



HAL
open science

Impact d'une alimentation enrichie en lipides sur les paramètres biologiques de l'adulte du genre *Trichogramma*

Yoan Raynard

► **To cite this version:**

Yoan Raynard. Impact d'une alimentation enrichie en lipides sur les paramètres biologiques de l'adulte du genre *Trichogramma*. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. dumas-02962772

HAL Id: dumas-02962772

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02962772>

Submitted on 9 Nov 2020

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.

Mémoire de stage
Présenté pour l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome,
Option inter-établissement Protection des Plantes et Environnement

Sur le thème

**Impact d'une alimentation enrichie en lipides
sur les paramètres biologiques de l'adulte
du genre *Trichogramma***

Par

Yoan RAYNARD

École de rattachement : Agrocampus Ouest

Stage réalisé à :

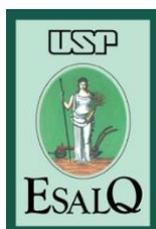
Laboratório de Biologia de Insetos
Departamento de Entomologia e Acarologia
Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura « Luiz de Queiroz »
Avenida Pádua Jours, 11
CEP 13418-900 Piracicaba
BRÉSIL

Sous la Direction de :

José Roberto Postali Parra
Aloisio Coelho Junior

Soutenu le 26 septembre 2018 à Montpellier, devant le jury composé de :

Président : Anne Le Ralec (AO)
Membres : Marie-Stéphane Tixier (MSA)
Jean-Claude Streito (CBGP)



RÉSUMÉ

Impact d'une alimentation enrichie en lipides sur les paramètres biologiques de l'adulte du genre *Trichogramma*

L'utilisation de lipides dans l'élevage des insectes a pendant longtemps été sous-estimée. Pourtant, certains sont incapables de synthétiser des lipides *de novo* : c'est le cas d'une grande partie des hyménoptères parasitoïdes. L'acquisition de lipides via les piqûres nutritionnelles stimule l'ovogenèse. Cependant, le capital investit durant la ponte conduit à un épuisement des réserves en lipides plus rapide qu'à celles de leur renouvellement au travers du nourrissage sur l'hôte. En apportant des lipides via l'alimentation, il serait théoriquement possible de stimuler la production d'œufs et ainsi la capacité de parasitisme de ces insectes. Les femelles *Trichogramma pretiosum* alimentées continuellement avec du miel enrichi avec 10% d'huiles végétales, dont le profil en acides gras est similaire à celui l'hôte *Ephesia kuehniella*, incorporées à 70 °C, ont parasité plus de 10 % d'œufs en plus, en 72 h, que celles alimentées avec du miel pur. Cependant, la longévité du parasitoïde a été réduite de près de 40 %. Ni la performance de vol des insectes exposés à une alimentation enrichie en lipides, ni la qualité de leurs descendants n'ont été impactées. Cet auxiliaire est aujourd'hui largement utilisé dans les programmes de lutte biologique à travers le monde. Apporter des lipides dans son alimentation pourrait présenter un réel intérêt économique en élevage massale.

Mots-clés : lutte biologique, élevage d'insectes, nutrition, lipides, *Trichogramma*, ovogenèse.

ABSTRACT

Effects of a lipid-rich diet on biological parameters of the adult of the genus *Trichogramma*

The use of lipids in insect rearing has been underestimated. Nevertheless, some insects are unable to synthesize lipids *de novo*: it is true for a large number of Hymenoptera parasitoids. Lipid reserves are essentials by fueling both ovigenesis and somatic functions. By host-feeding, females are able to use their host to obtain essential nutrients, including lipids which can be allocated for reproduction. However, the reproductive host-feeding gain is limited by the small quantity of lipids obtain by female during host-feeding. By supplementing parasitoid diet with lipids, it will theoretically possible to stimulate the production of eggs by females, thus their capacity to parasitize host eggs. *Trichogramma pretiosum* females have been feeding continuously a diet supplemented with a ratio of 90:10% honey to plant oil with a fatty acids profile similar to the host *Ephesia kuehniella*, by thermal process (water bath at 70 °C). Females fed with the lipid-rich diet have laid significantly more eggs (+10% in 3 days) than females fed honey-only. However, longevity was negatively affected (-40%) by the addition of plant oil when parasitoids were allowed to feed on the mixture continuously. This would suggest that olive oil becomes toxic to *T. pretiosum*. Finally, neither flight performance nor quality of the offspring have been adversely affected. These results reveal the potential of a lipid-rich diet to increase lipids allocation into reproduction. Further research into lipid supplementation needs to be done to highlight which fatty acids are responsible by an increase in parasitism. The use of a lipid-rich diet for insect rearing could be a true financial benefit for manufacturers which rear parasitoids of the genus *Trichogramma*.

Keywords: biological control, insect rearing, diet, lipids, *Trichogramma*, oogenesis.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je souhaite adresser mes remerciements au Professeur José Roberto Postali Parra, qui m'a permis de réaliser mon stage de fin d'études au sein du Laboratoire de Biologie des Insectes de l'Université de São Paulo. Cette expérience m'a permis d'acquérir des connaissances sur les élevages d'insectes et les problématiques qui leurs sont liées.

Je tiens à remercier tout particulièrement le Docteur Aloisio Coelho Junior, pour le temps qu'il m'a consacré durant ces six mois et le partage de son expertise au quotidien. Il a été mon principal interlocuteur et fut d'une aide précieuse dans la réalisation de ce projet.

Enfin, je remercie également toute l'équipe du laboratoire, pour leur accueil chaleureux, et en particulier Mikaela Terra Souza, étudiante en troisième année du cursus ingénieur agronome à l'ESALQ/USP, pour sa bonne humeur et sa contribution dans la réussite de certaines expérimentations.

SOMMAIRE

1. Introduction	11
2. Synthèse bibliographique	12
2.1. Généralités sur la lutte biologique	12
2.1.1. L'émergence de la lutte biologique au Brésil et dans le monde	12
2.1.2. L'importance de l'élevage d'insectes dans l'accomplissement du contrôle biologique ..	13
2.2. Les hyménoptères parasitoïdes du genre <i>Trichogramma</i> , vétérans de la lutte biologique ..	14
2.2.1. Utilisation de <i>Trichogramma</i> spp. dans les programmes de lutte biologique	14
2.2.2. Description morphologique et physiologie de <i>Trichogramma</i> spp.	15
2.2.3. Reproduction du parasitoïde	15
2.2.4. Qualité des insectes produits	16
2.3. L'alimentation des insectes : facteur clef pour assurer les fonctions de maintenance et de reproduction	16
2.3.1. Acquisition et rôle des nutriments	16
2.3.2. Nutrition en lipides et absence de lipogenèse chez les insectes parasitoïdes	17
2.3.3. Possible intérêt de l'enrichissement en lipide dans la nutrition des insectes	18
3. Matériels et méthodes	21
3.1. Suivi du parasitisme et de la longévité de femelles parasitoïdes exposées à une alimentation riche en lipide	21
3.1.1. Souche	21
3.1.2. Dispositif expérimental	21
3.1.3. Incorporation des huiles végétales sans traitement thermique (à température ambiante)	22
3.1.4. Incorporation des huiles par traitement thermique	23
3.1.5. Homogénéisation de la solution alimentaire avec un solvant organique : le diméthylsulfoxyde (DMSO)	23
3.1.6. Influence du profil en acides gras des huiles végétales	24
3.1.7. Influence de la concentration en huile	24
3.1.8. Analyses statistiques	24
3.2. Évaluation de la qualité de la descendance (génération F1)	25
3.2.1. Génération F1	25
3.2.2. Dispositif expérimental	25
3.2.3. Analyses statistiques	26

3.3.	Étude de la performance de vol des parasitoïdes exposés à une alimentation riche en lipides.....	26
3.3.1.	Souche.....	26
3.3.2.	Dispositif expérimental.....	26
3.3.3.	Analyses statistiques	27
4.	Résultats.....	28
4.1.	Suivi du parasitisme et de la longévité des femelles parasitoïdes exposées à une alimentation enrichie en lipide.....	28
4.1.1.	Incorporation des huiles végétales sans traitement thermique (à température ambiante).....	28
4.1.2.	Incorporation à l'aide d'un traitement thermique.....	28
4.1.3.	Homogénéisation de la solution alimentaire avec un solvant organique : le diméthylsulfoxyde (DMSO)	29
4.1.4.	Influence du profil en acides gras des huiles végétales.....	31
4.1.5.	Influence de la concentration en huile.....	32
4.2.	Évaluation de la qualité de la descendance (génération F1)	33
4.2.1.	Viabilité et rapport des sexes de la descendance	33
4.2.2.	Parasitisme et longévité de la descendance	34
4.3.	Étude de la performance de vol des femelles exposées à une alimentions riche en lipides.....	35
5.	Discussion	36
6.	Conclusion	39
	Références bibliographiques	40

1. INTRODUCTION

Les préoccupations grandissantes autour de l'utilisation des produits phytosanitaires en agricultures nous obligent à revoir nos modes de production (Griffon, 2002). En protection des plantes, de nombreuses solutions alternatives aux produits chimiques se sont développées. Parmi celles-ci, l'utilisation d'insectes auxiliaires, via la mise en place des programmes de lutte biologique, a rencontré de nombreux exemples de réussite. Au Brésil, même si l'utilisation d'insectes dans le but de contrôler les ravageurs est encore limité (Parra, 2014), ce ne sont pas moins de 500 000 hectares de canne-à-sucre et près de 250 000 hectares de soja et de maïs qui sont « traités » chaque année à l'aide des auxiliaires du genre *Trichogramma* (Parra *et al.*, 2015). Parmi les parasitoïdes oophages, les hyménoptères du genre *Trichogramma* font partie des ennemis naturels les plus étudiés et les plus utilisés dans les programmes de lutte biologique à travers le monde (Cônsoi *et al.*, 2010). Un succès qui se doit leurs faciliter d'élevage à partir d'hôtes alternatifs (Parra, 1997 ; Parra *et al.*, 2010), mais aussi à leur capacité à parasiter les œufs de nombreux ravageurs d'importances économiques en agriculture (Botelho, 1997).

Au cours de la bioévolution, certains insectes ont perdu la capacité de synthétiser de lipides *de novo* : c'est le cas de la plupart des hyménoptères parasitoïdes (Giron et Casas, 2003 ; Visser *et al.*, 2010). Pourtant, les réserves lipidiques leurs permettent d'assurer les fonctions de maintenance et de reproduction (Jervis *et al.*, 2008). En consommant une partie de l'hémolymph de leur hôte via la réalisation des piqûres nutritionnelles (Giron *et al.*, 2002 ; Mondy *et al.*, 2006), les parasitoïdes vont acquérir des nutriments, dont des lipides essentiels. D'autres adaptations évolutives leur permettent de manipuler le métabolisme de leur hôte afin d'en augmenter la teneur en lipides (Pennacchio et Strand, 2006). Cependant, le capital investit durant la ponte conduit à un épuisement des réserves en lipides plus rapide qu'à celles de leur renouvellement au travers des piqûres nutritionnelles (Giron *et al.*, 2004). Les efforts fournis par les parasitoïdes pour maximiser l'acquisition de lipides laissent penser qu'un apport supplémentaire leurs permettrait de renouveler plus rapidement ce capital et ainsi de stimuler leur potentiel reproductif.

Néanmoins, de par leurs propriétés physico-chimiques, l'utilisation de lipides pour l'élevage des insectes a pendant longtemps été sous-estimé (Cohen, 2015). Aujourd'hui, le miel est l'unique source d'alimentation utilisée pour l'élevage des trichogrammes (Harvey *et al.*, 2012 ; Embrapa, 2013). Bien que les hyménoptères du genre *Trichogramma* fassent partie des parasitoïdes les plus étudiés à ce jour (Cônsoi *et al.*, 2010), l'évaluation de l'impact d'une alimentation enrichie en lipides sur le parasitisme des femelles n'a pas été réalisée. Ainsi, le présent projet se propose d'étudier l'impact d'une telle alimentation sur les paramètres biologiques de l'adulte du genre *Trichogramma*. En apportant une source de lipides de substitution dans l'alimentation des femelles, il serait théoriquement possible de stimuler la production d'œufs et ainsi la capacité de parasitisme de ces insectes. Ceci pourrait alors présenter un intérêt économique en production massale.

2. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1. Généralités sur la lutte biologique

2.1.1. L'émergence de la lutte biologique au Brésil et dans le monde

À partir des années 1960, la « révolution verte » a transformé profondément notre agriculture. Parmi les leviers majeurs, l'utilisation de produits phytosanitaires a largement contribué à ce changement. En contrôlant des bioagresseurs de différentes natures, ces substances permettent aux agriculteurs d'assurer le rendement et la qualité des denrées produites (Popp *et al.*, 2013). Sans protection des cultures, 30 à 40% des récoltes seraient perdues (UIPP, 2017). Cependant, leurs impacts néfastes sur l'environnement et la santé a conduit à des nouveaux changements et à l'émergence d'une nouvelle révolution dite « doublement verte », où une nouvelle forme d'agriculture allierait productivité et durabilité écologique, économique et sociale (Griffon, 2002). Pour faire face à ces préoccupations, l'Europe s'est alors engagée dans une politique de réduction drastique des produits phytopharmaceutiques par le vote de la Directive cadre européenne 2009/128/CE. C'est la première fois qu'un cadre d'action communautaire est instauré pour parvenir à une utilisation des pesticides compatible avec le développement durable. En France, cela s'est traduit par la mise en place du plan Ecophyto, dont l'objectif est de réduire progressivement l'utilisation des produits phytosanitaires, suivi par l'adoption de la loi d'Avenir pour l'Agriculture du 13 octobre 2014. Cette dernière vise à mettre en place des politiques publiques qui permettraient de promouvoir et de pérenniser les systèmes de production agroécologiques, combinant performance économique, sociale, environnementale et sanitaire.

Ainsi, progressivement, certaines solutions chimiques ont été retirées du marché et de nouvelles alternatives à ces produits ont vu le jour. Parmi celles-ci, l'utilisation d'organismes vivants pour contrôler les populations des ravageurs des cultures est apparue comme une alternative crédible. La lutte biologique a été définie par la FAO comme une « stratégie de lutte contre les organismes nuisibles qui fait appel aux auxiliaires, antagonistes, compétiteurs ou autres agents de lutte biologique. D'ici 2035, après s'être doté des outils législatifs prometteurs, les produits de biocontrôle pour lutter contre les insectes et les acariens en agriculture dans l'hexagone devrait concerner 80% des solutions de protection des cultures, contre 14% en 2014 (Chomienne *et al.*, 2017).

Au Brésil, avec près de 64 millions d'hectares cultivés (soit 7,6 % du territoire national) (Embrapa, 2017), le pays est devenu, il y a dix ans déjà, un des plus grands utilisateurs de produits phytosanitaires. Récemment, les députés ont approuvé le Projet de Loi 6299/02, aussi surnommé « Pacote do veneno » (« dossier du poison »), qui devrait permettre d'accélérer les procédures de mises sur le marché de produits pesticides et herbicides. Néanmoins, malgré la pression des lobbies auprès des Parlementaires, d'autres acteurs militent pour le développement d'une agriculture plus responsable. Même si l'utilisation d'insectes dans le but de contrôler certains ravageurs des cultures est encore limitée (Parra, 2014), l'utilisation de l'hyménoptère parasitoïde *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891), aujourd'hui appliqué sur près des deux tiers des surfaces de canne-à-sucre du pays, est un des programmes de lutte biologique les plus efficaces au monde. De même, l'utilisation de *Trichogramma pretiosum* (Riley, 1879) pour le contrôle de *Spodoptera*

frugiperda (J. E. Smith, 1797), principal ravageur du maïs, permettrait d'augmenter la productivité du maïs cultivé en agriculture biologique de près de 20% (Figueiredo *et al.*, 2015). Ces exemples de réussite sont le fruit de nombreuses années de recherche portant sur l'élevage et l'alimentation des insectes qui ont permis la mise en place de programmes de lutte performants.

2.1.2. L'importance de l'élevage d'insectes dans l'accomplissement du contrôle biologique

L'élevage d'insectes est fondamental (Cohen, 2015). Il est nécessaire d'élever des insectes, d'abord dans le but de les étudier, pour ensuite être en mesure de les produire de façon massive et mettre en place des programmes de lutte biologique (lâchers inondatifs). La production massive d'insectes est donc une composante clef de la réussite de la lutte biologique. Cependant, produire des auxiliaires relève plusieurs défis. Pour certaines espèces, il est relativement simple de les élever sur des substrats artificiels et de les maintenir en grandes populations en laboratoire telle que le genre *Drosophila*, diptère largement utilisé comme modèle d'études. Par ailleurs, ce modèle présente de nombreux avantages : il est possible de produire une grande quantité d'insecte dans un espace restreint, son cycle de vie court permet l'étude de plusieurs générations sur une courte période, mais aussi d'étudier des populations génétiquement homogènes. Ainsi, les travaux portant sur *Drosophila* sp. ont permis d'importantes avancées dans le domaine de la biomédecine et surtout de la génétique (Altaratz *et al.*, 1991). Un milieu artificiel peut être défini comme une source d'alimentation qui n'est pas rencontrée naturellement dans la nature par l'insecte qui la consomme. L'Homme lui fournit des nutriments de substitutions pour assurer les fonctions du métabolisme. De cette façon, c'est la Mouche bleue, *Calliphora vomitoria* L., qui a été le premier insecte élevé sur milieu artificiel alors composé de peptones, d'extraits de viande, d'amidon et de minéraux, par Bogdanov en 1908. Sept ans plus tard, Loeb élève *Drosophila* sp. durant cinq générations sur un milieu constitué de sucre de raisin, sucre de canne, tartrate d'ammonium, phosphate de potassium, phosphate de magnésium et d'eau. Dans les années 1940, un grand nombre d'insectes sont déjà élevés à l'aide de milieux artificiels (Singh, 1985).

Néanmoins, pour d'autres insectes, en particulier les phytophages, les connaissances actuelles ne permettent pas toujours de les élever sur un substrat artificiel, ce qui rend difficile leur production à grande échelle. C'est seulement en 1942 que le premier insecte phytophage *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796), la pyrale du maïs, est élevé sur un milieu artificiel constitué de caséines, sucres, graisses, sels, vitamines, cellulose, agar et eau. Quatre ans plus tard, Beck et ses collaborateurs proposent un nouveau milieu composé d'éléments chimiques hautement purifiés, incluant également un extrait de feuille de maïs pour fournir un facteur de croissance inconnu à l'époque, mais identifié plus tard comme l'acide ascorbique (Chippendale et Beck, 1964). Ce sont les milieux élaborés pour le ver rose du cotonnier, *Pectinophora gossypiella* (Saunders, 1843) (Adkisson *et al.*, 1960) et pour *Heliothis virescens* (Fabricius, 1777) (Berger, 1963), qui ont constitué une avancée majeure pour la production des lépidoptères et d'autres phytopages. Au Brésil, en 1969, la pyrale de la canne-à-sucre, *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794), est le premier insecte élevé sur un milieu artificiel par Domingos Gallo, alors chef du département de d'Entomologie à l'Esalq/USP (École supérieure d'agriculture Luiz Queiroz/Université de São Paulo). En France, les recherches portant sur les trichogrammes dans le but de contrôler la pyrale du maïs sont initiés en 1973 avec la création de la Station de Lutte biologique d'Antibes (INRA) (Voegelé *et al.*, 1975).

Contrairement aux insectes prédateurs qui vont consommer leurs proies, les insectes parasitoïdes vont pondre leurs œufs au sein d'un hôte, conduisant à sa mort. Afin de les utiliser dans des programmes de lutte biologique, la première étape consiste en l'élevage économiquement viable de leur hôte naturel (Lenteren et Tommasini, 1999). Cependant, pour des raisons de coûts de production, de risques de contaminations par des agents pathogènes ou encore de concurrence avec d'autres insectes parasitoïdes, il est parfois impossible d'élever certains auxiliaires depuis leur hôte naturel. L'utilisation d'hôte alternatif permet alors de remplir cette mission. En 1927, Flanders a mis en évidence la possible utilisation des œufs de l'alucite des céréales, *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1789) pour l'élevage de *Trichogramma* spp. Cette découverte a permis la production de l'auxiliaire à grande échelle. Plus tard, dans les années 1970, Lewis et ses collaborateurs (1976) ont montré que les qualités nutritionnelles des œufs de *S. cerealella* ne permettaient pas d'élever certaines espèces de trichogrammes. Ils ont alors recommandé l'utilisation des œufs d'un hôte alternatif, *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) afin de produire des parasitoïdes présentant une longévité et une fécondité accrues. L'étude des exigences thermiques et nutritionnelles est primordiale afin de produire des insectes de qualité et d'optimiser les méthodologies d'élevage.

Parmi les parasitoïdes oophages, les hyménoptères du genre *Trichogramma* font certainement partie des ennemis naturels les plus étudiés et les plus utilisés dans les programmes de lutte biologique à travers le monde (Cônsoi *et al.*, 2010).

2.2. Les hyménoptères parasitoïdes du genre *Trichogramma*, vétérans de la lutte biologique

*2.2.1. Utilisation de *Trichogramma* spp. dans les programmes de lutte biologique*

En Russie, entre trois et dix millions d'hectares ont été « traités » annuellement avec différentes espèces de trichogrammes pour le contrôle de ravageurs variés (Lenteren, 2008). Le Brésil est également un exemple de pays qui a développé plusieurs programmes de lutte biologique utilisant l'auxiliaire du genre *Trichogramma*. En effet, l'espèce *Trichogramma galloi* (Zucchi, 1988) est utilisé pour le contrôle de nombreux ravageurs tels que la pyrale de la canne-à-sucre (*D. saccharalis*), ou encore *Chrysodeixis includens* (Walker, 1858) et *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) sur les surfaces de soja et de haricot (Parra *et al.*, 2015). De même, *T. pretiosum* est largement utilisé pour lutter contre la mineuse de la tomate, *Tuta absoluta* Meyrick (Haji *et al.*, 1995). En plein champ, cette espèce est aussi relâchée sur la culture du maïs pour lutter contre *S. frugiperda*, ou encore contre *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850) qui s'attaque à la culture du cotonnier. Au total, ce ne sont pas moins de 500 000 hectares de canne-à-sucre et près de 250 000 hectares de soja et de maïs qui sont « traités » chaque année à l'aide des auxiliaires du genre *Trichogramma* (Parra *et al.*, 2015).

Le succès de cet auxiliaire se doit à sa facilité d'élevage en grande quantité à partir d'hôtes alternatifs (Parra, 1997 ; Parra *et al.*, 2010), mais également à sa capacité à parasiter les œufs de nombreux ravageurs d'importances économiques en agriculture (Botelho, 1997). Enfin, la réussite des programmes lutte biologique faisant appel aux trichogrammes font de cet auxiliaire un produit largement commercialisé par les entreprises du monde entier (Lenteren, 2003).

2.2.2. Description morphologique et physiologie de *Trichogramma* spp.

Les trichogrammes sont des hyménoptères chalcidiens microscopiques qui appartiennent à la famille des Trichogrammatidae. Ce sont des parasitoïdes oophages : les femelles pondent leurs œufs dans les œufs des lépidoptères. Près de 210 espèces du genre *Trichogramma* ont déjà été décrites (Pinto, 1999), dont 26 au Brésil. Ils présentent une taille réduite, comprise entre 0,2 et 1,5 mm, variable selon les espèces (Pinto, 1997). Leur durée de développement, depuis la ponte des œufs dans l'hôte jusqu'à l'émergence des adultes, est de neuf à dix jours à 23 °C (Kazmer et Luck, 1995). D'après Sweetman (1958), la majeure partie des espèces de trichogrammes est considérée comme polyphage. Cependant, il convient de mentionner qu'il existe d'importantes variations inter et intra-spécifiques en ce qui concerne la préférence de l'hôte (Hassan, 1989).

Les insectes présentent de nombreuses adaptations physiologiques, morphologiques et comportementales induites par les changements climatiques (Martins et Barbeitos, 2000 ; Lessard et Boivin, 2013). Le cycle de vie du trichogramme est généralement continu. Cependant, lorsque les conditions environnementales lui deviennent défavorables, principalement à cause du froid, le parasitoïde peut entrer en quiescence ou en diapause afin de garantir sa survie (Rossi, 1997). Il est donc important d'étudier les stratégies de survie du parasitoïdes face au froid afin d'optimiser son utilisation en tant qu'auxiliaire dans les programmes de lutte biologique (Bovin, 1994).

2.2.3. Reproduction du parasitoïde

Trichogramma spp. est un endoparasitoïde idiobionte : il tue rapidement son hôte afin d'exploiter les ressources nutritives au bénéfice de son propre développement (Askew et Shaw, 1986). Par son mode de reproduction, le parasitoïde empêche son hôte d'atteindre le stade larvaire, phase la plus dommageable économiquement en agriculture (Botelho, 1997).

Le sexe des descendants est déterminé par haplo-diploïdie ou parthénogenèse arrhénotoque. Les ovocytes non fécondés donneront naissance à des mâles haploïdes avec un patrimoine génétique uniquement d'origine maternelle, tandis que les ovocytes fécondés donneront naissance à des femelles diploïdes avec un patrimoine génétique issu des deux parents (King, 1993). En « choisissant » de féconder ou non les œufs qu'elles pondent, les femelles fécondés peuvent ainsi « contrôler » la proportion des sexes dans leur descendance. Ce choix peut être influencé par la qualité de l'hôte, mais aussi par le nombre de femelles compétitrices. De plus, le trichogramme est un insecte grégaire, c'est-à-dire qu'une femelle peut pondre plusieurs œufs au sein d'un même hôte, en fonction de la taille de ce dernier. La taille de la progéniture est également liée à la taille de l'hôte.

Enfin, les trichogrammes sont des hyménoptères « modérément » synovigéniques (Jervis *et al.*, 2001). Les adultes émergent avec un nombre d'œufs déjà matures et continuent à en produire au cours de leur vie. La fécondité des femelles peut donc être influencée par les conditions du milieu et les ressources qu'elles vont acquérir.

2.2.4. Qualité des insectes produits

La réussite des programmes de lutte biologique dépend de la qualité des élevages, principalement pour une utilisation en plein champ, où les parasitoïdes vont être confrontés à de nombreux facteurs nuisibles à la réalisation de leur mission (variations climatiques, concurrence avec d'autres parasitoïdes, prédation) (Lenteren, 2003). Au travers de recommandations, Van Lenteren (2003) a alors établi une liste de variables biologiques qui permet de s'assurer de la qualité des insectes produits. Dans celle-ci y figure la fécondité (indication du nombre potentiel d'hôtes parasités), la longévité, la taille des adultes (taille de tibia) ou encore le rapport des sexes de la descendance, d'importants paramètres qui vont être étroitement liés à l'efficacité du contrôle biologique.

De même, l'aptitude des insectes à se disperser dépend de leurs activités locomotrices. Chez *Trichogramma* spp., la performance de vol est une caractéristique importante qui contribue au succès des programmes de lutte biologique qui utilisent cet hyménoptère parasitoïde. En effet, la quête de nourriture ainsi que la recherche d'hôtes à parasiter dépendent directement de la capacité du parasitoïde à se disperser à partir de son point de libération (Dutton et Bigler, 1995). La capacité de dispersion permet également d'évaluer à quelle distance doivent être libérés les insectes dans une parcelle, afin que le contrôle des ravageurs soit efficace. Afin d'évaluer la performance de vol à courte distance de ce parasitoïde, Dutton et Bigler (1995) ont développé un procédé simple, rapide et peu coûteux qui permet d'évaluer la qualité des insectes en laboratoire. Adopté comme référence par l'Organisation International de lutte biologique (OILB), ce dispositif sert aujourd'hui de référence pour évaluer la qualité des parasitoïdes produits (Lenteren, 2012).

L'étude des exigences nutritionnelles et thermiques des insectes est donc primordiale afin de s'assurer de leur performance dans les programmes de lutte biologique.

2.3. L'alimentation des insectes : facteur clef pour assurer les fonctions de maintenance et de reproduction

2.3.1. Acquisition et rôle des nutriments

Les milieux artificiels destinés à l'élevage d'insectes sont généralement constitués de protéines (source d'azote), de lipides, sucres, vitamines et minéraux. Ils peuvent également contenir des stabilisateurs ou des agents conservateurs (Cohen, 2015). La plupart des insectes, exception faite de ceux qui se nourrissent de la sève des végétaux, utilisent les protéines comme principales sources de nitrogène. Une fois ingérés, les protéines ou polypeptides sont dégradés en acides aminés, puis absorbés afin de synthétiser de nouvelles protéines qui constitueront le corps de l'insecte. De même, les sucres jouent un rôle essentiel en tant qu'éléments constitutifs des insectes, mais aussi en tant que source d'énergie. Par exemple, la cuticule des insectes contient de la chitine, un polysaccharide constitué d'osamines (oses dont la fonction alcool a été remplacée par une amine). L'alimentation des adultes de genre *Trichogramma* à l'aide de sucres maximise leur espérance de vie et leur potentiel reproductif. Ainsi, le miel est aujourd'hui largement utilisé en laboratoire pour l'élevage de cet hyménoptère parasitoïde (Harvey *et al.*, 2012 ; Harvey *et al.*, 2017).

De plus, dans le cas des insectes parasitoïdes, la qualité nutritive de l'hôte est essentielle afin de s'assurer de produire des agents de lutte performants. Certains hyménoptères consomment des ressources nutritives autres que celles de leurs hôtes (hémolymphe, tissus). Ils consomment également des dérivés des plantes (nectar, pollen), des éléments essentiels qui sont nécessaires afin d'assurer les fonctions du métabolisme. Jervis et ses collaborateurs ont montré que deux tiers des hyménoptères sont monophages, et qu'ils s'alimentent sur des végétaux spécifiques, souvent en lien avec leur caractéristiques morphologiques (pièces buccales). Par exemple, c'est le cas des parasitoïdes appartenant à la famille des ichneumonides qui ne visitent qu'exclusivement les ombellifères (Apiaceae) (Jervis *et al.*, 1993). L'étude des relations privilégiées « plante-parasite » permet par ailleurs de mettre en place des programmes de lutte biologique par conservation, où l'utilisation de végétaux consommés par l'auxiliaire de culture permet de le pérenniser autour des parcelles.

2.3.2. Nutrition en lipides et absence de lipogenèse chez les insectes parasitoïdes

Cohen (2015) estime que l'importance des lipides dans la nutrition des insectes à pendant longtemps été sous-estimée. Pourtant, les lipides interviennent dans de nombreuses fonctions telles que le transport de nutriments, le stockage d'énergie, ou encore la synthèse éléments précurseurs à d'autres molécules. Contrairement aux vertébrés, les insectes sont incapables de synthétiser des stéroïdes pour assurer leurs besoins (Beenackers *et al.*, 1985). Ils sont néanmoins essentiels et doivent être fournis au travers de leur alimentation. Ces stéroïdes sont des éléments constitutifs des membranes cellulaires et sont également convertis en ecdystéroïdes ou hormones précurseurs jouant un rôle essentiel dans le processus de mue (Stanley, 2006). Certains insectes ont la capacité de casser les liaisons de longues chaînes carbonées constituées de 24 à 28 atomes de carbone. Cette caractéristique essentielle leur permet d'utiliser les phytostéroïdes pour assurer les fonctions du métabolisme telles que la synthèse d'ecdystéroïdes ou encore pour assurer la croissance des tissus. Néanmoins, en raison de leur faible solubilité et faible miscibilité dans l'eau, les lipides nécessitent la synthèse de transporteurs spécifiques tels que des lipoprotéines. Concernant l'élevage d'insectes, en raison de leurs caractéristiques physico-chimiques, l'incorporation de lipides dans l'alimentation des insectes peut présenter plusieurs difficultés. La majeure partie des lipides jouant un rôle nutritif sont insolubles ou partiellement dans l'eau. Parce qu'ils sont majoritairement non polaires, les lipides se dissolvent ou s'associent avec d'autres composant non chargés tels que des solvants. Différentes stratégies existent afin d'incorporer des lipides dans l'alimentation des insectes, dont l'utilisation de solvants.

Chez les insectes parasitoïdes, les réserves lipidiques assurent deux types de fonctions : de maintenance (somatique) et de reproduction (ovogenèse) (Jervis *et al.*, 2008). Les ressources en lipides sont acquises au travers de piqûres nutritionnelles, aussi qualifiée de nourrissage sur l'hôte (« *host-feeding* » en anglais), que certains hyménoptères réalisent avant de pondre leurs œufs (Giron *et al.*, 2002 ; Mondy *et al.*, 2006). En consommant une partie de l'hémolymphe de leur hôte, les parasitoïdes vont acquérir des nutriments, dont des lipides, déterminants pour prolonger leur longévité ou pour produire des œufs (Jervis et Kidd 1986 ; Ellers *et al.*, 2000). Cette activité peut conduire ou non à la mort de l'hôte. Il existe donc un compromis reproductif : en s'alimentant de l'hôte « présent » la femelle laisse moins de nutriments pour que sa progéniture puisse se développer, néanmoins, elle

va acquérir des ressources supplémentaires qui lui permettront d'investir dans la production d'œufs et ainsi dans une génération future (Jervis et Ferns, 2004).

Afin d'acquérir des ressources en lipide, les hyménoptères parasitoïdes ont également développé d'autres stratégies évolutives. En injectant un venin au sein de leur hôte, ils sont capables de neutraliser les défenses immunitaires de ce dernier, et ainsi d'empêcher l'encapsulation des œufs conduisant à la mort de leur progéniture par asphyxie (Carton et Nappi, 1997). D'autres études ont montré que le venin de certains hyménoptères était responsable d'altérations métaboliques de l'hémolymphe, incluant une augmentation du taux en lipides, en protéines et en acides aminés (Pennacchio et Strand, 2006). Ces adaptations évolutives sont d'autant plus importantes, que la plupart des hyménoptères parasitoïdes seraient incapables de synthétiser des lipides *de novo* (Giron et Casas, 2003 ; Visser *et al.*, 2010). De ce fait, ces insectes naissent avec la quasi-totalité des ressources en lipides disponible au cours de leur vie (Casas *et al.*, 2005). En manipulant le métabolisme de leur hôte, ils s'assurent ainsi de l'abondance en lipide pour le développement des larves, qui vont consommer les ressources de l'hôte plutôt que de synthétiser des lipides *de novo*. En faisant intervenir de nombreuses enzymes dans le processus de synthèse de lipides, le coût énergétique théorique de la lipogenèse est important (Visser et Ellers, 2008). L'exploitation des ressources de leur hôte confierait alors un avantage sélectif certain aux parasitoïdes.

L'acquisition de lipides semble avoir une importance primordiale pour la reproduction des parasitoïdes. Cependant, le gain reproductif théorique acquis serait limité par la faible quantité de lipides obtenue par les femelles durant le nourrissage sur l'hôte (Giron *et al.*, 2004). Néanmoins, l'augmentation de la fécondité des femelles qui réalisent les piqûres nutritionnelles peut être principalement associé à l'acquisition de lipides durant cette action. De même, Casas et ses collaborateurs (2005) expliquent qu'une utilisation exclusive des lipides pour la fonction de reproduction permettrait à une production maximale d'œufs, sachant qu'ils sont acquis à la naissance et disponibles au travers de l'alimentation en très petite quantité. En effet, la capacité à parasiter un nombre important d'hôtes disponibles conduit à un épuisement de réserves en lipides (perdues durant l'oviposition) plus rapide que leur acquisition durant le nourrissage sur l'hôte.

Par conséquent, enrichir l'alimentation de ces insectes en lipides pourrait théoriquement maximiser leur capacité de parasitisme, et ainsi avoir une application en production massale, voire en lutte biologique.

2.3.3. Possible intérêt de l'enrichissement en lipide dans la nutrition des insectes parasitoïdes

L'enrichissement en lipide de l'alimentation des hyménoptères parasitoïdes n'est pas une idée nouvelle. En effet, Carpenter et ses collaborateurs (2001) a montré que *Diapetimorpha introita* (Cresson) élevé sur un milieu artificiel enrichi en lipides extraits de l'hôte *S. frugiperda*, permettait d'augmenter significativement le nombre d'œufs pondus par les femelles. De même, Visser et Ellers (2012) ont montré que la teneur en lipides de femelles *Cotesia glomerata* L. alimentées continuellement pendant quatre jours avec du miel enrichi avec 25 % d'huile d'olive était aussi élevée que celle de femelles nouvellement émergées, et plus élevée que celle des femelles exposées à du miel pur. Cette étude suggère que les adultes alimentés avec une alimentation enrichie en huile végétale économiseraient leur capital lipidique.

Ainsi, un enrichissement en lipide dans l'alimentation des trichogrammes pourrait théoriquement permettre de stimuler la fécondité de femelles adultes. Par ailleurs, les œufs de *E. kuenhiella* sont aujourd'hui classiquement utilisés pour la production de cet hyménoptère (Parra *et al.*, 2014). Il a été substitué aux œufs de *S. cerealella*, dont les ressources nutritives (Lewis *et al.*, 1976) ne convenaient pas à la production de certaines espèces de *Trichogramma* spp. En analysant la composition des œufs que des deux hôtes cités, Aloisio Coelho, Docteur à l'ESALQ/USP, a mis en évidence que ceux de *E. kuenhiella* contenait près de 20 % de lipides en plus que ceux de *S. cerealella*. De plus, une analyse détaillée du profil en acides gras des œufs de *E. kuenhiella* montre qu'ils sont riches en acides oléiques (données non publiées) (Table 1). Cet acide gras se rencontre dans presque toutes les graisses animales et végétales, où il peut représenter plus de 50 % des acides gras totaux (Sonntag, 1979).

Table 1 – Composition en acides gras des œufs de l'hôte alternatif *Ephesia kuehniella*, obtenu par chromatographie en phase gazeuse (Coelho Jr. et Deschamps, [données non publiées])

Type d'acides gras	Pourcentage à différents âges (en heures)					
	0-3 h	12-15 h	24-27 h	36-39 h	48-51h	60-63h
Acide palmitique C 16:0	30,4	30,5	29,6	29,2	29,2	27,7
Acide palmitoléique C 16:1	1,7	1,7	1,6	1,6	1,6	1,5
Acide stéarique C 18:0	1,6	1,6	1,8	1,9	2,0	2,2
Acide oléique C 18:1	50,0	49,3	50,5	50,0	49,9	49,8
Acide linoléique C 18:2	13,2	13,5	13,5	14,1	13,9	14,9
Acide linoléique C 18:3	3,1	3,5	3,1	3,3	3,4	3,9

Le miel est aujourd'hui largement utilisé en laboratoire pour l'alimentation d'hyménoptères parasitoïdes (Harvey *et al.*, 2012 ; Harvey *et al.*, 2017). Il s'agit d'un produit complexe composé essentiellement composé de sucres (80 %) et d'eau (17%). Les sucres qui le constituent sont principalement le glucose (31 %) et le fructose (38%), deux monosaccharides qui proviennent de l'hydrolyse du saccharose (Bonté et Desmoulière, 2013). Le point de fusion de ces deux monosaccharides est de 146 °C et de 103 °C respectivement. Quant à eux, les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe saturée ou insaturée. Les acides gras qui constituent les huiles végétales et les graisses animales sont le plus souvent estérifiés sous forme de triglycérides (qui sont des triples esters d'acides gras et de glycérol). Pour enrichir l'alimentation des insectes en lipides, il est donc possible d'utiliser des huiles végétales, comme l'ont fait Visser et Eilers (2012). En fonction de son origine végétale, les teneurs en acide gras des huiles peuvent être variables (Table 2).

Table 2 – Composition en acides gras de quatre huiles végétales alimentaires (adapté de Orsavova *et al.*, 2015)

Pourcentage en acides gras	Tournesol	Olive	Colza	Cacahuète
AG saturés	9,4	19,4	6,3	10,7
AG monoinsaturés	28,3	68,2	72,8	71,1
AG polyinsaturés	62,4	18,0	20,9	18,2
AG 16:0	6,2	16,5	4,6	7,5
AG 16:1 (n-7)	0,12	1,8	0,21	0,07
AG 18:0	2,8	2,3	1,7	2,1
AG 18:1cis (n-9)	28,0	66,4	63,3	71,1
AG 18:2cis (n-6)	62,2	16,4	19,6	18,2
AG 18:3 (n-3)	0,16	1,6	1,2	nd ¹

¹nd signifie que le pourcentage en acide gras n'a pas été déterminé dans l'étude

Ainsi, le présent projet se propose d'évaluer l'impact d'une alimentation enrichie en lipides sur les paramètres biologiques de l'adulte *Trichogramma pretiosum* Riley, espèce largement utilisée pour la protection des cultures au Brésil. Il s'agit ici d'une étude appliquée dont l'objectif est bien d'observer l'influence d'un apport lipidique sur les paramètres biologiques du parasitoïde, principalement sur sa capacité de parasitisme, et ne prétend pas élucider les mécanismes qui pourraient être responsables pour leur altération. Pour ce faire, trois types d'expérimentations ont été réalisées.

Une première étape de ce travail a consisté à évaluer la fécondité, ou plutôt la capacité de parasitisme, mais aussi la longévité de femelles *T. pretiosum* alimentées avec du miel enrichi en huiles d'origines végétales diverses. De par leurs propriétés physico-chimiques, la méthodologie d'incorporation en lipides dans l'alimentation des adultes fait donc partie intégrante de l'étude. Une des hypothèses posées à partir de la présente synthèse bibliographique est que, bien que dépourvu de lipogenèse, les lipides seraient un facteur limitant la production d'œufs chez les hyménoptères parasitoïdes. Ainsi, un apport en ressources lipidiques, sous forme huile végétale avec un profil en acides gras similaire à celui des œufs de l'hôte alternatif, permettrait d'augmenter le nombre d'œufs parasités par les femelles. En effet, en fournissant davantage de ressources à allouer pour la fonction de reproduction, la capacité de parasitisme de *T. pretiosum* pourrait se voir accrue. Néanmoins, en raison de la relation négative qui existe entre le nombre d'œufs pondus et la longévité de parasitoïde, la longévité des femelles pourrait se voir réduite (Eilers *et al.*, 2000). Pour tenter d'y répondre, le présent projet se propose d'étudier plusieurs méthodologies d'incorporation d'huile végétale dans du miel, afin de rendre les lipides disponibles aux parasitoïdes et d'évaluer leurs conséquences sur les paramètres biologiques en lien avec l'efficacité de la lutte biologique.

Dans un second temps, afin d'évaluer la pertinence d'une utilisation en lutte biologique (lâchers inondatifs), la qualité des insectes descendants de femelles ayant consommées du miel enrichi en lipide, a également été étudiée. Les expérimentations mises en place ont permis d'étudier la viabilité, le rapport des sexes, la capacité de parasitisme, ainsi que la longévité des descendants. La proportion de mâles et femelles dans la descendant étant « choisi » par les femelles en fonction de la taille de la population initiale, aucune différence ne devrait être observée. De plus, le développement des larves dépendant principalement de la qualité nutritive de l'hôte et des conditions climatiques, aucune différence ne devrait être observé ni dans la viabilité de descendants, ni dans leur longévité, ni même dans leur capacité de parasitisme.

Enfin, dans une dernière étape, la performance de vol d'individus alimentés avec du miel enrichi en huile végétale a été évaluée. En agissant sur le métabolisme de *T. pretiosum*, une alimentation riche en lipide pourrait impacter de façon négative les performances de vol du parasitoïdes, et ainsi présenter un intérêt moindre pour une utilisation dans les programmes de lutte biologique. Ce qui n'aurait cependant aucune incidence sur son intérêt en production massale.

3. MATÉRIELS ET MÉTHODES

3.1. Suivi du parasitisme et de la longévité de femelles parasitoïdes exposées à une alimentation riche en lipide

3.1.1. Souche

La souche de *Trichogramma pretiosum* Riley utilisée dans les expérimentations qui suivent a été collectée sur une culture de soja près de Sorriso (lat. :12° 32' 42'' S ; long. : 55° 42' 39'' O), une ville située dans l'État de Mato Grosso, dans la région Centre-Ouest du Brésil. L'espèce a été identifiée par la taxonomiste Docteur Jaci Vieira, à l'aide d'un montage sous lame et lamelle, suivi d'une observation au microscope. La souche a été maintenue dans des tubes en verre (8,5 x 2,5 cm), fermés à l'aide de film étirable, en utilisant en guise d'hôte alternatif des œufs de *Ephestia kuehniella* Zeller. Les œufs de cet hôte ont été obtenus à partir de l'élevage existant au Laboratoire de Biologie des Insectes de l'Université de São Paulo, conformément à la méthodologie proposée par Parra *et al.* (1989) et adaptée par Parra *et al.* (2014). L'élevage de *E. kuehniella* a été réalisé dans des bacs en plastique (40 cm x 35 cm x 6 cm) contenant un milieu constitué de farine de blé biologique (97%) et de levures de bière (3%) (Parra, 1997).

3.1.2. Dispositif expérimental

Avant d'être offerts aux parasitoïdes, les œufs de l'hôte ont été exposés à une lampe à rayons ultraviolets (à 15 cm de distance de la source pendant 45 minutes) dans le but d'empêcher l'éclosion des chenilles provenant des œufs qui n'auraient pas été parasités. Dans ces conditions, cette étape n'altère pas les qualités de l'hôte pour le parasitisme (Stein et Parra, 1987). Afin d'offrir les œufs du lepidoptère aux femelles *T. pretiosum*, des plaquettes ont été confectionnées (Figure 1). Celles-ci sont constituées d'une bandelette en carton (0,5 cm x 4 cm), sur laquelle des œufs « inviabilisés » de *E. kuehniella* ont été saupoudrés et fixés à l'aide de ruban adhésif double face non toxique sur une surface de 0,25 cm² (0,5 cm x 0,5 cm). De cette façon, chaque plaquette contient environ 150 œufs de *E. kuehniella*.

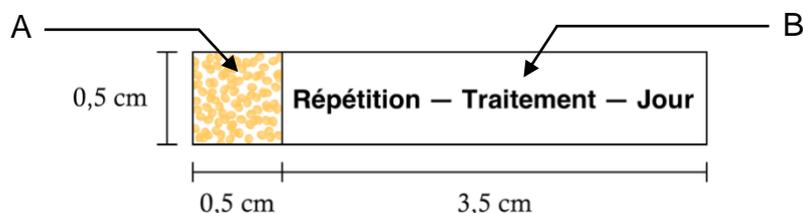


Figure 1 – Plaquette contenant les œufs de l'hôte alternatif : A) environ 150 œufs « inviabilisés » de *Ephestia kuehniella*. B) annotations des informations de la plaquette (numéro de la répétition, traitement auquel le parasitoïde a été exposé et jour auquel la plaquette a été offerte).

Après leur émergence, des femelles *T. pretiosum* ont été isolées dans des tubes en verre (1,0 cm x 7,0 cm). Préalablement, une gouttelette de miel a été déposée sur la paroi des tubes à l'aide d'une fine aiguille en guise de source d'alimentation. Après trois heures d'exposition à la ressource nutritive (gouttelette de miel), une plaquette contenant des œufs de *E. kuehniella* a été introduite dans le tube pour que les femelles puissent pondre (Figure 2). Durant toute la durée de l'expérimentation (cycle de vie de *T. pretiosum*), les femelles ont été exposées continuellement à la source nutritive et les tubes contenant les parasitoïdes ont été maintenus en chambre climatisée ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, HR $60 \pm 10\%$ et photopériode de 14h).

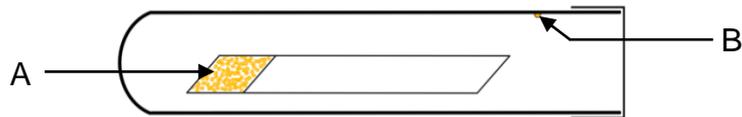


Figure 2 – Dispositif pour l'évaluation du parasitisme : A) plaquette contenant environ 150 œufs « inviabilisés » d'*Ephestia kuehniella*. B) goutte de miel pour l'alimentation du parasitoïde.

Les plaquettes ont été remplacées quotidiennement, toutes les 24 heures, jusqu'au troisième jour après l'émergence des femelles. Après avoir été libérés en plein champ, un faible pourcentage d'œufs est parasité au-delà de cette période (Kazmer et Luck, 1995). Les plaquettes contenant les œufs parasités ont ensuite été stockées individuellement dans des tubes en verre (1,0 cm x 7,0 cm) et maintenues en chambre climatisée ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, HR $60 \pm 10\%$ et photopériode de 14h) jusqu'à l'émergence des adultes (soit environ une dizaine de jours après la ponte).

Dans une première expérimentation (§ 3.1.3.), 25 femelles *T. pretiosum* ont été isolées individuellement par traitement et exposées à du miel enrichi avec différentes huiles végétales. Celle-ci a permis de définir un nombre de répétitions optimal fixé à 40 par traitement pour les expérimentations qui ont suivi (§ 3.1.4. à 3.1.7.). Cette valeur arbitraire représente un nombre de répétitions pour une précision « idéale » (comprise entre 5 et 10 %), réalisable en une journée de travail. Afin d'enrichir l'alimentation en lipides du parasitoïde, des huiles végétales dont le profil en acides gras est similaire à celui des œufs de *E. kuehniella* (Table 2, § 2.3.3) ont été sélectionnées et incorporées au miel. Distribuée seule, l'huile végétale n'est pas consommée par le parasitoïde. Le présent projet se propose donc d'étudier plusieurs méthodologies d'incorporation d'huile végétale dans du miel, afin de rendre les lipides disponibles aux parasitoïdes, et d'évaluer leur impact éventuel sur le parasitisme et la longévité des femelles.

3.1.3. Incorporation des huiles végétales sans traitement thermique (à température ambiante)

Des micro-tubes de type Eppendorf d'une capacité de 1 ml ont été utilisés pour préparer l'alimentation offerte au parasitoïde. Le miel a été enrichi avec 10 % d'huile d'origines végétales différentes : T0 composé de 100 % de miel (100:0 miel:huile) (contrôle), T1 composé de 10% d'huile de colza (90:10 miel:huile), T2 composé de 10% d'huile d'olive (90:10 miel:huile) et T3 composé de 10% d'huile de tournesol (90:10 miel:huile). Le contenu du tube a ensuite été mélangé pendant deux minutes à l'aide d'une

tige en acier. Enfin, une gouttelette du mélange a été déposée sur la paroi du tube à l'aide d'une fine aiguille, avant d'y isoler une femelle comme expliqué précédemment (§ 3.1.2.).

3.1.4. Incorporation des huiles par traitement thermique

Le miel a été enrichi avec 10 % d'huile d'olive, dont le profil en acides gras est similaire de celui des œufs de *E. kuehniella* (Table 2, § 2.3.3). Afin de faciliter l'incorporation de l'huile végétale dans le miel, sans entraîner l'oxydation des acides gras (Esteban *et al.*, 2012) ni dégrader les qualités nutritives du miel, le micro-tube contenant le mélange a été placé au bain Marie à 70°C pendant trois minutes (Figure 3). Cette étape permet de diminuer la viscosité de l'huile, qui devient alors plus fluide et permet de mieux se mélanger avec le miel. Le contenu du tube a ensuite été mélangé pendant deux minutes à l'aide d'une tige en acier. Enfin, une gouttelette du mélange a été déposée sur la paroi du tube à l'aide d'une fine aiguille, avant d'y isoler une femelle comme expliqué précédemment (§ 3.1.2.).

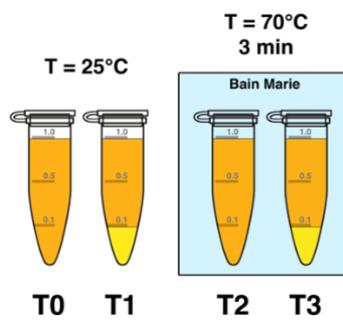


Figure 3 – Schéma représentant la préparation des différentes sources nutritives destinées à l'alimentation des femelles : T0) 100:0 miel:huile x T = 25°C ; T1) 90:10 miel:huile x T = 25°C ; T2) 100:0 miel:huile x T = 70°C ; T3) 90:10 miel:huile x T = 70°C.

3.1.5. Homogénéisation de la solution alimentaire avec un solvant organique : le diméthylsulfoxyde (DMSO)

Le diméthylsulfoxyde (DMSO) (CH₃)₂SO est un composé organosoufré qui, de par sa structure chimique, dissout les composants polaires et non polaires. En additionnant ce solvant à la solution alimentaire, il est ainsi possible d'augmenter l'homogénéité du mélange huile (triglycérides) et miel (Zou et Shen, 2007). Le miel a donc été enrichi avec 10 % d'huile d'olive, dans lequel a été ajouté 5 % de DMSO, avant d'être placé au bain Marie à 70°C pendant trois minutes (Figure 4). Le contenu du tube a ensuite été mélangé pendant deux minutes à l'aide d'une tige en acier inoxydable. Enfin, une gouttelette du mélange a été déposée sur la paroi du tube à l'aide d'une fine aiguille, avant d'y isoler une femelle comme expliqué précédemment (§ 3.1.2.).

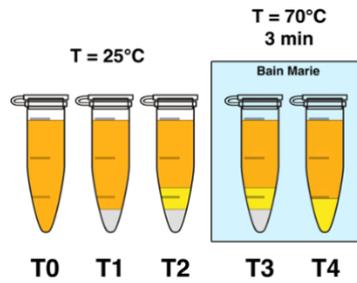


Figure 4 – Schéma représentant la préparation des différentes sources nutritives destinées à l'alimentation des femelles : T0) 100:0:0 miel:huile:DMSO x T = 25°C ; T1) 90:0:5 miel:huile:DMSO x T = 25°C ; T2) 85:10:5 miel:huile:DMSO x T = 25°C ; T3) 85:10:5 miel:huile:DMSO x T = 70°C ; T4) 90:10:0 miel:huile:DMSO x T = 70°C.

3.1.6. Influence du profil en acides gras des huiles végétales

La composition des huiles varie en fonction du végétale de provenance. L'huile d'olive par exemple contient des composés phénoliques (Tuck et Hayball, 2002) qui peuvent être toxiques pour les insectes (War *et al.*, 2012). Pour évaluer le possible impact de ces composés phénoliques sur le parasitoïde, mais aussi celui de la variabilité de leur composition en acides gras, des huiles d'origines végétales différentes ont été utilisées pour enrichir l'alimentation du trichogramme : T0 composé de 100 % de miel (100:0 miel:huile) (contrôle), T1 composé de 10% d'huile de colza (90:10 miel:huile), T2 composé de 10% d'huile d'olive biologique (90:10 miel:huile), T3 composé de 10% d'huile d'olive classique (90:10 miel:huile), T4 composé de 10% d'huile de tournesol haut oléique (90:10 miel:huile) et T5 composé de 10% d'huile de tournesol classique (90:10 miel:huile). La différence entre le tournesol oléique et le tournesol classique réside dans la composition en acides gras de l'huile. La teneur en acide oléique atteint 80 à 92 % pour les variétés oléiques, contre 15 à 25 % pour le tournesol classique (Terres Inovia, 2018). Ces huiles ont été incorporées en utilisant le traitement thermique décrit paragraphe 3.1.4.

3.1.7. Influence de la concentration en huile

Différentes concentrations en huiles végétales ont également été testées, afin d'évaluer la réponse du parasitoïde à celles-ci : T0 composé de 100 % de miel (100:0 miel:huile) (contrôle), T1 composé de 5% d'huile de tournesol haut oléique, T2 composé de 10% d'huile de tournesol haut oléique et T3, composé de 15% d'huile de tournesol haut oléique. Ces huiles ont été incorporées en utilisant le traitement thermique décrit paragraphe 3.1.4.

3.1.8. Analyses statistiques

Les données obtenues sur la capacité des femelles à parasiter les œufs de l'hôte alternatif (§ 3.1.1. à 3.1.7.) ont été analysées à l'aide de modèles linéaires généralisés (GLM) (Nelder et Wedderburn, 1972) de type quasi-Poisson. La valeur de « F » a été calculé à l'aide d'une ANOVA appliquée sur les modèles. Afin de vérifier la qualité de l'ajustement, une représentation des résidus a été réalisée à l'aide de la fonction hnp (« half normal plot ») du package portant le même nom (Moral *et al.*, 2018). Lorsque qu'une

différence significative entre les traitements a été observée, des comparaisons multiples (test de Tukey, $p < 0,05$) ont été réalisées à l'aide de la fonction `glht` (« general linear hypotheses ») du package `multcomp` (Hothorn *et al.*, 2008). Les données obtenues sur la longévité du parasitoïde ont été analysées à l'aide de l'estimateur de Kaplan-Meier (Kaplan et Meier, 1958), en utilisant le package `survival` (Therneau, 2015). Après avoir identifié des différences significatives entre les traitements, le test du log-rank a été utilisé afin de comparer les moyennes des traitements deux à deux (Matthews et Fareweel, 2007). L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel R version 3.5.1. (R Development Core Team, 2018).

3.2. Évaluation de la qualité de la descendance (génération F1)

3.2.1. Génération F1

Les expérimentations qui suivent portent sur la qualité des œufs parasités par les femelles alimentées avec du miel contenant 10 % d'huile de tournesol haut oléique (§ 3.1.7.), et des adultes qui en ont émergé.

3.2.2. Dispositif expérimental

La viabilité des œufs parasités les trois premiers jours par les femelles alimentées avec du miel enrichi avec 10% d'huile de tournesol haut oléique (§ 3.1.7.), ainsi que le rapport des sexes des descendants a été évalué.

La viabilité des œufs parasités a été déterminé à l'aide de la formule suivante :

$$\frac{\text{nombre d'œufs présentant un orifice d'émergence}}{\text{nombre d'œufs parasités}}$$

Le rapport des sexes a été déterminé au moyen de la formule suivante :

$$\frac{\text{nombre de femelles}}{\text{nombre de femelles} + \text{nombre de mâles}}$$

La capacité de parasitisme et la longévité des descendants ont également été évaluées. Pour cela, les plaquettes contenant les œufs parasités le deuxième jour par les femelles alimentées avec du miel enrichi avec 10 % d'huile (3.1.7.) ont été stockées individuellement dans des tubes en verre (1,0 cm x 7,0 cm). Ces tubes ont été maintenus en chambre climatisée ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, HR $60 \pm 10 \%$ et photopériode de 14h) jusqu'à l'émergence des adultes (soit environ une dizaine de jours après la ponte). Après leur émergence, 40 femelles provenant de 20 tubes (soit deux femelles par tube) ont à leur tour été isolées individuellement et ont été alimentées avec miel pur (100:0 miel:huile). Afin d'évaluer leur parasitisme, une plaquette contenant près de 600 œufs de *E. kuehniella* a été introduite dans chaque tube pour que les femelles puissent pondre. Après quatre jours, les plaquettes ont été retirées et stockées individuellement dans des tubes en verre (1,0 cm x 7,0 cm) et maintenues en chambre climatisée ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, HR $60 \pm 10 \%$ et photopériode de 14h) jusqu'à l'émergence des adultes.

3.2.3. Analyses statistiques

La viabilité des œufs parasités par les femelles alimentées avec du miel enrichi avec 10% d'huile de tournesol haut oléique (3.1.7.), ainsi que le rapport des sexes (« sex-ratio ») des descendants, ont été analysés de la même façon que celle décrite paragraphe 3.1.3., à l'aide de modèles linéaires généralisés (GLM) du type binomial et quasi-binomial respectivement. Les données obtenues sur la capacité des descendants *T. pretiosum* à parasiter les œufs de *E. kuehniella*, ainsi que celles sur la longévité ont été analysées de la même façon que celle décrite paragraphe 3.1.3., à l'aide de modèles linéaires généralisés (GLM) du type quasi-poisson. L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel R version 3.5.1. (R Development Core Team, 2018).

3.3. Étude de la performance de vol des parasitoïdes exposés à une alimentation riche en lipides

3.3.1. Souche

Une souche identique à celle décrite paragraphe 3.1.1. a été utilisée pour évaluer la performance de vol des parasitoïdes exposés à une alimentation enrichie en lipides.

3.3.2. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental utilisé afin d'évaluer la performance de vol des parasitoïdes est le modèle « ESALQ » adapté par Prezotti *et al.* (2002), à partir de celui proposé par Dutton et Bigler (1995) (Figure 5).

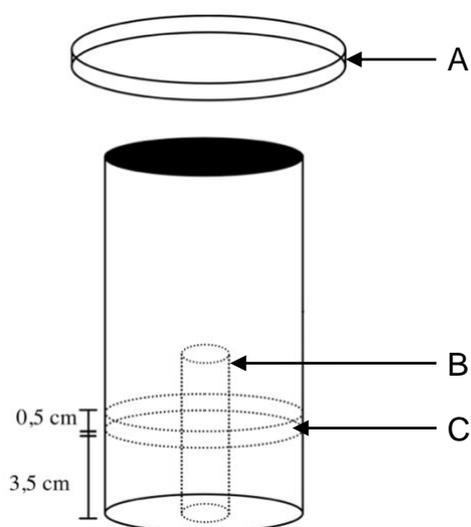


Figure 5 – Dispositif pour l'évaluation de la performance de vol, modèle « ESALQ » : A) plaque de Pétri transparente où a été déposée de la colle entomologique pour le piégeage des insectes « volants ». B) tube en verre (1,5 x 8,5 cm) contenant les insectes parasitoïdes préalablement exposés à une des deux sources d'alimentation décrites. C) anneau de colle situé à 3,5 cm de la base du cylindre de PVC afin de retenir les individus « marcheurs » (Prezotti *et al.*, 2002).

Ce dispositif est constitué d'un tube en PVC (\varnothing 18 cm x 10 cm) disposé verticalement et fermé sur la partie supérieure à l'aide d'une plaque de Pétri transparente de 12 cm de diamètre recouverte de colle entomologique afin de capturer les adultes *T. pretiosum* dits « volants ». Afin de faciliter le vol des insectes en direction de la lumière (vers la partie supérieure du dispositif), la partie interne du cylindre a été recouverte d'une feuille de papier noire. Sur cette même feuille, en guise de barrière, un anneau de colle de 0,5 cm d'épaisseur a été réalisé, à 3,5 cm de la base du tube, afin de piéger les adultes dits « marcheurs ».

Une plaquette contenant environ 300 œufs parasités a été déposée au fond d'un tube en verre de 1,5 cm de diamètre et de 8,5 cm de haut. Le tube a été fermé à l'aide d'un film en plastique sur lequel avait été déposée une goutte de miel en guise de source d'alimentation. La prise d'envol des insectes a été testée dans deux conditions : adultes exposés à du miel pur (100:0 miel:huile de tournesol haut oléique) (traitement 1) et adultes exposés à une alimentation riche en lipides (90:10 miel:huile de tournesol haut oléique) (traitement 2), à raison de 5 répétitions par traitement. Les adultes nouvellement émergés ont été exposés cette source d'alimentation pendant 24h.

Le tube contenant les parasitoïdes a ensuite été placé au centre de la base du cylindre de PVC, où ils ont été libérés pour une durée de 24h (durée d'évaluation de la performance de vol), sans ressource nutritive. Durant cette période, les unités de vol ont été placées dans une chambre où la température a été maintenue à 25 ± 2 °C et une photopériode de 24 h. Après cette période, les unités de vol ont été placées dans un congélateur (-20 °C pendant 48h), pour tuer les insectes et ainsi faciliter leur comptage. Le nombre d'insectes « marcheurs », « volants » et « non volants » a été évalué en fonction de leur position dans le dispositif, reporté en pourcentage pour l'analyse statistique des résultats.

3.3.3. Analyses statistiques

Le pourcentage d'insectes « marcheurs », « volants » et « non volants » a été analysé au moyen d'une Analyse de Variance (ANOVA). Afin de vérifier la qualité de l'ajustement, une représentation de la normalité des résidus obtenu par la fonction *hnp*. Les moyennes ont été comparées par comparaisons multiples (test de Tukey, $p < 0,05$), à l'aide de la fonction *glht* du package *multcomp*. L'ensemble des analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel R version 3.5.1. (R Development Core Team, 2018).

4. RÉSULTATS

4.1. Suivi du parasitisme et de la longévité des femelles parasitoïdes exposées à une alimentation enrichie en lipide

Au cours des expérimentations, certaines femelles sont mortes avant la fin des trois premiers jours (de mort « naturelle », insectes piégés dans la gouttelette de miel ou collés sur le ruban adhésif des plaquettes), ce qui a entraîné une diminution du nombre de répétitions. Pour cette raison, l'effectif considéré dans l'analyse pour chaque traitement est mentionné entre parenthèses dans les tableaux de résultats.

4.1.1. Incorporation des huiles végétales sans traitement thermique (à température ambiante)

Le parasitisme de *T. pretiosum* s'exprime par le nombre d'œufs qui ont été parasités, ces derniers sont caractérisés par une couleur noire. Mélangée au miel à température ambiante (25 °C), l'huile, quelle que soit son origine végétale, n'a pas influencé statistiquement le nombre d'œufs parasités par les femelles ($F(3, 89) = 0,82$; $p = 0,8457$) (Table 3).

Table 3 – Parasitisme, jusqu'au troisième jour, de *Trichogramma pretiosum* Riley, alimenté continuellement avec du miel enrichi avec 10 % de différentes sources lipidiques.

Traitements		Nombre d'œufs parasités \pm ES ¹ (N) ²
100:0 miel:huile (contrôle)	(T0)	42,8 \pm 1,6 a (24)
90:10 miel:huile de colza	(T1)	41,9 \pm 1,3 a (24)
90:10 miel:huile d'olive	(T2)	44,0 \pm 1,7 a (22)
90:10 miel:huile de tournesol	(T3)	42,4 \pm 2,0 a (23)

¹ Erreur standard de la moyenne, les moyennes des traitements suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$) ; ² Effectif considéré.

4.1.2. Incorporation à l'aide d'un traitement thermique

Après l'utilisation d'un traitement thermique pour incorporer l'huile dans l'alimentation du parasitoïde, une différence significative a été observée dans le nombre d'œufs parasités par les femelles entre les traitements ($F(3, 138) = 10,80$; $p = 0,0128$) (Table 4). Les insectes alimentés continuellement avec du miel enrichi avec 10 % d'huile d'olive et réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes (T3) ont parasité près de 11 % d'œufs en plus, en 72 h, que ceux alimentés avec du miel pur (T0), ainsi que ceux ayant consommé du miel pur réchauffé au bain Marie (T1). Statistiquement, le nombre d'œufs parasités par les femelles alimentées continuellement avec du miel enrichi avec 10 % d'huile d'olive incorporé à température ambiante ne diffère ni de celles qui ont consommé du miel pur (T0 et T1), ni de celles dont l'incorporation de l'huile a été réalisée par traitement thermique (T3).

Table 4 – Parasitisme, jusqu’au troisième jour, et longévité de *Trichogramma pretiosum* Riley, alimenté continuellement avec du miel enrichi avec 10 % d’huile d’olive, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes.

Traitements	Nombre d’œufs parasités ± ES ¹ (N) ²	Longévité (en jours) ± ES ¹ (N) ²
100:0 miel:huile d’olive x T = 25°C (T0)	57,5 ± 1,6 a (39)	9,0 ± 0,29 a (40)
90:10 miel:huile d’olive x T = 25°C (T1)	58,7 ± 1,6 ab (30)	5,5 ± 0,26 b (26)
100:0 miel:huile d’olive x T = 70°C (T2)	57,6 ± 1,7 a (37)	9,8 ± 0,35 a (37)
90:10 miel:huile d’olive x T = 70°C (T3)	64,1 ± 1,7 b (36)	5,9 ± 0,23 b (31)

¹ Erreur standard de la moyenne, les moyennes des traitements suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$); ² Effectif considéré.

En rapport avec la longévité de *T. pretiosum*, une différence statistique a été observée entre les traitements ($\chi^2 = 95,10$; ddl = 3, 130; $p < 0,01$). La longévité est déterminée par le nombre de jours que l’insecte a vécu. Les femelles exposées à une alimentation enrichie en lipides (T1 et T3) ont vu leur longévité se réduire de près de 40 % par rapport aux femelles exposées à une alimentation classique (T0 et T2), et ce quelle que soit la méthode d’incorporation employée (Figure 6).

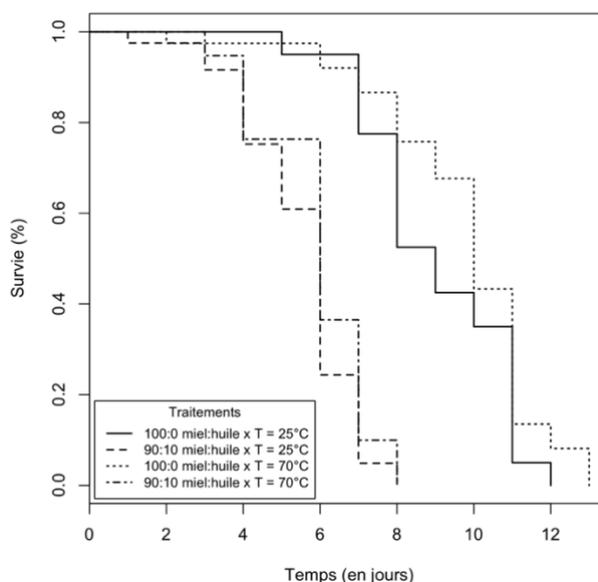


Figure 6 – Courbes de survie de Kaplan-Meier (en jours) pour *Trichogramma pretiosum* Riley, alimenté continuellement avec du miel enrichi avec 10 % d’huile d’olive, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes.

4.1.3. Homogénéisation de la solution alimentaire avec un solvant organique : le diméthylsulfoxyde (DMSO)

Le nombre d’œufs parasités par *T. pretiosum* est statistiquement différent entre les traitements ($F(3, 132) = 13,01$; $p < 0,01$). Comme pour l’expérience précédente (4.1.2.), ce sont les femelles exposées continuellement à une alimentation riche en lipides et réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes (T4) qui ont parasité un nombre d’œufs plus important (environ +13%) que celles alimentées avec du miel pur (T0). Cependant, l’utilisation de DMSO afin d’homogénéiser la solution alimentaire enrichie en

lipides, quelle que soit la température d'incorporation (T2 et T3), n'a pas influencé significativement le nombre d'œufs parasités par les femelles par rapport au témoin (T0). De plus, pour ces mêmes traitements (T2 et T3), le parasitisme des femelles ne diffère pas non plus de celles alimentées continuellement avec du miel enrichi avec 10 % d'huile d'olive et incorporé à 70 °C (T4) (Table 5).

Table 5 – Parasitisme, jusqu'au troisième jour, et longévité de *Trichogramma pretiosum* Riley, alimenté continuellement avec du miel enrichi avec 10 % d'huile d'olive, incorporé à l'aide de diméthylsulfoxyde.

Traitements	Nombre d'œufs parasités ± ES ¹ (N) ²	Longévité (en jours) ± ES ¹ (N) ²
100:0:0 miel:huile:DMSO x T = 25°C (T0)	54,9 ± 1,5 a (39)	10,8 ± 0,24 a (39)
95:0:05 miel:huile:DMSO x T = 25°C (T1)	nd ³	6,8 ± 0,23 b (36)
85:10:5 miel:huile:DMSO x T = 25°C (T2)	59,6 ± 1,5 ab (33)	7,4 ± 0,32 b (28)
85:10:5 miel:huile:DMSO x T = 70°C (T3)	59,5 ± 1,5 ab (29)	6,6 ± 0,36 b (27)
90:10:0 miel:huile:DMSO x T = 70°C (T4)	62,2 ± 1,6 b (35)	7,6 ± 0,32 b (31)

¹ Erreur standard de la moyenne, les moyennes des traitements suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$); ² Effectif considéré; ³ nd signifie que le nombre d'œufs parasités n'a pas été évalué pour ce traitement.

La longévité du parasitoïde a été affectée en fonction du traitement auquel il a été exposé ($\chi^2 = 87,80$; ddl = 4, 156; $p < 0,01$). Les femelles qui ont été alimentées avec du miel contenant uniquement le solvant organique soufré (DMSO) (T1), ont vécu moins longtemps (environ -37 %) par rapport au témoin (T0). Lorsque ce même solvant a été utilisé pour homogénéiser les solutions alimentaires enrichies en huile, quel que soit le traitement thermique appliqué (T2 et T3), les insectes exposés à ces traitements ont présenté une longévité réduite de 31 à 39 % par rapport à T0. Une réponse statistiquement similaire à ceux alimentés avec la solution alimentaire contenant le solvant (DMSO) ajouté seul au miel (T1), ainsi que ceux qui ont consommé la solution enrichie en huile, sans addition de solvant (T4) (Figure 7).

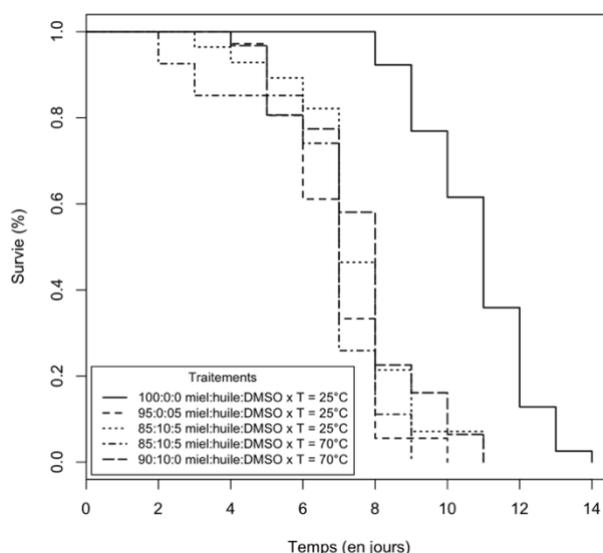


Figure 7 – Courbes de survie de Kaplan-Meier (en jours) pour *Trichogramma pretiosum* Riley, alimenté continuellement avec du miel enrichi avec 10 % d'huile d'olive, incorporé à l'aide de diméthylsulfoxyde.

4.1.4. Influence du profil en acides gras des huiles végétales

Lorsque que les huiles, provenant d'origines végétales diverses, ont été incorporées à l'aide du procédé thermique, le nombre d'œufs parasités par les femelles a été significativement différent entre les traitements ($F(5, 174) = 23,12$; $p < 0,01$). Excepté pour le traitement enrichi avec 10 % d'huile de tournesol commerciale (variété classique) (T5), le parasitisme de l'ensemble des femelles qui ont été alimenté avec du miel enrichi en huile, incorporé à 70 °C (T1, T2, T3 et T4), a été significativement plus élevé (de +14 à +18 %) que celles exposées à du miel pur (T0) (Table 6). Un résultat similaire à celui obtenu dans les expérimentations précédentes (4.1.2. et 4.1.3) avec la solution alimentaire enrichi en huile d'olive. Bien que le parasitisme des insectes ayant consommé le miel enrichi en huile de tournesol commerciale (T5) ne diffère pas du témoin (T0), il est pourtant statistiquement similaire au parasitisme des individus exposés continuellement aux autres traitements enrichis en huile (T1, T2, T3 et T4). Les conditions expérimentales étant similaire à l'expérimentation 4.1.2. et 4.1.3., la longévité des individus n'a pas été évaluée dans cette expérimentation.

Table 6 – Parasitisme, jusqu'au troisième jour, de *Trichogramma pretiosum* Riley, alimenté avec du miel enrichi avec 10 % de différentes sources lipidiques, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes.

Traitements		Nombre d'œufs parasités ± ES ¹ (N) ²
100:0 miel:huile	(T0)	57,1 ± 2,2 a (39)
90:10 miel:huile de colza	(T1)	65,1 ± 1,9 b (29)
90:10 miel:huile d'olive biologique	(T2)	67,1 ± 1,7 b (32)
90:10 miel:huile d'olive commerciale	(T3)	67,6 ± 2,2 b (26)
90:10 miel:huile de tournesol haut oléiques	(T4)	65,9 ± 1,8 b (26)
90:10 miel:huile de tournesol commerciale	(T5)	61,5 ± 1,7 ab (30)

¹ Erreur standard de la moyenne, les moyennes des traitements suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$) ; ² Effectif considéré.

4.1.5. Influence de la concentration en huile

Le parasitisme de *T. pretiosum* ayant consommé la solution alimentaire enrichie avec différentes concentrations d'huile de tournesol haut oléique est significativement différent entre les traitements ($F(3, 134) = 24,91$; $p < 0,01$) (Table 7), de même que sa longévité ($\chi^2 = 63,0$; $ddl = 3, 140$; $p < 0,01$) (Figure 8). Comme pour les résultats obtenus précédemment, ce sont les femelles alimentées continuellement avec du miel enrichi avec 10 % d'huile végétale (T2) qui ont parasité un plus grand nombre d'œufs (environ +16 %) par rapport au contrôle (T0). Cependant, le parasitisme des individus qui ont été alimentés avec la solution enrichie avec 5 % et 15 % d'huile (T1 et T3) ne diffère pas statistiquement du témoin (T0), mais est significativement plus faible que les femelles alimentées avec du miel enrichi avec 10 % d'huile végétale (T2). Enfin, la longévité de l'ensemble des parasitoïdes exposés à un traitement enrichi en huile (T1, T2 et T3) a été réduite d'environ 21% à 28%, ce quelle que soit la concentration en huile utilisée dans la solution alimentaire par rapport au témoin (T0).

Table 7 – Parasitisme, jusqu'au troisième jour, de *Trichogramma pretiosum* Riley, alimenté continuellement avec du miel enrichi avec différentes concentrations d'huile de tournesol haut oléique, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes.

Traitements	Nombre d'œufs parasités $\pm ES^1 (N)^2$	Longévité (en jours) $\pm ES^1 (N)^2$
100:0 miel:huile (T0)	48,2 \pm 1,3 a (39)	8,9 \pm 0,23 a (38)
95:05 miel:huile (T1)	46,5 \pm 1,3 ab (36)	7,0 \pm 0,21 b (37)
90:10 miel:huile (T2)	55,9 \pm 0,9 b (34)	6,5 \pm 0,20 b (35)
85:15 miel:huile (T3)	49,0 \pm 1,6 ab (35)	6,4 \pm 0,21 b (34)

¹ Erreur standard de la moyenne, les moyennes des traitements suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$) ; ² Effectif considéré.

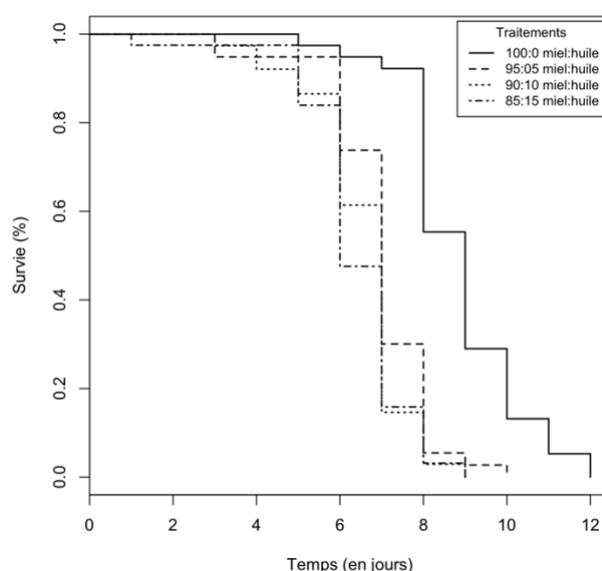


Figure 8 – Courbes de survie de Kaplan-Meier (en jours) pour *Trichogramma pretiosum* Riley, alimenté continuellement avec du miel enrichi avec différentes concentrations d'huile de tournesol haut oléique, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes.

4.2. Évaluation de la qualité de la descendance (génération F1)

4.2.1. Viabilité et rapport des sexes de la descendance

La viabilité est caractérisée par le nombre d'œufs parasités (de couleur noire) qui vont donner naissance à des adultes *T. pretiosum*, et sont donc caractérisés par un orifice d'émergence. Les œufs parasités qui ne présentent pas cet orifice sont donc considérés comme non viables. Le rapport des sexes est quant à lui déterminé par le nombre de mâles et des femelles parmi les adultes nouvellement émergés. Ni la viabilité des œufs parasités par les femelles qui ont consommé le miel enrichi avec 10 % d'huile de tournesol haut oléique (T1) ($F(1,76) = 0,03$; $p = 0,86$) (Table 8), ni le rapport des sexes des descendants émergés ($F(1,76) = 3,20$; $p = 0,07$), ne diffèrent statistiquement de ceux dont les femelles (mères) ont été alimentées avec du miel pur (T0) (Table 9).

Table 8 – Viabilité des œufs de *Trichogramma pretiosum* Riley, parasités par des femelles alimentées avec du miel enrichi avec 10 % d'huile de tournesol haut oléique, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes.

Traitements (N) ¹	Œufs avec orifice d'émergence ± ES ¹	Œufs sans orifice d'émergence ± ES ¹
F1 (100:0 miel:huile) (40)	46,3 ± 1,4 a	1,3 ± 0,2 a
F1 (90:10 miel:huile) (38)	49,7 ± 1,7 a	1,5 ± 0,4 a

¹ Effectif considéré ; ² Erreur standard de la moyenne, les moyennes des traitements suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$).

Table 9 – Rapport des sexes de *Trichogramma pretiosum* Riley, descendants (F1) de femelles alimentées avec du miel enrichi avec 10 % d'huile de tournesol haut oléique, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes.

Traitements (N) ¹	Nombre de femelles ± ES ²	Nombre de mâles ± ES ²
F1 (100:0 miel:huile) (40)	28,2 ± 1,6 a	12,9 ± 1,4 a
F1 (90:10 miel:huile) (40)	25,5 ± 1,9 a	16,2 ± 1,5 a

¹ Effectif considéré ; ² Erreur standard de la moyenne, les moyennes des traitements suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$).

4.2.2. Parasitisme et longévité de la descendance

Le parasitisme des femelles descendantes (F1) de *T. pretiosum* alimentée avec du miel enrichi avec 10 % d'huile de tournesol haut oléique, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes, a été évalué jusqu'au quatrième jour. De la même façon, ni le nombre d'œufs parasités par les descendantes (T1) ($F(1,72) = 0,54$; $p = 0,46$) (Table 10), ni leur longévité ($\chi^2 = 0,40$; $ddl = 1$; $p = 0,60$) (Figure 9) ne diffèrent statistiquement de ceux dont les femelles (mères) ont été alimentées avec du miel pur (T0).

Table 10 – Parasitisme, jusqu'au quatrième jour, et longévité de *Trichogramma pretiosum* Riley, descendants (F1) de femelles alimentées avec du miel enrichi avec 10 % d'huile de tournesol haut oléique, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes.

Traitements	Nombre d'œufs parasités $\pm ES^1(N)^2$	Longévité (en jours) $\pm ES^1(N)^2$
F1 (100:0 miel:huile)	69,6 \pm 1,7 a (35)	14,1 \pm 1,5 a (35)
F1 (90:10 miel:huile)	71,3 \pm 1,5 a (40)	15,6 \pm 1,2 a (40)

¹ Erreur standard de la moyenne, les moyennes des traitements suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$) ; ² Effectif considéré.

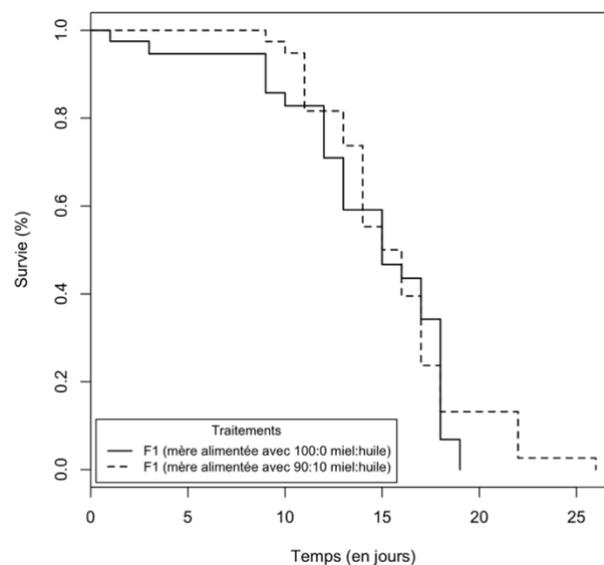


Figure 9 – Courbes de survie de Kaplan-Meier (en jours) pour *Trichogramma pretiosum* Riley, descendants (F1) de femelles alimentées avec du miel enrichi avec 10 % d'huile de tournesol haut oléique, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes.

4.3. Étude de la performance de vol des femelles exposées à une alimentions riche en lipides

Pour une utilisation en lutte biologique, la qualité des parasitoïdes peut être évaluée par leur performance de vol. Après 24 h d'exposition à la solution nutritive enrichie en huile de tournesol haut oléique, aucune différence significative de l'activité de vol n'a été observées par rapport aux individus exposés à une alimentation classique ($F(1,58) = 0,57$; $p = 0,45$) (Table 11).

Table 11 – Pourcentage de « volants », « marcheurs » et « non volants » de *Trichogramma pretiosum* Riley, alimentés avec du miel enrichi avec 10 % de tournesol haut oléique, réchauffé au bain Marie à 70 °C pendant trois minutes, modèle « ESALQ ».

Traitements	Pourcentage d'insectes capturés		
	« Volants »	« Marcheurs »	« Non volants »
100:0 miel:huile	70,8 ± 6,1 aA ¹	4,9 ± 2,0 aB	24,3 ± 5,9 aC
90:10 miel:huile	70,0 ± 7,9 aA	5,8 ± 1,2 aB	24,2 ± 8,9 aC

¹ Erreur standard de la moyenne, les moyennes des traitements suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Tukey ($p < 0,05$) : en minuscule, différent entre les lignes (traitement), en majuscule, différent entre les colonnes (classe).

5. DISCUSSION

Bien que les hyménoptères du genre *Trichogramma* fassent partie des parasitoïdes les plus étudiés à ce jour (Cònsoli *et al.*, 2010), l'évaluation de l'impact d'une alimentation enrichie en lipides sur les paramètres biologiques de l'adulte est inédite. Contrairement à Carpenter et ses collaborateurs (2001) qui avaient utilisé un milieu enrichi en lipides extraits des œufs l'hôte de *D. introita*, il a été possible de montrer qu'une source lipidique de substitution (ici des huiles végétales) augmente le parasitisme de *T. pretiosum*. En effet, les femelles qui ont été alimentées avec une solution composée de miel enrichi avec 10% d'huile végétale contenant plus de 50 % d'acides oléiques, incorporé à 70 °C, ont présenté une capacité de parasitisme supérieure à celle des femelles alimentées avec du miel pur. Comme l'ont suggéré Visser et Ellers (2012), l'apport de ressources en lipides via l'alimentation permettrait un renouvellement rapide des réserves lipidiques des femelles, qui pourraient alors investir plus rapidement dans la production d'œufs.

Cependant, l'augmentation de la capacité de parasitisme des insectes n'a pu être mise en évidence que dans certaines conditions expérimentales. Ainsi, il semblerait que la méthode d'incorporation des lipides joue un rôle primordial afin d'influencer positivement le parasitisme de l'hyménoptère microscopique. Les techniques d'incorporation méritent donc d'être étudiées. En effet, par simple mélange à température ambiante (25°C), les huiles végétales qui ont été incorporées au miel n'ont eu aucun impact significatif sur le parasitisme de l'auxiliaire. De par ses propriétés physico-chimiques, l'huile n'est pas miscible dans le miel, et va former de nombreuses gouttelettes microscopiques dispersées dans le corps sucré. Visser et Ellers s'étaient intéressées à l'alimentation de *Cotesia glomerata* L., un hyménoptère parasitoïde qui mesure entre 3 et 7 mm (Laing et Levin, 1982). Inspiré du même protocole, il est donc possible de penser qu'en raison de sa petite taille (< 0,5 mm) le trichogramme parviendrait à ne s'alimenter que du miel, en « évitant » les gouttelettes d'huile. Néanmoins, la réduction significative de la longévité (-40 %) des femelles alimentées avec du miel contenant 10 % d'huile d'olive, incorporé à 25 °C (§ 4.1.2.) suggère que celles-ci ont bien consommé l'huile végétale.

Si le trichogramme a bien eu accès aux lipides lorsque qu'ils ont été incorporés à température ambiante (25 °C), il est alors difficile d'expliquer pourquoi le parasitisme n'a pas été affecté positivement. En effet, le traitement thermique utilisé dans les différentes expérimentations n'a eu pour objectif que de faciliter l'incorporation de l'huile dans le miel (en diminuant sa viscosité), sans conduire à la dénaturation des lipides, ni à celle des sucres. Par ailleurs, aucune différence significative n'a été observée dans le parasitisme, ni dans la longévité des femelles alimentées avec du miel pur par rapport à celles nourries avec du miel réchauffé au bain Marie à 70 °C. Le procédé thermique utilisé n'a donc pas dégradé les qualités nutritives du miel, comme cela l'avait été suggéré. De plus, étant donné que les protéines et les acides aminés sont présents en très faible quantité dans le miel (0,26 %) (Bonté et Desmoulière, 2013), la formation de composés nouveaux suite à l'interaction de sucres réducteurs et d'acides aminés (Maillard, 1912) est donc négligeable.

Contrairement aux informations trouvées dans la littérature (Ellers, 1996), l'apport en lipides n'a pas permis d'étendre la longévité du parasitoïde. Au contraire, comme l'ont montré Visser et Ellers (2012) pour *C. glomerata*, la longévité de *T. pretiosum* alimenté continuellement avec une alimentation enrichie en lipides a été négativement impacté de près de 40 %, et ce quelle que soit la méthode d'incorporation des lipides. Ceci suggère qu'une alimentation riche en lipides consommée quotidiennement serait toxique pour cet hyménoptère. Ainsi, il pourrait être intéressant d'observer la réponse biologique de parasitoïdes nourris avec du miel enrichi en lipides sur une plus courte période (< 24h), afin d'observer s'il est possible d'augmenter le parasitisme sans que cela soit néfaste pour sa longévité.

Dans un autre temps, il convient de mentionner que les expérimentations réalisées dans cette étude ne permettent pas de discerner précisément la part de responsabilité des facteurs susceptibles d'affecter négativement la longévité du parasitoïde. En effet, il a été observé que l'incorporation d'huile augmente la fluidité de la solution nutritive par rapport au miel pur. Les insectes ont donc plus de chance de mourir piégés dans la gouttelette déposée sur la paroi du tube. Ainsi, pour les traitements enrichis en lipides, un plus grand nombre de répétitions a été perdu. De plus, il a été observé que les insectes qui sont parvenus à consommer le miel enrichi sans s'y être laissé piéger, se sont, pour certains, retrouvé recouvert de miel, ce qui a pu entraîner une mort prématurée.

Les résultats obtenus ont également permis de mettre en évidence que les huiles qui contiennent une meilleure proportion d'acides oléiques seraient une bonne source lipidique de substitution afin d'améliorer le parasitisme de *T. pretiosum* (§ 4.1.4.). En effet, enrichir l'alimentation des femelles avec de l'huile de tournesol provenant de variétés classiques (28% d'acides oléiques) n'a eu aucun impact significatif sur le parasitisme. Au contraire, l'utilisation d'huile de tournesol provenant de variétés oléiques (80 à 92 % d'acides oléiques) a conduit à une augmentation significative des œufs parasités par les femelles de 15 % en 72 h. Des résultats similaires ont été obtenu lorsque le miel a été enrichi en huile d'olive et de colza (66% et 63% d'acides oléiques respectivement). Les insectes appartenant à l'ordre Hymenoptera présente en moyenne 45,8 % d'acides oléiques (Thompson, 1973). L'utilisation d'une source lipidique riche en cet acide gras semble donc importante afin de renouveler les réserves des femelles. L'hypothèse de l'utilisation d'une source lipidique dont le profil en acide gras est similaire au contenu de l'œuf de l'hôte alternatif *E. kuehniella* (50 % d'acides oléiques) (Coelho Jr. et Deschamps, [données non publiées]) serait donc confirmée. Une application en production massale pourrait théoriquement permettre de produire plus de diffuseurs à partir d'un même inoculum. Généralement, les œufs de l'hôte sont offerts aux parasitoïdes pendant trois à quatre jours (Embrapa, 2013). Sur une telle période, l'impact sur la longévité des femelles ne serait donc pas un problème.

L'utilisation de diméthylsulfoxyde dans le but d'homogénéiser la solution alimentaire et de rendre les lipides accessibles au trichogramme n'a pas obtenu les résultats souhaités. En effet, en ajoutant 5 % de DMSO dans le miel enrichi avec 10 % d'huile d'olive, aucun impact significatif sur la capacité de parasitisme n'a été observé, et ce, même après avoir été chauffé au bain Marie à 70 °C. De plus, la longévité des femelles alimentées avec la solution contenant du miel et 5 % de DMSO (sans huile) a été réduite de près de 37 %, soit une réponse similaire de celles alimentés avec du miel enrichi en huile. Ce résultat suggère que le solvant organique soufré serait toxique pour le parasitoïde. Le DMSO (CH₃)₂SO contient un atome de soufre. Or, en agriculture biologique, le soufre est utilisé pour lutter contre certains insectes et arthropodes tels que les acariens, punaises et

fourmis. Ici, l'utilisation de solvant organique n'est donc pas satisfaisante. Afin d'enrichir l'alimentation en lipides du parasitoïde, il pourrait être préférable d'utiliser d'autres agents chimiques tels que des émulsifiants, ou bien d'avoir recours à des procédés physiques.

Les résultats obtenus sur l'alimentation des femelles avec différentes concentrations en huile sont difficiles à interpréter. Seules les femelles alimentées avec du miel contenant 10 % d'huile de tournesol haut oléique ont parasité significativement plus d'œufs (+15 % environ). Les résultats suggèrent qu'il existe une quantité en lipides idéale à apporter pour que celle-ci soit bénéfique au parasitisme de *T. pretiosum*. Néanmoins, quelle que soit la concentration d'huile utilisée (5, 10 et 15 %), la longévité du parasitoïde a été réduite de façon similaire (- 25 % en moyenne). Une alimentation riche serait donc toxique pour le trichogramme et ce à partir d'une faible concentration en lipides.

Comme cela avait été suggéré, lorsqu'une augmentation du parasitisme a été observée, l'alimentation enrichie en lipides n'a eu aucun impact sur la qualité des œufs parasités, ni sur celle des adultes qui en ont émergé. En effet, la viabilité des œufs parasités dépend principalement de la qualité nutritive de l'hôte et des conditions climatiques. Quant au rapport des sexes, il est également influencé par la qualité nutritive de l'hôte, mais aussi par le nombre de femelles compétitrices dans le milieu. De même, aucune différence dans le parasitisme ni dans la longévité des descendants n'a été observé. Ceci renforce l'intérêt d'une alimentation enrichie en lipides pour l'élevage de *T. pretiosum*.

Finalement, après avoir été exposé à une alimentation riche en lipides, aucun impact sur la performance de vol des insectes n'a été remarqué. Ceci suggère qu'une application en lutte biologique serait possible, même si celle-ci semble difficile à réaliser. En effet, de nos jours, les diffuseurs commercialisés sont dépourvus de miel pour la nutrition des parasitoïdes (Embrapa, 2013). Néanmoins, la conception de nouveaux diffuseurs intégrant une source d'alimentation enrichie en lipides, pourrait théoriquement permettre d'augmenter la capacité de parasitisme des adultes nouvellement émergés, et ainsi améliorer le contrôle des ravageurs. Le coût de conception de tels diffuseurs doit être étudié afin de savoir si cette solution est économiquement viable.

Cette étude a donc mis évidence l'intérêt d'incorporer des lipides dans l'alimentation de l'auxiliaire du genre *Trichogramma*. Cependant, des expériences supplémentaires sont nécessaires pour élucider les mécanismes responsables pour une augmentation du parasitisme. Le suivi d'acides gras purifiés marqués (Mathieu *et al.*, 1982), en particulier celui des acides oléiques, pourrait être réalisé afin de connaître la part de ceux qui sont réellement responsables pour une augmentation du parasitisme. De plus, une étude serait intéressante afin d'observer à une alimentation enrichie en lipides affecte certaines étapes du parasitisme, telles que le nourrissage sur l'hôte. Enfin, les expériences pourraient être répétées en utilisant d'autres souches et d'autres espèces afin de savoir les résultats peuvent être généralisés à l'ensemble du genre *Trichogramma*.

6. CONCLUSION

Cette étude, de par son caractère appliqué, ne permet pas d'élucider les mécanismes responsables pour l'augmentation du parasitisme chez les parasitoïdes du genre *Trichogramma* exposé à une alimentation enrichie en lipides. Cependant, les résultats ont permis de mettre en évidence l'intérêt de la nutrition en lipides chez ces insectes, souvent sous-estimé jusqu'à présent (Cohen, 2015). En effet, la réussite des programmes de lutte biologique passe d'abord par la production d'une quantité suffisante d'insectes, qui sera ensuite libérée sur les cultures à protéger. Même si l'élevage de trichogrammes est aujourd'hui maîtrisée et qu'ils sont utilisés dans des programmes de lutte biologique partout à travers le monde (Lenteren, 2003), enrichir l'alimentation de cet auxiliaire pourrait présenter un réel intérêt économique en production massale. En effet, en incorporant de l'huile végétale dans le miel offert aux parasitoïdes, les entreprises qui produisent l'auxiliaire pourrait théoriquement produire un plus grand nombre de diffuseurs à partir d'un même inoculum. Pour ce faire, les méthodologies d'incorporation de la source lipidique doivent être optimisées. Par ailleurs, une étude approfondie des acides gras responsables pour l'augmentation du parasitisme mérite d'être réalisée. Enfin, dans une moindre mesure, enrichir l'alimentation de l'auxiliaire pourrait avoir une application en lutte biologique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Articles et ouvrages

- ALTARATZ, M., APPLEBAUM, S. W., RICHARD, D. S., GILBERT, L. I. et SEGAL, D., 1991. Regulation of juvenile hormone synthesis in wild-type and apterous mutant *Drosophila*. *Molecular and Cellular Endocrinology*, Vol. 81, n° 1-3, p. 205-216.
- ASKEW, R. R. et SHAW, M. R., 1986. Parasitoid communities: their size, structure and development. p. 225-264 in : *Insect parasitoids*. WAAGE, J. K. et GREATHEAD, D., Academic Press, London.
- BEENAKKERS, A.M.T., VAN DER HORST, D.J. et VAN MARREWIKJ, W.J.A., 1985. Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. *Progress in Lipid Research*, Vol. 24, n° 1, p. 19-67.
- BOIVIN, G. 1994. Overwintering strategies of egg parasitoids. p. 219-244 in : *Biological Control with Egg Parasitoids*. WAJNBERG, E. et HASSAN, S. A., Wallingford, U.K.
- BONTÉ, F. et DESMOULIÈRE, A., 2013. Le miel : origine et composition. *Actualités Pharmaceutiques*, Vol. 52, n° 531, p. 18-21.
- BOTELHO, P. M., 1997. Eficiência de *Trichogramma* em campo. *Trichogramma e o controle biológico aplicado*, p. 303-318.
- CARPENTER, J., FERKOVICH, S. M. et GREANY, P. D., 2001. Fecundity and longevity of *Diapetimorpha introita* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae) reared on artificial diets: effects of a lipid extract from host pupae and culture media conditioned with an insect cell line. *Florida Entomologist*, Vol. 84.
- CARTON, Y. et NAPPI, A. J., 1997. *Drosophila* cellular immunity against parasitoids. *Parasitology Today*, Vol. 13, p. 218-227.
- CASAS, J., PINCEBOURDE, S., MANDON, N., VANNIER, F., POUJOL, R. et GIRON, D., 2005. Lifetime nutrient dynamics reveal simultaneous capital and income breeding in parasitoid. *Ecology*, Vol. 86, n° 3, p. 545-554.
- CHOMIENNE, J. -P, DUTARTRE, S., LARGUIER, M., PINÇONNET, D. et TESSIER, R., 2017. Les produits de biocontrôle pour la protection des cultures. Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt/CGAAER, Rapport n° 16055.
- COHEN, A. C., 2015. *Insect diets: science and technology*. 2e édition, CRC Press, Taylor & Francis Group, 439 pp.
- CÔNSOLI, F. L., PARRA, J. R. P. et ZUCCHI, R. A., 2010. *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*. Springer Netherlands, Progress in Biological Control, 479 pp. ISBN 978-1-4020-9109-4.
- DUTTON, A. et BIGLER, F., 1995. Flight activity assessment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. *Entomophaga*, Paris, Vol. 40, n° 2, p. 223-233.
- ELLERS, J., 1996. Fat and eggs: an alternative method to measure the trade-off between survival and reproduction in insect parasitoids. *Netherlands Journal of Zoology*, Vol. 46, n° 3, p. 227-235.
- ELLERS, J., SEVENSTER, J. G. et DRIESSEN, G., 2000. Egg load evolution in parasitoids. *The American Naturalist*, Vol. 156, n° 6, p. 650-665.
- EMBRAPA, 2013. Technologie de production de *Trichogramma* spp. pour la lutte biologique contre les lépidoptères-ravageurs. *Embrapa*, 85 pp.
- ESTEBAN, B., RIBA, J. -R., BAQUERO, G., RIUS, A. et PUIG, R., 2012. Temperature dependence of density and viscosity of vegetable oils. *Biomass and Bioenergy*, Vol. 42, p. 164-171.
- FIGUEIREDO, M. de L. C., CRUZ, I., SILVA, R. B. et FOSTER, J. E., 2015. Biological control with *Trichogramma pretiosum* increases organic maize productivity by 19.4%. *Agronomy for Sustainable Development*, Vol. 35, n° 3, p. 1175-1183.
- FLANDERS, S. E., 1927. Biological control of the codling moth (*Carpocapsa pomonella*). *Journal of Economic Entomology*, Vol. 20, p. 644

- GIRON, D. et CASAS, J., 2003. Lipogenesis in an adult parasitic wasp. *Journal of Insect Physiology*, Vol. 49, n° 2, p. 141-147.
- GIRON, D., RIVERO, A., MANDON, N., DARROUZET, E. et CASAS, J., 2002. The physiology of host feeding in parasitic wasps: Implications for survival. *Functional Ecology*, Vol. 16, p. 750-757.
- GIRON, D., PINCEBOURDE, S. et CASAS, J., 2004. Lifetime gains of host-feeding in a synovigenic parasitic wasp. *Physiological Entomology*, Vol. 29, n° 5, p. 436-442.
- GRIFFON, M., 2002. Révolution Verte, Révolution Doublement Verte Quelles technologies, institutions et recherche pour les agricultures de l'avenir ? *Mondes en développement*, Vol. 117, n° 1, p. 39-44.
- HAJI, F. N. P., FREIRE, L. C. L., ROA, F. G., SILVA, C. N. da, SOUZA JR., M. M., SILVA, M. I. V. da., 1995. Manejo integrado de *Scrobipalpus absoluta* (Povolny) (Lepidoptera: Gelechiidae) no Submédio São Francisco. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Londrina, Vol. 24, n°3, p. 587-591.
- HARVEY, J. A., CLOUTIER, J., VISSER, B., ELLERS, J., WÄCKERS, F. L. et GOLS, R., 2012. The effect of different dietary sugars and honey on longevity and fecundity in two hyperparasitoid wasps. *Journal of Insect Physiology*, Vol. 58, p. 816-823.
- HARVEY, J. A., ESSENS, T. A., LAS, R. A., VAN VEEN, C., VISSER, B., ELLERS, J., HEINEN, R. et GOLS, R., 2017. Honey and honey-based sugars partially affect reproductive trade-offs in parasitoids exhibiting different life-history and reproductive strategies. *Journal of Insect Physiology*, Vol. 98, 134-140.
- HASSAN, S. A., 1989. Selection of suitable *Trichogramma* strains to control the codling moth *Cydia pomonella* and the two summer fruit tortrix moths *Adoxophyes orana*, *Pandemis heparana* (Lep.: Tortricidae). *Entomophaga*, Vol. 34, 19-27.
- HOTHORN, T., BRETZ, F. et WESTFALL, P., 2008. Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal*, Vol. 50, n° 3, 346-363.
- JERVIS, M. A. et KIDD, N. A. C., 1986. Host- feeding strategies in hymenopteran parasitoids. *Biological Review*, Vol. 61, p. 395- 434.
- JERVIS, M. A., KIDD, N. A. C., FITTON, M. G., HUDDLESTON, T. et DAWAH, H. A., 1993. Flower-visiting by hymenopteran parasitoids. *Journal of Natural History*, Vol. 27, p. 67-105.
- JERVIS, M. A., HEIMPEL, G. E., FERNS, P. N., HARVEY, J. A. et KIDD, N. A. C., 2001. Life-history strategies in parasitoid wasps: A comparative analysis of « ovigeny ». *Journal of Animal Ecology*, Vol. 70, p. 442-458.
- JERVIS, M. A. et FERNS, P. N., 2004. The timing of egg maturation in insects: Ovigeny index and initial egg load as measures of fitness and of resource allocation. *Oikos*, Vol. 107, p. 449-461.
- JERVIS, M. A., ELLERS, J. et HARVEY, J. A., 2008. Resource acquisition, allocation, and utilization in parasitoid reproductive strategies. *Annual Review of Entomology*, Vol. 53, p. 361-385.
- KAPLAN, E. L. et MEIER, P., 1958. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association*, Vol. 53, n° 282, p. 457.
- KAZMER, D. J. et LUCK, R. F., 1995. Field tests of the size-fitness hypothesis in the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. *Ecology*, Vol. 76, n° 2, p. 412-425.
- KING, B. H., 1993. Sex ratio manipulation by parasitoid wasp. p 418-441 in : Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites. WRENSCH, D.A. et EBBERT, M.A., Chapman & Hall, New York & London.
- LAING, J. E. et LEVIN, D. B., 1982. A review of the biology and a bibliography of *Apanteles glomeratus* (L.) (Hymenoptera: Braconidae). *Biocontrol News and Information*, Vol. 3, n° 1, p. 7-23.
- LENTEREN, J. C. van. et TOMMASINI, M. G., 1999. Mass production, storage, shipment and quality control of natural enemies. *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*, p. 276-294.
- LENTEREN, J. C. van., 2003. Need for quality control of mass produced biological control agentes. *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*. Wallingford: CABI, 327 pp.
- LENTEREN, J. C. van., 2008. Current situation of biological control (including region/country reviews). *IOBC Internet Book of Biological Control*, Wageningen, Chap. 5, p. 41-51.
- LENTEREN, J. C. van., 2012. Quality control of natural enemies. *IOBC Internet Book of Biological Control*, Version 6, Chap. 12, p. 93-102. [Disponible en ligne] : http://www.iobc-global.org/download/IOBC_InternetBookBiCoVersion6Spring2012.pdf

- LESSARD, E. et BOIVIN, G., 2013. Effect of low temperature on emergence, fecundity, longevity and host-feeding by *Trichogramma brassicae*. *BioControl*, Vol. 58, n° 3, p. 319-329.
- LEWIS, W. J., NORDLUND, D. A., GROSS JR, H. R., PERKINS, W. D., KNIPLING, E. F. et VOEGELE, J., 1976. Production and performance of *Trichogramma* reared on Eggs of *Heliothis zea* and other hosts. *Environmental Entomology*, Vol. 5, n° 3, p. 449-452.
- MAILLARD, L.C., 1912. Action des acides aminés sur les sucres : formation des mélanoidines par voie méthodique. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences*, Vol. 154, p. 66-68.
- MARTINS, R. P. et BARBEITOS, M. S., 2000. Adaptações de insetos e mudanças no ambiente: Ecologia e evolução da diapausa. *Ecologia e comportamento de insetos. Série Oecologia Brasiliensis*, Vol. 8, p. 149-192.
- MATHIEU, J. P., BUSQUET, G., COMET, M., RICHE, F., VIDAL, M., COORNAERT, S., BARDY, A. et GODART, J., 1981. Marquage d'acides gras en position omega par les isotopes de l'iode. *Journal de Biophysique et de Medecine Nucléaire*, Vol. 6, p. 233-237.
- MATTHEWS, D.E. et FAREWELL, V.T., 2007. The Log-Rank or Mantel-Haenszel Test for the Comparison of Survival Curves. *Using and Understanding Medical Statistics*, p. 67-75.
- MONDY, N., CORIO-COSTET, M. -F., BODIN, A., MANDON, N., VANNIER, F. et MONGE, J. -P., 2006. Importance of sterols acquired through host feeding in synovigenic parasitoid oogenesis. *Journal of Insect Physiology*, Vol. 52, n° 9, p. 897-904.
- MORAL, R.A., HINDE, J. et DEMÉTRIO, C.G.B., 2018. Half-Normal Plots with Simulation Envelopes. R package, Version 1.2-6. <https://CRAN.R-project.org/package=hnp>.
- NELDER, J.A. et WEDDERBURN, R.W.M., 1972. Generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society*, Vol. 135, n° 3, p. 370-384.
- ORSAVOVA, J., MISURCOVA, L., AMBROZOVA, J., VICHA, R. et MLCEK, J., 2015. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 16, n° 12, p. 12871-12890.
- PARRA, J.R.P., SERRA, H. J. P., LOPES, J. R. S. et SALES JR, O., 1989. Metodologia de criação de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) para produção massal de *Trichogramma* spp. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, Vol. 18, n° 2, p. 403-415.
- PARRA, J. R. P., 1997. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. *Trichogramma e o controle biológico aplicado*, p. 121-150 in : *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. PARRA, J. R. P. et ZUCCHI, R. A., Fealq, Piracicaba, SP.
- PARRA, J. R. P., BOTELHO, P. S. M. et PINTO, A. D. S., 2010. Controle Biológico de pragas como um componente-chave para a produção sustentável da cana-de-açúcar. *Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade*, p. 441-450.
- PARRA, J. R. P., COELHO JR, A., GEREMIAS, L. D., BERTIN, A. et RAMOS, C. J., 2014. Criação de *Anagasta kuehniella* em pequena escala, para produção de *Trichogramma*. *Occasio*, 32 pp.
- PARRA, J. R. P., 2014. Biological Control in Brazil: an overview. *Scientia Agricola*, Vol. 71, n° 5, p. 420-429.
- PARRA, J. R. P., ZUCCHI, R. A., COELHO JR, A., GEREMIAS, L. D. et CÔNSOLI, F. L., 2015. *Trichogramma* as a tool for IPM in Brazil. *Augmentative Biological Control using Trichogramma spp.: Current Status and Perspectives*, p. 472-496.
- PENNACCHIO, F. et STRAND, M. R., 2006. Evolution of developmental strategies in parasitic hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, Vol. 51, p. 233-258.
- PINTO, J. D., 1997. Taxonomia de Trichogrammatidae (Hymenoptera) com ênfase nos gêneros que parasitam Lepidoptera. p. 13-39 in : *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. PARRA, J. R. P. et ZUCCHI, R. A., Piracicaba, SP : Fealq.
- PINTO, J. D., 1999. Systematics of the North American species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Entomological Society of Washington*, 287 pp.
- POPP, J., PETŐ, K. et NAGY, J., 2013. Pesticide productivity and food security. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, Vol. 33, n° 1, p. 243-255.
- PREZOTTI, L., PARRA, J. R. P., VENCOSKY, R., DIAS, C. T. dos S., CRUZ, I. et CHAGAS, M. C. M., 2002. Teste de Vôo como Critério de Avaliação da Qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley

- (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Adaptação de Metodologia. *Neotropical Entomology*, Vol. 31, n° 3, p. 411-417.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2018. R: a language and environment for statistical computing. Version 3.5.1. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria.
- ROSSI, M. M., 1997. As interrupções do desenvolvimento de *Trichogramma*. p. 151-172 in : *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. PARRA, J. R. P. et ZUCCHI, R. A., Piracicaba, SP : Fealq.
- SINGH, P. et MOORE, R. F., 1985. Handbook of insect rearing, Vol. 2. Elsevier, Amsterdam, 514 pp.
- SONNTAG, N. O. V., 1979. Structure and composition of fats and oils. p. 1-98 in : *Bailey's industrial oil and fat products*, Vol. 1. SWERN D., 4e edition, Wiley-Interscience, New-York.
- STANLEY, D., 2006. Prostaglandins and other eicosanoids in insects: biological significance. *Annual Review of Entomology*, Vol. 51, p. 25-44.
- STEIN, C. P. et PARRA, J. R. P., 1987. Uso da radiação ultravioleta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma* spp. *Anais da Sociedade Entomologica do Brasil*, Vol. 16, n° 1, p. 229-233.
- SWEETMAN, H. L., 1958. The Principles Biological Control. Brown, Dubuque, 560 pp.
- THERNEAU, T., 2018. A Package for Survival Analysis in S. R package, Version 2.42-6. <https://CRAN.R-project.org/package=survival>.
- THOMPSON, S.N., 1973. A review and comparative characterization of the fatty acid compositions of seven insect orders. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, Vol. 45, n° 2, p. 467-482.
- TUCK, K. L. et HAYBALL, P. J., 2002. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Vol. 13, n° 11, p. 636-644.
- UNION DES INDUSTRIES DE LA PROTECTION DES PLANTES, 2017. Repères 2017-2018. Rapport d'activités.
- VISSER, B. et ELLERS, J., 2008. Lack of lipogenesis in parasitoids: a review of physiological mechanisms and evolutionary implications. *Journal of Insect Physiology*, Vol. 54, n° 9, p. 1315-1322.
- VISSER, B. et ELLERS, J., 2012. Effects of a lipid-rich diet on adult parasitoid income resources and survival. *Biological Control*, Vol. 60, n° 2, p. 119-122.
- VISSER, B., LE LANN, C., DEN BLANKEN, F.J., HARVEY, J.A., VAN ALPHEN, J.J.M. et ELLERS, J., 2010. Loss of lipid synthesis as an evolutionary consequence of a parasitic lifestyle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 107, n° 19, p. 8677-8682.
- VOEGELÉ, J., STENGEL, M., SCHUBERT, G., DAUMAL, J. et PIZZOL, J., 1975. Les trichogrammes. V(a) : premiers résultats sur l'introduction en Alsace sous forme de lâchers saisonniers de l'écotype moldave de *Trichogramma evanescens* Westw. contre la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis* Hübn. *Annales de Zoologie Ecologie Animale*, Vol. 7, p. 535-551.
- WAR, A. R., PAULRAJ, M. G., AHMAD, T., BUHROO, A. A., HUSSAIN, B., IGNACIMUTHU, S. et SHARMA, H. C., 2012. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant Signaling & Behavior*, Vol. 7, n° 10, p. 1306-1320.
- ZOU, C. et SHEN, Z., 2007. One-step intracellular triglycerides extraction and quantitative measurement in vitro. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, Vol. 56, n° 1, p. 63-66.

Sitographie

- EMBRAPA, 2017. [En ligne] Disponible à l'adresse : <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/30972444/lavouras-sao-apenas-76-do-brasil-segundo-a-nasa> [consulté le 10/08/2018].
- TERRES INOVIA, 2018. [En ligne] Disponible à l'adresse : <http://www.terresinovia.fr/tournesol/cultiver-du-tournesol/varietes/tournesol-oleique/> [consulté le 12/07/2018].

RÉSUMÉ

Impact d'une alimentation enrichie en lipides sur les paramètres biologiques de l'adulte du genre *Trichogramma*

L'utilisation de lipides dans l'élevage des insectes a pendant longtemps été sous-estimée. Pourtant, certains sont incapables de synthétiser des lipides *de novo* : c'est le cas d'une grande partie des hyménoptères parasitoïdes. L'acquisition de lipides via les piqûres nutritionnelles stimule l'ovogenèse. Cependant, le capital investit durant la ponte conduit à un épuisement des réserves en lipides plus rapide qu'à celles de leur renouvellement au travers du nourrissage sur l'hôte. En apportant des lipides via l'alimentation, il serait théoriquement possible de stimuler la production d'œufs et ainsi la capacité de parasitisme de ces insectes. Les femelles *Trichogramma pretiosum* alimentées continuellement avec du miel enrichi avec 10% d'huiles végétales, dont le profil en acides gras est similaire à celui l'hôte *Ephesia kuehniella*, incorporées à 70 °C, ont parasité plus de 10 % d'œufs en plus, en 72 h, que celles alimentées avec du miel pur. Cependant, la longévité du parasitoïde a été réduite de près de 40 %. Ni la performance de vol des insectes exposés à une alimentation enrichie en lipides, ni la qualité de leurs descendants n'ont été impactées. Cet auxiliaire est aujourd'hui largement utilisé dans les programmes de lutte biologique à travers le monde. Apporter des lipides dans son alimentation pourrait présenter un réel intérêt économique en élevage massale.

Mots-clés : lutte biologique, élevage d'insectes, nutrition, lipides, *Trichogramma*, ovogenèse.

ABSTRACT

Effects of a lipid-rich diet on biological parameters of the adult of the genus *Trichogramma*

The use of lipids in insect rearing has been underestimated. Nevertheless, some insects are unable to synthesize lipids *de novo*: it is true for a large number of Hymenoptera parasitoids. Lipid reserves are essentials by fueling both ovigenesis and somatic functions. By host-feeding, females are able to use their host to obtain essential nutrients, including lipids which can be allocated for reproduction. However, the reproductive host-feeding gain is limited by the small quantity of lipids obtain by female during host-feeding. By supplementing parasitoid diet with lipids, it will theoretically possible to stimulate the production of eggs by females, thus their capacity to parasitize host eggs. *Trichogramma pretiosum* females have been feeding continuously a diet supplemented with a ratio of 90:10% honey to plant oil with a fatty acids profile similar to the host *Ephesia kuehniella*, by thermal process (water bath at 70 °C). Females fed with the lipid-rich diet have laid significantly more eggs (+10% in 3 days) than females fed honey-only. However, longevity was negatively affected (-40%) by the addition of plant oil when parasitoids were allowed to feed on the mixture continuously. This would suggest that olive oil becomes toxic to *T. pretiosum*. Finally, neither flight performance nor quality of the offspring have been adversely affected. These results reveal the potential of a lipid-rich diet to increase lipids allocation into reproduction. Further research into lipid supplementation needs to be done to highlight which fatty acids are responsible by an increase in parasitism. The use of a lipid-rich diet for insect rearing could be a true financial benefit for manufacturers which rear parasitoids of the genus *Trichogramma*.

Keywords: biological control, insect rearing, diet, lipids, *Trichogramma*, oogenesis.