souche + init_rouge + fin_rouge + poids_fraise, family= poisson(), data=data5)

> stepwise(data6_nbdroso, direction='backward', criterion='AIC')

```
Direction:  backward
Criterion:  AIC

Start:  AIC=441.27
nb_droso ~ bloc * souche + init_rouge + fin_rouge + poids_fraise

               Df Deviance    AIC
- poids_fraise  1   342.54 439.52
<none>              342.28 441.27
- init_rouge    1   348.61 445.59
- fin_rouge     1   360.50 457.48
- bloc:souche   2   444.30 539.29

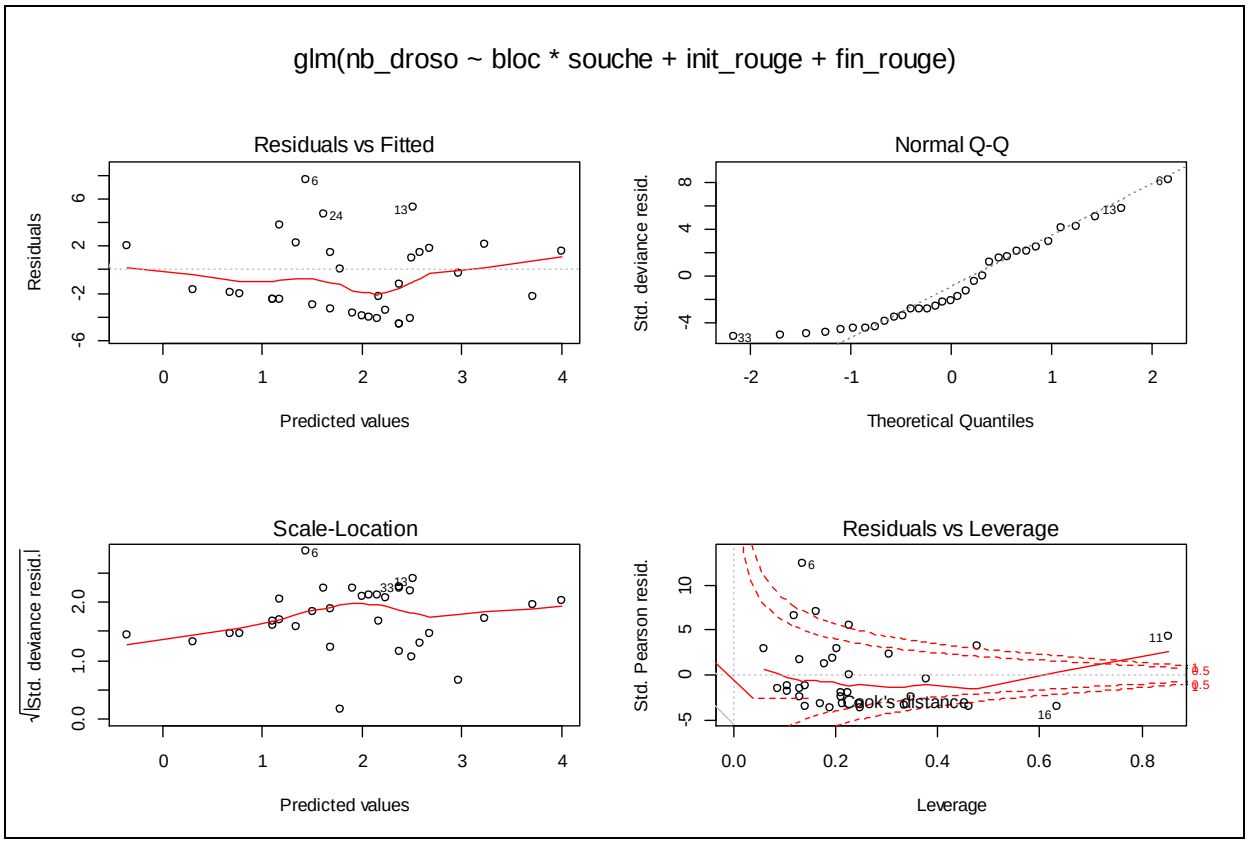
Step:  AIC=439.52
nb_droso ~ bloc + souche + init_rouge + fin_rouge + bloc:souche

              Df Deviance    AIC
<none>             342.54 439.52
- init_rouge   1   348.65 443.63
- fin_rouge    1   366.79 461.77
- bloc:souche  2   444.34 537.33
```

On enlève le poids des fraises du modèle.

> data6_nbdroso <- glm(nb_droso ~ bloc*souche + init_rouge + fin_rouge, family= poisson(), data=data5)

> plot(data6_nbdroso)



Le diagnostic ne permet pas d'infirmer l'hypothèse que le modèle s'ajuste bien aux données.

> anova(data6_nbdroso, test="Chisq")

```
Analysis of Deviance Table

Model: poisson, link: log

Response: nb_droso

Terms added sequentially (first to last)


            Df Deviance Resid. Df Resid. Dev  Pr(>Chi)
NULL                           32     617.92
bloc         1    0.742        31     617.18    0.3889
souche       2    1.066        29     616.11    0.5867
init_rouge   1  145.704        28     470.41 < 2.2e-16 ***
fin_rouge    1   26.061        27     444.34 3.308e-07 ***
bloc:souche  2  101.804        25     342.54 < 2.2e-16 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

> summary(data6_nbdroso)

```
Call:
glm(formula = nb_droso ~ bloc * souche + init_rouge + fin_rouge,
    family = poisson(), data = data5)

Deviance Residuals:
   Min      1Q  Median      3Q     Max
```

```
-4.649  -3.282  -1.984   1.591   7.651

Coefficients:
                          Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)                0.10536    0.23529   0.448 0.654315
bloc[T.B2]                -1.28990    0.48884  -2.639 0.008323 **
souche[T.xIR]              0.94290    0.20546   4.589 4.45e-06 ***
souche[T.xTK]              0.04727    0.22774   0.208 0.835591
init_rouge                 0.13367    0.05427   2.463 0.013782 *
fin_rouge                  0.19927    0.04232   4.708 2.50e-06 ***
bloc[T.B2]:souche[T.xIR] -1.84593    0.36511  -5.056 4.29e-07 ***
bloc[T.B2]:souche[T.xTK]  1.18069    0.32849   3.594 0.000325 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

    Null deviance: 617.92  on 32  degrees of freedom
Residual deviance: 342.54  on 25  degrees of freedom
AIC: 439.52

Number of Fisher Scoring iterations: 6
```

ANNEXE 8

Recette de la gélose nutritive pour le parasitoïde *Asobara japonica*

Ingrédients :
- 1 l d'eau froide
- 15g d'agar
- 100 g de sucre
- 4 g de Nipagine (antifongique)

Mélanger l'agar dans l'eau froide et porter à ébullition.

Quand l'eau commence à bouillir ajouter le sucre et éteindre la plaque chauffante.

Laisser 2 à 3 minutes sur la plaque chauffante

Retirer de la plaque chauffante et laisser refroidir 5 minutes

Ajouter l'antifongique, mélanger et couler les géloses

	Diplôme d'ingénieur d'Agrocampus Ouest, Institut National de l'Horticulture et du Paysage Spécialité : Horticulture Spécialisation / option : Gestion Durable du Végétal Enseignant référent : Bruno Jaloux

Auteur(s) : Philippe Lafargue Date de naissance* : 28 Novembre 1991	Organisme d'accueil : INRA PACA Adresse : 400, route des Chappes - BP 167 06903 Sophia Antipolis Cédex Maître de stage : Nicolas Borowiec
Nb pages : 66 pages Annexe(s) : 8 annexes (20 pp.)	
Année de soutenance : 2015	

Titre français : Évaluation d'un parasitoïde exotique, *Asobara japonica* (Hymenoptera, Braconidae), contre le diptère ravageur *Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae)

Titre anglais : Assessment of an exotic parasitoid, *Asobara japonica* (Hymenoptera, Braconidae), against the pest spotted wing Drosophila, *Drosophila suzukii*.

Résumé :

Drosophila suzukii est un ravageur émergent aux États-Unis et en Europe, principalement des productions de cerises et de fraises. Dans cet essai, nous avons étudié *Asobara japonica*, un parasitoïde japonais larvaire de *D. suzukii* et d'autres drosophiles, comme agent potentiel de lutte biologique par acclimatation. L'objectif est d'évaluer la spécificité et l'efficacité de cet hyménoptère pour constituer un dossier de demande d'introduction sur le territoire français, comportant un volet d'évaluation des impacts de cette introduction sur l'environnement. D'une part, les tests en laboratoire sur du milieu de culture en conditions de non choix ont montré que le parasitoïde est capable d'effectuer son développement pré-imaginal dans quatre des espèces testées : *D. subobscura*, *D. melanogaster*, *D. suzukii*, et *D. busckii*. La cinquième espèce, *D. immigrans*, ne permet pas de développement d'*A. japonica*, mais subit une certaine mortalité. D'autre part, un test de parasitisme en conditions semi-naturelles sur fraisiers montre qu'*A. japonica* est capable de localiser, de parasiter et de se développer dans des larves de *D. suzukii* à l'intérieur des fraises. Par contre, les résultats ne prouvent pas que le parasitoïde est capable de contrôler les populations de *D. suzukii* dans les fraises. De plus, les résultats des deux essais distinguent les trois souches d'*A. japonica* testées par leur spécificité et leur efficacité. La souche IR est celle qui présente la meilleure efficacité et spécificité sur *D. suzukii*. D'après les résultats et la littérature, l'utilisation d'*A. japonica* ne paraît pas la solution de lutte biologique la plus pertinente. La présente étude doit servir de base pour l'évaluation d'autres parasitoïdes exotiques issus de missions de prospection au Japon.

Abstract :

Drosophila suzukii is an emerging pest fly in the United States and Europe, mostly on cherry and strawberry crops. In this study, we assessed *Asobara japonica*, a Japanese larval parasitoid of *D. suzukii* and other drosophila flies, as a classical biological control agent. We intent to assess the specificity and the efficiency of this braconid wasp, in order to frame an request file for its introduction in France, containing an environmental impact assessment part. On one hand, non-choice laboratory trials in nutritive medium vials have been carried out. The results showed that the parasitoid wasp is able to perform its pre-imaginal development in four species out of the five tested ones: *D. subobscura*, *D. melanogaster*, *D. suzukii*, et *D. busckii*. The last species, *D. immigrans*, doesn't let *A. japonica* develop to the adult stage, but nevertheless endures a parasitism-induced mortality. On the other hand, the semi-natural trial on strawberry plants demonstrate that the wasp is able to locate, parasitize and develop in the larvae within the strawberry fruits. But these results do not give any evidence for *A. japonica* capacity to control *D. suzukii* populations in a strawberry crop. The trials let us compare the three different wasp strains. The IR strain seems to be the more efficient and specific on *D. suzukii*. According to these very results and the literature, we know that the use of *A. japonica* is not the best biological control solution against *D. suzukii*. The present work can be a baseline for the assessment of other exotic parasitoid wasps from survey missions in Japan.

Mots-clés : lutte biologique, impact environnemental, *Asobara japonica*, *Drosophila suzukii*

Key Words: biological control, environmental impact, *Asobara japonica*, *Drosophila suzukii*