



**HAL**  
open science

# Évaluation de l'efficacité de produits alternatifs et du parasitoïde *Trissolcus basalis* contre la punaise *Nezara viridula* en culture d'aubergine

Hélène Lauro

► **To cite this version:**

Hélène Lauro. Évaluation de l'efficacité de produits alternatifs et du parasitoïde *Trissolcus basalis* contre la punaise *Nezara viridula* en culture d'aubergine. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. dumas-03814052

**HAL Id: dumas-03814052**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03814052>**

Submitted on 13 Oct 2022

**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.

L'Institut Agro Rennes-Angers

Site d'Angers  Site de Rennes

<p>Année universitaire : 2021 – 2022</p> <p>Spécialité : Horticulture</p> <p>Spécialisation (et option éventuelle) :</p> <p>Protection des Plantes et Environnement appliquée à l'Horticulture (PPEH)</p>	<p><b>Mémoire de fin d'études</b></p> <p><input checked="" type="checkbox"/> d'ingénieur de l'Institut Agro Rennes-Angers (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)</p> <p><input type="checkbox"/> de master de l'Institut Agro Rennes-Angers (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)</p> <p><input type="checkbox"/> de l'Institut Agro Montpellier (étudiant arrivé en M2)</p> <p><input type="checkbox"/> d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)</p>
---	--

## Évaluation de l'efficacité de produits alternatifs et du parasitoïde *Trissolcus basalis* contre la punaise *Nezara viridula* en culture d'aubergine

Par : Hélène LAURO



**Soutenu à Angers le 06 septembre 2022**

**Devant le jury composé de :**

Président : Bruno Jaloux

Maître de stage : Fanny Thiery

Enseignant référent : Alexandre Degrave

Autres membres du jury : Richard Lothion, Ingénieur de Recherche (CTIFL)

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle de l'Institut Agro Rennes-Angers

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation « Paternité-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France » disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>





## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Fanny Thiery pour m'avoir fait confiance durant ce stage et pour ses conseils. Merci à Marion Turquet pour ses conseils et sa disponibilité. Merci au personnel de la station pour sa gentillesse et l'aide qu'il m'a apportée.

Merci à Alexandre Bout, entomologiste en recherche et développement à INRAe Sophia Agrobiotech pour ses conseils et son expertise sur les punaises et parasitoïdes.

Je remercie les producteurs pour m'avoir permis d'effectuer des prélèvements sur leur exploitation et pour leur gentillesse.

Sans oublier Germaine et ses successeuses pour m'avoir fourni en ooplaques et larves pour les essais et sans qui ces essais n'auraient pu avoir lieu.

Enfin je remercie ma famille pour son soutien sans failles. Merci à mes amis étoilés pour avoir été là pendant ces trois années. Mais aussi pour avoir accepté mes dizaines de photos de punaises et autres petites et grosses bêtes rencontrées durant ce stage. Merci à Jennifer, Juliette et Léa pour toutes les aventures vécues que j'espère encore nombreuses et pour votre grain de folie. Vous qui êtes allées jusqu'à m'offrir une punaise géante en chocolat en clin d'œil, ne changez jamais !



## Table des matières

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>I. Présentation de <i>Nezara viridula</i></b> .....	<b>3</b>
<b>1. Origine et distribution</b> .....	<b>3</b>
<b>2. Caractéristiques morphologiques</b> .....	<b>3</b>
2.1 Dimorphisme sexuel .....	3
2.2 Polymorphisme .....	3
2.3 Changement de couleur .....	3
<b>3. Cycle de vie</b> .....	<b>4</b>
3.1 Œufs .....	4
3.2 Larves .....	4
3.3 Adultes .....	5
3.4 Diapause reproductive hivernale .....	5
<b>4. Plantes hôtes</b> .....	<b>6</b>
<b>5. Symptômes et nuisibilité</b> .....	<b>6</b>
<b>6. Effets du changement climatique sur sa biologie</b> .....	<b>6</b>
<b>7. Moyens de lutte</b> .....	<b>7</b>
7.1 Produits phytosanitaires de synthèse .....	7
7.2 Extraits de végétaux .....	7
7.3 Champignons entomopathogènes .....	8
7.4 Parasitoïdes .....	9
<b>II. Le parasitoïde oophage <i>Trissolcus basalis</i></b> .....	<b>9</b>
<b>1. Présentation</b> .....	<b>9</b>
<b>2. Cycle de développement</b> .....	<b>9</b>
<b>3. Comportement et parasitisme</b> .....	<b>9</b>
3.1 Recherche et détection à longue portée .....	10

3.2 Recherche et détection à courte portée .....	10
3.3 Parasitisme de <i>Nezara viridula</i> .....	10
<b>4. Effets sub-létaux des produits phytosanitaires .....</b>	<b>11</b>
<b>III. Matériel et méthodes .....</b>	<b>12</b>
<b>1. Élevage de <i>Nezara viridula</i> .....</b>	<b>12</b>
<b>2. Amélioration des connaissances de la biologie et du cycle de vie de <i>Nezara viridula</i> .....</b>	<b>12</b>
2.1 Méthodes de prélèvement et suivi des parcelles .....	12
2.2 Définition des stades de maturité ovarienne .....	12
<b>3. Évaluation de produits alternatifs .....</b>	<b>13</b>
3.1 Essais en cages insect-proof en station .....	13
3.2 Essai en flacon : huile essentielle de thym .....	13
3.3 Analyse des résultats et analyses statistiques .....	14
<b>4. Évaluation de l'efficacité du parasitoïde <i>Trissolcus basalis</i> .....</b>	<b>15</b>
4.1 Choix et installation de la culture : en station et chez un producteur .....	15
4.2 Mise en place des essais.....	15
4.3 Méthode de suivi .....	15
4.4 Analyse des résultats et analyses statistiques .....	16
<b>IV. Résultats .....</b>	<b>17</b>
<b>1. Suivi de la maturité ovarienne des femelles .....</b>	<b>17</b>
<b>2. Essais de produits alternatifs .....</b>	<b>17</b>
2.1 Essais en cage .....	17
2.2 Essai en flacon de l'huile essentielle de thym.....	18
<b>3. Suivi des individus et de leurs dégâts en station.....</b>	<b>19</b>
3.1 Résultats sur les populations de punaises.....	19
3.2 Résultats sur les dégâts .....	19
3.3 Suivi du parasitisme .....	20

3.4 Résultats sur la production.....	20
<b>4. Évaluation de l'efficacité de <i>Trissolcus basalis</i> en production .....</b>	<b>21</b>
<b>V. Discussion .....</b>	<b>22</b>
<b>1. Cycle biologique de <i>Nezara viridula</i> .....</b>	<b>22</b>
<b>2. Interprétation de l'efficacité des produits testés en cage et en flacon.....</b>	<b>23</b>
2.1 Essais en cage .....	23
2.1 Essais en flacon : huile essentielle de thym ( <i>Thymus vulgaris</i> ).....	24
<b>3. Efficacité limitée de <i>Trissolcus basalis</i> en station et en production .....</b>	<b>24</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>27</b>
<b>Bibliographie et sitographie .....</b>	



## Liste des illustrations – Figures

- Figure 1 - Dimorphisme sexuel chez *Nezara viridula* (femelle à gauche et mâle à droite) ; Sainte-Livrade-sur-Lot, 09/03/2022, Hélène Lauro
- Figure 2 - Polymorphisme chez *Nezara viridula*, trois formes les plus communes : *torquata* (gauche, Hélène Lauro, 29/03/2022), *smaragdula* (milieu, Hélène Lauro, 22/03/2022) et *aurantiaca* (droite, Sergio Melandri, 2018)
- Figure 3 - *Nezara viridula* sous sa forme hivernale ; Hélène Lauro, 17/03/2022
- Figure 4 - Cycle de vie de *Nezara viridula*, la durée des stades est précisée pour une température de 25°C ; Hélène Lauro, 2022, Fanny Thiery, 2021, (Martin 2018)
- Figure 5 - Œufs de *N. viridula* avec embryon visible (croissant rouge) ; Fanny Thiery, 2021
- Figure 6 - Morphologie de *Nezara viridula*, les 3 points blancs entourés de 2 points noirs caractéristiques de l'espèce sont entourés en noir ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 7 - Dégâts de *Nezara viridula* sur aubergine : chute de bouton floral (gauche), dessèchement de l'apex (milieu), déformation sur fruit (droite) ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 8 - Adulte de *Nezara viridula* avec un œuf de *Trichopoda pennipes*,; Hélène Lauro, 28/03/2022 (gauche) et larve de *Trichopoda pennipes* à l'intérieur d'un adulte *Nezara viridula* ; Hélène Lauro, 12/04/2022
- Figure 9 - Œufs parasités de *Nezara viridula*, 7 jours après parasitisme (gauche) et 10-12 jours après parasitisme (droite) ; Koppert, 2021
- Figure 10 - Adulte de *Trissolcus basalis* émergeant d'œufs de *Nezara viridula* parasités ; Hélène Lauro, 11/05/2022
- Figure 11 - Adulte de *Trissolcus basalis* (mâle à gauche et femelle à droite) ; Hélène Lauro, 07/2022
- Figure 12 - Boîte d'élevage des adultes (gauche) et juvéniles (droite) de *N. viridula* ; Hélène Lauro, 06/05/2022
- Figure 13 - Pupa de *Trichopoda pennipes* ; Hélène Lauro, 21/03/2022
- Figure 14 - Système reproducteur de femelle *Nezara viridula* ; Hélène Lauro, 04/04/2022
- Figure 15 - Tunnel 5m avec les plants des essais en cages ; Hélène Lauro, 27/06/2022
- Figure 16 – Exemple de flacon utilisé pour l'essai en flacon ; Hélène Lauro, 26/07/2022
- Figure 17 - Installation des plants en station (gauche) et chez le producteur (droite) ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 18 - DIBOX servant aux lâchers et leur localisation dans les compartiments en station ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 19 – Stade de maturité ovarienne selon l'état de la femelle ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 20 - Maturité ovarienne par date et lieu de prélèvement ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 21 – Courbe de survie de Kaplan-Meier des larves en fonction du traitement pour la première série ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 22 - Courbe de survie de Kaplan-Meier des larves en fonction du traitement pour la deuxième série ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 23 - Courbe de survie de Kaplan-Meier des larves en fonction du traitement pour l'essai en flacon ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 24 - Évolution de la population de punaises à la station au cours des notations ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 25 - Nombre moyen de larves et d'adultes par plant dans les deux compartiments au cours de la culture ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 26 - Pourcentage de dégâts sur les boutons et apex dans les deux compartiments au cours de la culture ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 27 - Rendement net hebdomadaire (kg/m<sup>2</sup>) dans les deux compartiments ; Fanny Thiery, 2022
- Figure 28 - Pourcentage de fruits piqués hebdomadaire dans les deux compartiments ; Hélène Lauro, 2022
- Figure 29 - Développement saisonnier de *Nezara viridula* au Japon (d'après Kiritani et al. 1963) (en haut) et à la station à Sainte-Livrade sur Lot en 2022 (en bas). Les générations successives sont numérotées en chiffres romains et les hypothèses en pointillés ; (Saulich, Musolin 2014), Hélène Lauro, 2022
- Figure 30 – Effet de la présence de la cage lors du traitement sur la qualité de la pulvérisation à l'aide de papiers hydrosensibles (les papiers initialement jaunes virent au bleu en présence d'eau) ; Hélène Lauro, 2022

## Liste des illustrations – Tableaux

Tableau 1 - Superficie cultivée en aubergine, production annuelle et rendement des années 2016, 2018 et 2020 en Nouvelle-Aquitaine et dans le Lot-et-Garonne ; Hélène Lauro, 2022 d'après Agreste SAA

Tableau 2 - Description des différents stades larvaires de *N. viridula* (Martin 2018)

Tableau 3 - Produits autorisés en France pour l'usage punaise en tomate-aubergine ; Hélène Lauro, 2022, d'après (ANSES 2022)

Tableau 4 - Résumés des effets des extraits de végétaux cités, Hélène Lauro, 2022

Tableau 5 - Description des 4 stades de maturité ovarienne identifiés ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 6 - Caractéristiques des produits testés lors des essais en cage et dates d'application ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 7 - Dates de lâcher et doses apportées à la station ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 8 - Dates de lâcher chez le producteur

Tableau 9 - Liste des différents prélèvements réalisés

Tableau 10 - Résultats des tests réalisés à J+14 pour la première série ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 11 - Résultats des tests réalisés à J+14 pour la deuxième série ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 12 - Résultats des tests réalisés à J+14 pour l'essai en flacon ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 13 - Traitements effectués dans les compartiments d'essai à la station et date d'application ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 14 - Traitements réalisés chez le producteur lors de l'essai ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 15 - Estimation de la date de début des pontes avec le modèle et de la date réelle observée pour les années 2020 et 2021 ; BIK, 2021

Tableau 16 - Mode d'action des produits testés lors des essais en cage ; Hélène Lauro, 2022

## Index des annexes

Annexe I – Protocole de dissection de *Nezara viridula*

## Liste des abréviations utilisées

AB : Agriculture Biologique

AIREL : Association Inter-régionale de Recherche et d'Expérimentation Légumière

CIREA : Centre Inter-Régional d'Expérimentation Arboricole

CIREF : Centre Inter-Régional d'Expérimentation pour la Fraise

CREMAN : Centre de REcherches en MAchinisme de Nérac

HE : Huile Essentielle

IMPULsE : développement et Intégration de Méthodes innovantes pour la maîtrise des PUnaises en cultures LEgumières

DL50 : Dose Létale médiane

DPG : Double Paroi Gonflable

PBI : Protection Biologique Intégrée

POLCKA : régulation des punaises PentatOmides en cultures de Choux, Concombres, Kiwis et Aubergine par optimisation de différents leviers de protection alternatifs aux produits phytosanitaires

SAA : Surface Agricole Annuelle

## Lexique

Adsorbant : Phénomène par lequel des composés gazeux ou liquides se fixent sur une surface solide.

Fongistatique : Qui a un effet inhibiteur du développement et de la reproduction des champignons.

Haplodiploïdie : Chez de nombreuses espèces d'Hyménoptères parasitoïdes, les mâles sont haploïdes et issus d'un œuf non fécondé et les femelles sont diploïdes, issues d'un œuf fécondé.

Kairomone : Composé chimique volatil émis par une espèce et capté par une autre espèce induisant une réponse bénéfique pour l'espèce réceptrice mais ayant un effet négatif sur l'espèce émettrice.

Oligophage : Qui peut se nourrir et vivre aux dépens de quelques espèces souvent apparentées.

Synomones : Composé chimique produit par une espèce et ayant un effet positif sur l'espèce émettrice et réceptrice.

Synovigénique : Une espèce est dite synovigénique si la maturation de ces œufs s'effectue tout au long de son cycle de vie.

Transmission verticale : La transmission verticale d'un symbiote microbien est le transfert de ce symbiote des parents à leur descendance.

## Avant-propos

INVENIO est la station d'expérimentation de la filière fruits et légumes en Nouvelle Aquitaine. Elle a été créée pour et par des producteurs de la région. Invenio est le résultat de la fusion le 31 mai 2010 du CIREA et d'Hortis Aquitaine (créée en 2005 par la fusion de l'AIREL, du CIREF et du CREMAN).

Les activités d'Invenio sont réparties sur 6 départements de la Nouvelle-Aquitaine : la Gironde, le Lot-et-Garonne, la Dordogne, les Landes, la Corrèze et la Haute-Vienne. Chaque site est spécialisé dans un produit ou une activité en fonction des conditions pédoclimatiques des départements.

Ce stage a eu lieu au sein du pôle Poivron-Aubergine sur le site de Sainte-Livrade-sur-Lot situé en Lot-et-Garonne. Ce site dispose de 4 500 m<sup>2</sup> de serre verre, 2 800 m<sup>2</sup> de serre multichapelles, 1 000 m<sup>2</sup> de tunnels et 11 ha de terrain dont 2,5 ha de pomme bio et 3 ha de cultures légumières en bio. Il dispose aussi d'un atelier machinisme permettant, entre autres, de créer des prototypes.

Les axes d'expérimentation du pôle Poivron-Aubergine sont :

- l'optimisation de la qualité des produits
- l'augmentation des gains de compétitivité en recherchant un matériel végétal adapté aux contraintes économiques et aux dispositifs agronomiques, et possédant des résistances aux maladies
- trouver des solutions aux problèmes phytosanitaires (maladies et ravageurs)



## Introduction

En culture légumières sous abris et plein-champ, les dégâts provoqués par les punaises phytophages sont en augmentation. Ils peuvent conduire jusqu'à 90% de pertes à la récolte (Prisca, Gard, Trottin 2017). Ces dégâts sont particulièrement importants en cultures légumières telles que l'aubergine, la tomate, le poivron, le concombre et la fraise sous abris. Les genres *Lygus* (Miridae), *Nezara* (Pentatomidae) et *Nesidiocoris* (Miridae) sont de plus en plus préoccupants. Leur recrudescence pourrait s'expliquer en partie par la réduction des traitements insecticides à large spectre (suite au retrait de certaines substances actives et au développement de la protection intégrée des cultures), et par le réchauffement climatique (Prisca, Gard, Trottin 2017; Blancard, Ryckewaert 2021). En aubergine les familles Pentatomidae et Miridae sont les plus problématiques.

Ce stage porte sur la punaise *Nezara viridula* de la famille des Pentatomidae (Blancard, Ryckewaert 2021; CABI 2021). Elle serait vraisemblablement originaire de la zone méditerranéenne et/ou du continent africain. Sa population remonte progressivement vers le Nord, probablement dû au réchauffement climatique. En France, elle est observée jusqu'en Alsace (Prisca, Gard, Trottin 2017). En culture d'aubergines ses piqûres provoquent une perte de rendement importante.

En France en 2020, 796 ha étaient cultivés en aubergine (dont 519 ha en France métropolitaine) soit une hausse de 8,3% par rapport à 2010. Cette même année, 27 461 tonnes ont été récoltées dont 24 517 tonnes en France métropolitaine (Agreste 2010; 2021). Il s'agit d'une culture importante pour la région Nouvelle-Aquitaine. En 2020, la production d'aubergine de la région Nouvelle-Aquitaine était de 8 624 tonnes dont 6 000 tonnes dans le département du Lot-et-Garonne, soit près de 70% de la production régionale et 24% de la production métropolitaine. Cependant, ces dernières années le rendement a chuté, en 2016 il était de 110 tonnes/ha dans le Lot-et-Garonne contre 75 tonnes/ha en 2020 (Tableau 1) (Agreste 2020).

Les moyens de lutte actuels sont limités. En AB, aucun produit n'est homologué. En culture de tomate et aubergine conventionnelle, les seuls produits homologués sont des pyréthrinoïdes. Ils sont cependant incompatibles avec les stratégies de lutte en protection intégrée car toxiques pour les auxiliaires (Prisca, Gard, Trottin 2017; Gard et al. 2021) dont ceux apportés par les producteurs ce qui n'est économiquement pas viable. De plus, les insecticides visant les punaises peuvent déstabiliser la faune auxiliaire, ce qui a pour conséquence des pullulations d'autres ravageurs, comme les thrips en aubergine. Le produit phytosanitaire Suprême de la famille des néonicotinoïdes, compatible avec la faune auxiliaire, utilisé par les producteurs pour lutter contre *Nezara viridula* a été interdit en septembre 2019. De ce fait, il est nécessaire de trouver de nouvelles méthodes de lutte contre ces punaises.

Afin de commencer à répondre à cette problématique un 1<sup>er</sup> projet nommé IMPULSE (développement et Intégration de Méthodes innovantes pour la maîtrise des PUnaises en cultures LEgumières) s'est déroulé de 2017 à 2020.

Ce projet avait 4 axes de travail :

- l'amélioration des « connaissances sur la biologie des punaises phytophages et leurs dégâts »
- l'expérimentation de stratégies de protection
- le développement de nouvelles solutions
- la valorisation des solutions trouvées.

Tableau 1 - Superficie cultivée en aubergine, production annuelle et rendement des années 2016, 2018 et 2020 en Nouvelle-Aquitaine et dans le Lot-et-Garonne ; Hélène Lauro, 2022 d'après Agreste SAA

	2016	2018	2020
<b>Superficie cultivée en Nouvelle-Aquitaine (ha)</b>	<b>122</b>	<b>125</b>	<b>125</b>
dont Lot-et-Garonne	79	80	80
<b>Production annuelle en Nouvelle-Aquitaine (tonnes)</b>	<b>12 173</b>	<b>10 636</b>	<b>8 624</b>
dont Lot-et-Garonne	8 690	7 480	6 000
<b>Rendement annuel en Nouvelle-Aquitaine (tonnes/ha)</b>	<b>99,8</b>	<b>85</b>	<b>69</b>
dont Lot-et-Garonne	110	93,5	75

Ainsi, la protection physique (filets) et la lutte biologique donnent des résultats prometteurs en culture de tomate et aubergine sous abris (Gard et al. 2021). Lors du projet IMPULSe, le parasitoïde, *Trissolcus basalis* a été identifié pour lutter contre *Nezara viridula*. Le lâcher de parasitoïdes permet de réduire de 60% le nombre de boutons floraux détruits ou touchés 28 jours après le lâcher et de réduire de 71% le nombre d'apex desséchés par rapport à une culture sans lâchers (Gard et al. 2021).

Le projet POLCKA (régulation des punaises Pentatomides en cultures de Choux, Concombres, Kiwis et Aubergine par optimisation de différents leviers de protection alternatifs aux produits phytosanitaires) fait suite au projet IMPULSe. POLCKA est financé par FranceAgriMer, il est porté par la station d'expérimentation de la filière fruits et légumes INVENIO, située en Nouvelle-Aquitaine et associe 6 partenaires. Ce projet qui s'étend d'avril 2021 à mars 2024 a pour objectif de réguler les populations de punaises de la famille des Pentatomidae et de limiter leurs impacts sur les rendements et la qualité des cultures. Dans le cadre de ce projet, quatre couples ravageur/culture sont étudiés, *Halyomorpha halys*/kiwi, *Eurydema*/choux, *Nezara viridula*/concombre et *Nezara viridula*/aubergine. Chaque partenaire du projet étudie un couple et la station d'Invenio travaille sur le couple *Nezara viridula*/aubergine (Thiery 2022a). Afin d'atteindre l'objectif fixé, deux axes sont explorés. Il s'agit, d'une part, d'améliorer les connaissances de la biologie et des parasitoïdes naturels de ces punaises. Et d'autre part, d'introduire différents moyens de protection alternatifs et combinaisons de stratégies afin d'éviter l'usage de produits phytosanitaires incompatibles avec l'installation d'une Protection Biologique Intégrée (PBI).

Ce mémoire s'inscrit dans le cadre du projet POLCKA (avril 2021 - mars 2024) et plus particulièrement dans la lutte contre *Nezara viridula* en culture d'aubergine. Il compte trois objectifs :

- l'amélioration de la connaissance du cycle de vie de *Nezara viridula* via des dissections régulières de femelles afin d'en déterminer le stade de maturité ovarienne
- l'évaluation de l'efficacité du parasitoïde *Trissolcus basalis* contre *Nezara viridula* en station d'expérimentation et chez un producteur
- l'évaluation de l'efficacité de différents produits alternatifs ou compatibles avec la faune auxiliaire contre *Nezara viridula* via des essais en cage insect-proof ou en flacon à la station



# I. Présentation de *Nezara viridula*

## 1. Origine et distribution

*Nezara viridula* est un insecte piqueur-suceur de l'ordre des Hémiptères, sous ordre des Hétéroptères, de la famille des Pentatomidae (Blancard, Ryckewaert 2021). La nomenclature de l'espèce est stable depuis 1940 (CABI 2021). Elle a été reconnue pour la première fois en tant que ravageur du coton en Égypte en 1937 (Ali, Ewiess 2009).

Son aire géographique d'origine est sujet à débat et elle semble originaire du pourtour méditerranéen et/ou d'Afrique et plus particulièrement d'Éthiopie (CABI 2021; Jones 1988; Musolin 2012). Elle se serait tout d'abord dispersée en Asie puis plus récemment en Europe et Amérique (Saulich, Musolin 2014). De nos jours, cet insecte est présent dans de nombreux pays sur l'ensemble des continents exceptés l'Antarctique (CABI 2021). En France elle est présente de façon certaine dans une soixantaine de départements (Dusoulier 2020).

## 2. Caractéristiques morphologiques

### 2.1 Dimorphisme sexuel

Il y a un dimorphisme sexuel entre les mâles et les femelles. Les femelles ont une fente sur l'avant dernier segment abdominal et les mâles en sont dépourvus. Le dimorphisme est déjà présent chez les larves de stade 5 (L5). La différence est cependant plus marquée chez les adultes. Les mâles ont en plus deux protubérances à la base du dernier segment abdominal (Esquivel, Ward 2014) (Figure 1).

### 2.2 Polymorphisme

*Nezara viridula* compte près de 10 types polymorphiques différents. Trois de ces formes ont été originellement décrites en tant qu'espèces à part entière : *N. viridula* var. *smaragdula* (corps entièrement vert), *N. viridula* var. *torquata* (corps vert avec les lobes latéraux et médians de la tête et la marge antérieure du pronotum jaunes) et *N. viridula* var. *aurantiaca* (entièrement jaune ou orange) (Vivan, Panizzi 2006) (Figure 2). La forme entièrement verte est la plus commune de l'espèce (CABI 2021).

### 2.3 Changement de couleur

Ces punaises sont vertes en période estivale et brun-violacées en période hivernale, lors de leur diapause (Blancard, Ryckewaert 2021) (Figure 3). Ce changement de couleur caractérise leur état de diapause. Lors de la fin de celle-ci, la reprise du développement et le début de la reproduction post-diapause sont associés avec un retour progressif vers leur couleur d'origine. Il ferait apparemment office de camouflage mais jouerait aussi un rôle important dans la thermorégulation pendant la période de préparation de la diapause et/ou la diapause en elle-même, comme cela existe chez certains Coléoptères (Musolin 2012).

Le changement de couleur n'implique pas de processus présent dans la cuticule en elle-même mais les cellules épidermiques sous-jacentes. Le pigment érythroptérine est impliqué. Lorsque la punaise est verte, il est présent en solution aqueuse tandis qu'il est sous forme de cristaux et rouge profond en diapause (Musolin 2012).

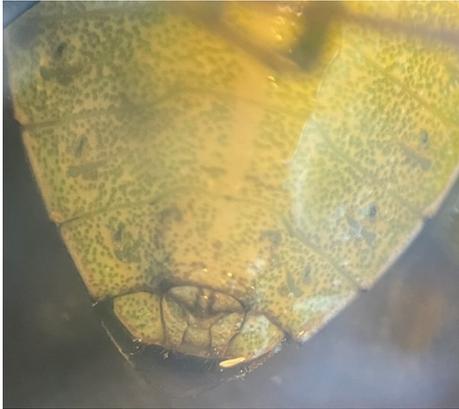


Figure 1 - Dimorphisme sexuel chez *Nezara viridula* (femelle à gauche et mâle à droite) ; Sainte-Livrade-sur-Lot, 09/03/2022, Hélène Lauro



Figure 2 - Polymorphisme chez *Nezara viridula*, trois formes les plus communes : *torquata* (gauche, Hélène Lauro, 29/03/2022), *smaragdula* (milieu, Hélène Lauro, 22/03/2022) et *aurantiaca* (droite, Sergio Melandri, 2018)



Figure 3 - *Nezara viridula* sous sa forme hivernale ; Hélène Lauro, 17/03/2022

### 3. Cycle de vie

Son cycle de vie compte 5 stades larvaires. Sa vitesse de développement est dépendante de la température et de la photopériode ce qui influence la durée de son cycle. Il est de 3 semaines à 30°C et 2 mois à 20°C (Blancard, Ryckewaert 2021). Son optimum de reproduction et de développement serait atteint avec une température de 25°C et une hygrométrie de  $40 \pm 10\%$ . Cette température offre le meilleur taux de survie et de développement des stades immatures (Saulich, Musolin 2014; Ali, Ewiess 2009). Quant à la photopériode, elle aurait un effet sur le taux de développement à 20 et 25°C mais pas à 30°C. Une photopériode longue a pour effet d'accélérer le développement (Ali, Ewiess 2009).

Son cycle de vie est multivoltin. Près de 2 à 3 voire 4 générations peuvent se succéder par an (Musolin 2012). Elle réalise une diapause reproductive hivernale au stade adulte (CABI 2021; Saulich, Musolin 2014) (Figure 4). Le développement des gonades est sensible à la photopériode. Une photopériode supérieure à 12h est favorable à l'ovogenèse et au développement des oocytes. Une photopériode inférieure à 11h entraîne un arrêt complet de l'activité de l'insecte et inhibe la maturation des gonades, particulièrement chez les femelles (Ali, Ewiess 2009).

#### 3.1 Œufs

Les œufs sont pondus en ooplaques en formes de nids d'abeille de 30 à 130 œufs sur la face inférieure des feuilles (CABI 2021; Blancard, Ryckewaert 2021). Le nombre d'œufs par ooplaque (taille de l'ooplaque) dépend de la taille et de l'âge de la femelle qui les a pondus (Liljesthröm, Cingolani, Roggiero 2014). Chacun des œufs est collé aux œufs adjacents et au substrat. Ils sont blanc crème à jaune et changent de couleur au cours de leur développement en passant de jaune crème à jaune profond puis rose et enfin orange vif/rouge. La tête de l'embryon en cours de développement est visible 3 jours après oviposition sous forme de croissant rouge (CABI 2021) (Figure 5).

Ils éclosent 2-3 semaines après oviposition au printemps et 5 jours en été (CABI 2021). L'éclosion serait stimulée par la lumière. Ainsi, elle aurait plutôt lieu à l'aube, entre 3h et 9h du matin (sous une photopériode de 14h à une température de 25-28 °C). Lors de l'éclosion, les œufs adjacents sont stimulés physiquement par les œufs en cours d'éclosion et les larves déjà présentes. Ce mécanisme permet une synchronisation de l'éclosion des œufs d'une même ooplaque. Plus les œufs sont nombreux et plus ils éclosent vite, un œuf isolé mettra plus de temps à éclore que des œufs regroupés en ooplaque (Lockwood, Story 1985; Hirose, Panizzi, Cattelan 2006).

#### 3.2 Larves

Les larves changent de couleur au cours de leur développement et les 5 stades larvaires peuvent être différenciés via les changements de couleur et de taille (CABI 2021) (Tableau 2). Les larves L1 font à peine 1mm et les L5 sont longues de près de 1 cm (Blancard, Ryckewaert 2021). Les larves n'ont pas d'ailes mais des ébauches de celles-ci apparaissent au stade L5.

Les stades L1 ne se nourrissent pas et restent groupées sur leur lieu d'éclosion. Les larves L2 et L3 se regroupent aussi mais se dispersent lorsqu'elles sont dérangées. Les larves L4 et L5 ne se regroupent pas. Elles possèdent des glandes abdominales qui sécrètent du n-tridécane qui joue un rôle dans cette agrégation à haute concentration et dans leur dispersion. L'agrégation, notamment chez les L1, est connue pour favoriser la vitesse de développement et réduire la mortalité. Elle permettra aussi de limiter la dessiccation, préjudiciable pour les stades L1 à L2 du fait de la plus grande perméabilité de leur cuticule (Hirose, Panizzi, Cattelan 2006; CABI 2021).

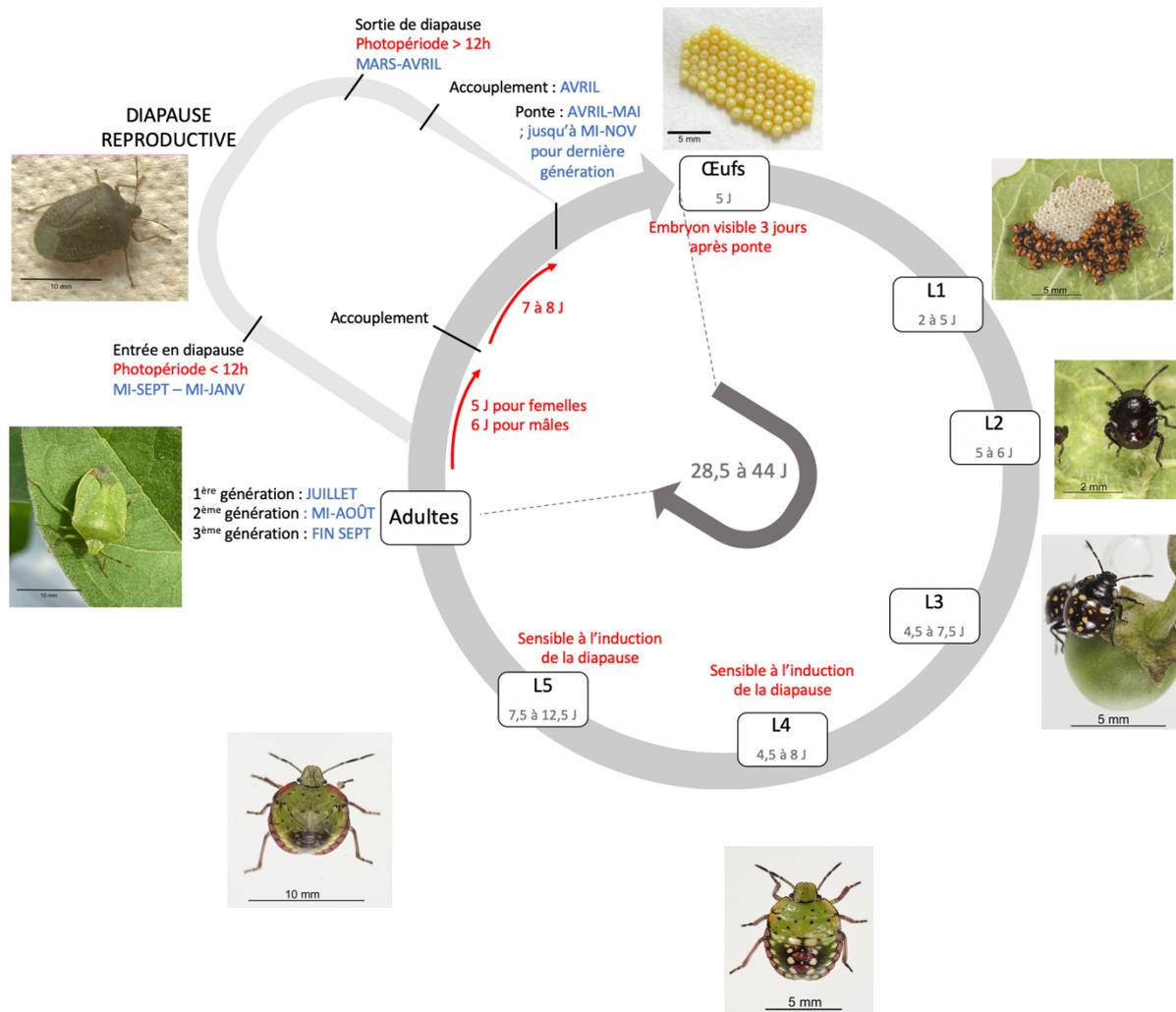


Figure 4 - Cycle de vie de *Nezara viridula*, la durée des stades est précisée pour une température de 25°C ; Hélène Lauro, 2022, Fanny Thiery, 2021, (Martin 2018)

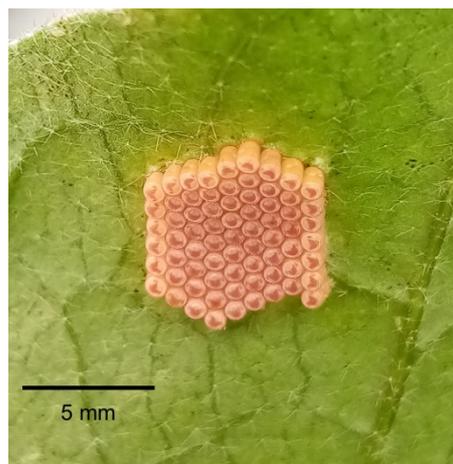


Figure 5 - Œufs de *N. viridula* avec embryon visible (croissant rouge) ; Fanny Thiery, 2021

### 3.3 Adultes

Les adultes mesurent 1,2 à 1,6 cm de long et 0,8 cm de large, trois points blancs sont visibles à la base du scutellum où il rejoint le prothorax (Blancard, Ryckewaert 2021; CABI 2021) (Figure 6).

Pendant la saison, les adultes non diapausants s'accouplent 5 jours pour les femelles et 6 jours pour les mâles après atteinte du stade adulte. Et les femelles pondent 7-8 jours après l'accouplement. Les adultes qui n'entrent pas en diapause vivent environ 50 jours contre environ 351 pour les adultes diapausants (McPherson et al. 2018). Le nombre moyen d'œufs développés par ovariole augmente au cours de la saison. Les femelles diapausantes ont en moyenne 5 œufs par ovariole contre 6 pour la génération suivante et jusqu'à 7 pour la dernière génération (Liljesthröm, Cingolani, Roggiero 2014).

Les adultes, contrairement aux larves, ne sécrètent pas leur composés depuis des glandes abdominales mais depuis des glandes métathoraciques où ils sont stockés (Lopes et al. 2015). Ils sécrètent aussi du n-tridécane, ainsi que du (E)-2-hexenal et (E)-2-hexenyl acétate qui sont des phéromones d'alarme chez les adultes. Ces trois composants jouent un rôle défensif contre les prédateurs potentiels (CABI 2021).

### 3.4 Diapause reproductive hivernale

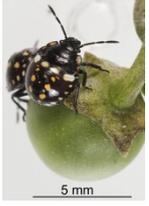
*N. viridula* réalise une diapause reproductive hivernale au stade adulte. Cependant, en conditions favorables comme au Sud du Brésil et en Inde, elles peuvent continuer à se reproduire sur des hôtes alternatifs en hiver (CABI 2021; Musolin 2012). Les adultes rejoignent leur lieu de diapause à partir du mois d'octobre mais une partie des adultes de la dernière génération n'entrent pas en diapause pas et pondent jusqu'à mi-novembre (Saulich, Musolin 2014). Leurs lieux de diapauses sont divers, elles peuvent hiverner sous l'écorce, dans la litière, la végétation ou dans les recoins des bâtiments. Les adultes quittent leur lieu de diapause au printemps et commencent à se nourrir et à s'accoupler. A la mi-mai plus aucun adulte n'est en diapause (CABI 2021; McPherson et al. 2018).

Durant la diapause, chez les femelles les ovaires sont clairs et ne contiennent pas d'oocytes dans le germinarium. La spermathèque est vide et petite. Chez les mâles, les sacs ectodermiques sont transparents et vides, ils ne sont pas clairement visibles. Les adultes diapausants des deux sexes accumulent des réserves de gras et leurs corps gras sont étendus et denses (Musolin 2012).

Le bon timing d'induction de la diapause et la taille des adultes jouent un rôle déterminant dans le succès de leur survie en hiver. La diapause est induite par une photopériode de jours courts et la photopériode critique d'induction de la diapause est de 12h de jour. En comparaison avec d'autres espèces la photopériode critique de *N. viridula* est la plus courte pour l'induction de la diapause. Elle est de 30 minutes de moins que l'autre Pentatomidae *Plautia stali* et 90 minutes plus courte que *Halyomorpha halys*. Cela conduit à une induction de la diapause relativement tardive chez cette espèce.

Les stades sensibles à la photopériode, qui détermine leur entrée en diapause, seraient les stades L4 et/ou L5 (CABI 2021; Musolin 2012; Ali, Ewiess 2009). Seuls les adultes non reproducteurs peuvent entrer en diapause. Les adultes reproducteurs ne peuvent pas arrêter leurs processus reproducteurs en réponse à un stimuli de jours courts. Cependant les adultes sont sensibles à une photopériode de jours longs (12h et plus) dans l'induction de la sortie de diapause (Musolin 2012). Le bon succès de la diapause ne nécessite pas une exposition à des températures basses (Musolin, Fujisaki, Numata 2007).

Tableau 2 - Description des différents stades larvaires de *N. viridula* (Martin 2018)

L1	Rouges avec des points noirs au niveau des ouvertures des glandes abdominales. Leurs antennes, pattes et tête sont noirs.	
L2	Noires brillantes. Deux points blancs sont présents sur le premier segment de l'abdomen. Deux paires de points orange sont visibles près des glandes odorantes abdominales.	
L3	Entièrement noires avec plus de blanc que les L2 sur le premier segment abdominal et plus de points blancs ou jaunes sur l'abdomen. Les bords latéraux du mésothorax et prothorax sont colorés.	
L4	De couleur plus variable, le corps peut être noir ou vert et les bords latéraux des segments abdominaux peuvent être roses. Les pattes et antennes sont roses à marron foncées.	
L5	Leur couleur est aussi très variable. Elles peuvent être presque noires à vertes avec le bord abdominal rose. Elles ont toutes trois paires de points blancs ou jaunes près des glandes odorantes abdominales. Les ébauches des ailes sont visibles.	

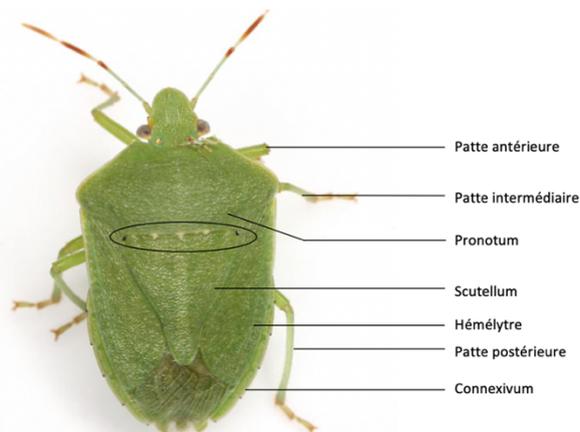


Figure 6 - Morphologie de *Nezara viridula*, les 3 points blancs entourés de 2 points noirs caractéristiques de l'espèce sont entourés en noir ;  
Hélène Lauro, 2022

#### 4. Plantes hôtes

*Nezara viridula* affecte de nombreuses cultures et les adventices peuvent assurer leur multiplication et dissémination (Blancard, Ryckewaert 2021). Elle est considérée comme hautement polyphage et se nourrit sur plus de 150 espèces appartenant à 30 familles de dicotylédones et monocotylédones, comme les Crucifères, Poacées, Malvacées et Solanacées avec une préférence pour les Fabacées (CABI 2021; Musolin 2012).

#### 5. Symptômes et nuisibilité

*N. viridula* attaque l'ensemble des parties de la plante dont les tiges et veines foliaires même si elles se nourrissent majoritairement sur les fruits et bourgeons en développement. Les piqûres entraînent généralement la formation de petits points bruns ou noirs et un retard de croissance ou la chute prématurée des fruits. Les fleurs aussi peuvent chuter. Les piqûres de succion sont des ouvertures pour les infections fongiques et bactériennes. Les infections causées peuvent être en partie responsable des chutes de fruits observées (CABI 2021). Ces piqûres de succion peuvent parfois tuer les plantes et transmettre le champignon *Rhizopus nigricans* causant une pourriture interne.

Sur tomate, les piqûres provoquent des taches jaunes sur les fruits et induisent une maturité précoce et une réduction de leur taille et poids. Les fruits touchés sont aussi plein de bosses et sans saveur (CABI 2021).

Sur aubergine, les dégâts sont le dessèchement de l'apex des plants, la chute des boutons floraux néoformés suite à la piqûre de leur pédoncule et l'apparition de déformations sur la partie apicale des fruits ainsi que des décolorations (Gard et al. 2021) (Figure 7).

#### 6. Effets du changement climatique sur sa biologie

Pendant la saison chaude, une hausse des températures affecte négativement le développement larvaire via la suppression d'un symbiote intestinal et une diminution de sa population (Musolin 2012). En effet, *N. viridula* dépend d'un microorganisme bactérien intestinal pour sa survie et croissance. Celui-ci est transmis verticalement par les femelles via des sécrétions déposées sur la surface des œufs lors de la ponte. Il est ensuite ingéré par les larves lors de leur éclosion. Chez les larves, la suppression de ce symbiote cause un retard de croissance et une hausse de la mortalité. Chez les adultes, la disparition de celui-ci provoquerait des défauts de fitness avec un retard de croissance une taille réduite (préjudiciable pour la survie hivernale) ou une couleur jaune (Kikuchi et al. 2016). Avec une hausse de la température de 2,5 °C, lors de la période la plus chaude de l'année, les larves se développent plus lentement et souffrent d'une plus grande mortalité (qui pourrait s'expliquer par la suppression du symbiote). Les femelles adultes sont plus petites, avec une cuticule anormale, ont une durée de vie réduite et produisent moins d'œufs (Kiritani 2011; Musolin, Tougou, Fujisaki 2010).

Cependant, hors des périodes les plus chaudes de l'année, une hausse des températures aurait un effet favorable sur *N. viridula*. Elle permettrait une accélération du développement au printemps et à l'automne et une augmentation de la survie des adultes en hiver ; notamment des adultes de petites taille ou n'ayant pas eu le temps de changer de couleur avant l'hiver (Musolin 2012; Kiritani 2011; Musolin, Tougou, Fujisaki 2010). Malgré une amélioration de la survie des adultes à l'hiver, la densité de population pourrait se réguler à un nouvel équilibre.



*Figure 7 - Dégâts de Nezara viridula sur aubergine : chute de bouton floral (gauche), dessèchement de l'apex (milieu), déformation sur fruit (droite)  
; Hélène Lauro, 2022*

Le taux de développement de *N. viridula* étant en partie dépendant de la température, en dehors de la période la plus chaude, une hausse de la température serait plutôt favorable à son développement. A une température plus élevée, le changement de couleur post-diapause et la reproduction sont avancés, les adultes sortent de diapause et commencent à se reproduire plus tôt. Au début de l'été, le développement des larves est accéléré et les femelles produisent plus d'œufs. A l'automne, une hausse de la température accélère le développement des larves, les femelles obtenues sont alors plus grandes. Or, les adultes de grande taille survivent mieux à l'hiver que les plus petits, le nombre de femelles survivant à l'hiver augmenterait (Musolin, Tougou, Fujisaki 2010).

De plus, la survie hivernale des adultes est affectée par la température, plus l'hiver est froid, plus le taux de survie est faible. Les températures moyennes en janvier et le nombre de jours froids cumulés sont des facteurs déterminants de la limite de distribution Nord de cette punaise. *N. viridula* a été retrouvée dans des régions où le nombre de jours froids n'excède pas 26 entre janvier et février et où la température annuelle la plus basse ne descend pas en-dessous de -3°C (Musolin 2012).

Ainsi, en réponse au réchauffement climatique, *N. viridula* étendrait sa distribution vers le Nord. Son développement plus rapide au printemps et à l'automne, combiné avec un allongement de la saison de production conduirait à l'apparition d'une génération supplémentaire (Musolin 2012; Musolin, Tougou, Fujisaki 2010).

## 7. Moyens de lutte

### 7.1 Produits phytosanitaires de synthèse

Les pyréthrinoïdes sont efficaces contre les larves et adultes de *N. viridula*, la lambda-cyhalothrine est particulièrement efficace (Snodgrass, Adamczyk, Gore 2005; Takeuchi, Endo 2012). Les stades larvaires sont les plus sensibles aux insecticides. Les valeurs de DL50 sont 10 fois plus élevées pour les adultes que pour les larves avec des produits identiques (fénitrothion, fenthion, éthofenprox, silafluofen,...). Actuellement en France, les deux dernières substances actives autorisées sont la deltaméthrine et la lambda-cyhalothrine avec un total de 12 produits commerciaux autorisés pour l'usage tomate-aubergine (Tableau 3), 50 produits ont été retirés (ANSES 2022).

### 7.2 Extraits de végétaux

Face aux risques pour la santé et l'environnement des produits phytosanitaires de synthèse, en plus de leur non-sélectivité et de l'apparition de résistances chez les ravageurs, les produits phytosanitaires botaniques semblent prometteurs de par leur non persistance, leur haute sélectivité et leur faible toxicité pour les Mammifères. Les limonoïdes extraits des végétaux sont utilisés. Ils ont des propriétés anti-nourrissage, régulateurs de croissance et antibactériens préjudiciables pour une large gamme d'insectes. Le plus largement utilisé est l'azadirachtine, substance trouvée chez *Melia azedarach* (margousier ou neem en anglais). Les effets sur les insectes d'autres espèces de Meliaceae ont été étudiée comme *Melia volkensii*. Chez *N. viridula*, elle entraîne une baisse de l'activité de nourrissage, la perturbation de la croissance et une mortalité. L'exposition à des extraits de fruits de *Melia volkensii* entraîne des malformations chez 85,7% des adultes exposés à 10 µg/µL. Les graines de cette même plante contiennent aussi des acides gras insaturés dont certains à 18 atomes de carbone connus et utilisés pour leurs effets synergiques avec certains insecticides. Ils améliorent l'activité insecticide des carbamates et organophosphorés appliqués contre les insectes suceurs et défoliateurs (Jaoko et al. 2020).

Tableau 3 - Produits autorisés en France pour l'usage punaise en tomate-aubergine ; Hélène Lauro, 2022, d'après (ANSES 2022)

Substance active	Produit commercial	Date de première autorisation
Lambda-Cyhalothrine	AGROTECH-LAMBDA-CYHALOTHRINE 100 CS	07/10/2005
	CAZEON	01/03/2010
	KARATE AVEC TECHNOLOGIE ZEON	01/12/2000
	LAMBDASTAR	Non indiquée
	REALCHEMIE LAMBDA-CYHALOTHRIN 100 CS	15/03/2011
	SCIHALOITE	23/10/2018
	TEST	10/06/2016
	ZELAMBDA	07/04/2006
Deltaméthrine	DECIS PROTECH	07/06/2002
	DECLINE 1.5 EW	15/09/2014
	DELTASTAR	29/01/2015
	DELTASTAR EW	20/09/2021

Les huiles essentielles ont été suggérées comme des alternatives aux produits phytosanitaires de synthèse car certaines sont sélectives, biodégradables en composés non-toxiques et ont peu d'effets sur l'environnement. De plus, puisqu'elles agissent via différents sites d'action, la probabilité d'une émergence de populations résistantes est faible. Cependant, il a été démontré que *Acanthoscelides obtectus* a développé une résistance aux vapeurs d'huile essentielle de lavande avec une exposition de quelques générations seulement. Les effets de divers huiles essentielles ont aussi été testés pour lutter contre *N. viridula*. Les huiles essentielles des feuilles de *Schinus molle* var. *areira*, *Aloysia citriodora*, *Origanum vulgare* et *Thymus vulgaris* ont montré un potentiel effet insecticide contre *N. viridula* (Werdirn González et al. 2013). Les huiles de *Origanum vulgare* et *Thymus vulgaris* ont montré un effet ovicide et fumigant contre les larves et adultes mais il est cependant fortement dose dépendant ainsi qu'un effet répulsif sur les larves L2. Ces deux huiles essentielles ont la même toxicité de contact sur les nymphes mais *T. vulgaris* semble plus toxique envers les adulte que *O. vulgare* (Werdirn González et al. 2011). Par ailleurs, ces deux huiles essentielles se sont révélées hautement sélectives quand utilisées en tant que fumigant et n'ont pas montré d'effets sub-létaux contre *Trissolcus basalis* le principal parasitoïde des œufs de *N. viridula*. Un jour après application, *O. vulgare* diminue le parasitisme potentiel mais n'affecte pas la survie des stades immatures de *T. basalis*. Une semaine après application *O. vulgare* et *T. vulgaris* n'ont plus d'effets sur *T. basalis* et ne modifient pas son comportement. Ainsi, les lâchers de *T. basalis* pourraient être effectués une semaine après le traitement sans aucune conséquence sur leur efficacité. Ces huiles essentielles ont par ailleurs montré des effets répulsifs et insecticides envers d'autres insectes non parasitoïdes.

Les huiles de *Aloysia polystachya* et *A. citriodora* inhibent l'éclosion, ont un effet répulsif et une haute toxicité de contact envers les larves L2. Le résultat est là aussi fortement dépendant de la concentration et durée d'exposition (Werdirn González et al. 2010).

Les effets des différents extraits de végétaux cités sont résumés dans le Tableau 4.

### 7.3 Champignons entomopathogènes

Les Pentatomidae sont peu sensibles aux attaques fongiques lors d'essais au laboratoire. Peu d'épidémies naturelles associées à des champignons entomopathogènes ont été reportées pour des populations de punaises de cette famille (Lopes et al. 2015).

*Nezara viridula* est connue pour sa résilience face aux attaques fongiques. Chez les Pentatomidae résilients aux champignons, la phase gazeuse de leurs sécrétions défensives possède un fort effet inhibiteur de la germination fongique. Pour *N. viridula* elle peut même avoir un effet fongicide (Lopes et al. 2015).

Les champignons entomopathogènes *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* tuent les arthropodes sensibles via la germination de propagules infectieux sur la cuticule, suivi de leur pénétration et propagation dans l'hémocoel des insectes. Il a été démontré que des extraits d'une fraction spécifique des sécrétions de *N. viridula* ont des propriétés antimicrobiennes (fongistatique) quand ils sont en contact direct avec le champignon entomopathogène *M. anisopliae*. Les extraits de ces sécrétions ont aussi un effet fongistatique voire fongicide sur la germination des conidies de *B. bassiana*. Chez *N. viridula*, le (E)-2-decenal contenu dans ses sécrétions défensives est capable d'inhiber la germination de *M. anisopliae* mais pas de *B. bassiana*. Ainsi, lors d'essais au champ avec des doses très élevées de *B. bassiana* et *M. anisopliae* ( $1.5 \times 10^{13}$  conidies/ha), la mortalité de *N. viridula* enfermées dans des cages lors d'essai au champ après application, était seulement de 17 à 41% (Lopes et al. 2015; Sosa-Gomez, Boucias, Nation 1997).

Tableau 4 - Résumés des effets des extraits de végétaux cités, Hélène Lauro, 2022

Type d'extrait testé	Nom du végétal	Effets
Extraits de fruits	<i>Melia volkensii</i>	Baisse de l'activité de nourrissage
		Perturbation de la croissance (malformations)
Huile essentielle	<i>Schinus molle</i> var. <i>areira</i>	Insecticide
	<i>Aloysia citriodora</i>	Insecticide
	<i>Aloysia polystachya</i>	Inhibition de l'éclosion
		Répulsif (larves stade 2)
		Toxicité de contact (larves stade 2)
	<i>Origanum vulgare</i>	Ovicide
<i>Thymus vulgaris</i>	Fumigant	
	Répulsif (larves stade 2)	
	Toxicité de contact (larves)	

## 7.4 Parasitoïdes

Peu de parasitoïdes attaquent régulièrement *N. viridula* et avec des taux importants (CABI 2021). 57 espèces de parasitoïdes appartenant aux diptères et Hyménoptères parasitent *N. viridula*, 41 sont des parasitoïdes des œufs. Les Tachinidae sont les seuls à parasiter les adultes (comme *Trichopoda pennipes* qui parasiterait principalement les mâles (CABI 2021)), (Figure 8) (Jones 1988).

### II. Le parasitoïde oophage *Trissolcus basal*

#### 1. Présentation

*Trissolcus basal* est un insecte de l'ordre des Hyménoptères de la famille des Scelionidae (ANSES 2020). En 2005, 170 espèces du genre *Trissolcus* avait été identifiées. Ce parasitoïde des œufs de punaises de la famille des Pentatomidae a comme hôte préférentiel *Nezara viridula*. L'espèce serait plutôt oligophage mais en conditions artificielles ou quand les hôtes préférentiels ne peuvent être trouvés, il peut se reproduire avec succès dans les œufs d'autres espèces (Austin, Johnson, Dowton 2005; Anonyme 2014). Un premier cas de *T. basal* parasitant *Halyomorpha halys* a été observé aux États unis. Les œufs pondus dans cet hôte se développent et des adultes en émergent (Balusu et al. 2019).

*T. basal* est présent naturellement en France métropolitaine et dans d'autres pays européens comme en Italie et en Espagne (ANSES 2020). Il a été découvert pour la première fois en 1894 dans les Caraïbes et serait originaire d'Égypte. Sa première introduction afin de lutter contre *Nezara viridula* remonte à 1933 avec son introduction en Australie. La souche actuellement utilisée en lutte par introduction est originaire d'Amérique du Nord (Anonyme 2014; Austin, Johnson, Dowton 2005).

#### 2. Cycle de développement

Dès les premiers jours après émergence les femelles peuvent pondre entre 90 et 300 œufs selon les sources (Liljeström, Cingolani, Roggiero 2014; Anonyme 2014). Chaque œuf est pondu dans un œuf de l'hôte. Chez *Nezara viridula*, les œufs parasités sont bruns 7 jours après parasitisme et argentés 10 à 12 jours après parasitisme (Figure 9). Au bout de 9 à 12 jours après parasitisme des adultes en émergent (Figure 10) et s'accouplent immédiatement après éclosion ; l'espèce étant faiblement synovigénique (la plupart des œufs sont matures à l'émergence) (Liljeström, Cingolani, Roggiero 2014). La durée du développement larvaire est variable et dépendante de la température. A 22°C, les mâles se développent en 15 jours et 17,1 jours pour les femelles. Ce sont les adultes qui hivernent. Ils mesurent de 1 à 1,3mm avec un corps entièrement noir, des antennes coudées et un abdomen renflé (Figure 11) (Anonyme 2014).

#### 3. Comportement et parasitisme

Les parasitoïdes des œufs ont un fitness dépendant de leur capacité à trouver des œufs rapidement. En effet, ils doivent pondre dans des œufs les plus frais possible afin d'éviter que l'embryon de l'hôte n'ait commencé son développement, ce qui le rend impropre au développement du parasitoïde (Colazza et al. 2009).



Figure 8 - Adulte de *Nezara viridula* avec un œuf de *Trichopoda pennipes*,; Hélène Lauro, 28/03/2022 (gauche) et larve de *Trichopoda pennipes* à l'intérieur d'un adulte *Nezara viridula* ; Hélène Lauro, 12/04/2022



Figure 9 - Œufs parasités de *Nezara viridula*, 7 jours après parasitisme (gauche) et 10-12 jours après parasitisme (droite) ; Koppert, 2021



Figure 10 - Adulte de *Trissolcus basalis* émergeant d'œufs de *Nezara viridula* parasités ; Hélène Lauro, 11/05/2022



Figure 11 - Adulte de *Trissolcus basalis* (mâle à gauche et femelle à droite) ; Hélène Lauro, 07/2022

Les Scelionidae qui parasitent les œufs des punaises peuvent utiliser différents types de sémiochimiques pour localiser les habitats et micro habitats de leurs hôtes à longue portée. Ces composés comprennent des composés volatiles émis par les plantes endommagées par le nourrissage et la ponte, les phéromones sexuelles, les sécrétions défensives volatiles des glandes métathoraciques (chez les adultes) et dorsale abdominale (chez les larves) ou des extraits des corps entiers des insectes (Laumann et al. 2009). L'efficacité des insectes parasitoïdes peut être modulée positivement par les plantes via des propriétés physicochimiques des cires des feuilles permettant l'adsorption et la libération de composés volatiles ou kairomones. Cet effet a déjà été observé chez d'autres parasitoïdes (Colazza et al. 2009).

### 3.1 Recherche et détection à longue portée

- Émission de composés volatiles par les végétaux

Les plants de haricots *Vicia faba* et *Phaseolus vulgaris* endommagés par l'activité de nourrissage de *Nezara viridula* et sur lesquels des ooplaques sont présentes produisent des composés volatiles attirants les femelles parasitoïdes. Ces synomones ne sont pas sécrétées par les plants sur lesquels seuls des œufs sont présents et les plantes ne sont plus attractives une fois les œufs éclos (Colazza, McElfresh, Millar 2004). Cependant l'activité de nourrissage d'un autre insecte ravageur comme *Sitona lineatus*, la sitone du pois (larves ou adultes) peut perturber l'attraction du parasitoïde envers la plante attaquée par *N. viridula*. En effet, les dommages causés par l'insecte non hôte étant similaires, ils induiraient une réponse similaire de la plante ce qui perturberait l'attraction du parasitoïde (Moujahed et al. 2014).

- Composés volatiles défensifs de *Nezara viridula*

Le composé défensif (E)-2-decenal de *N. viridula* est utilisé comme kairomone longue portée par les femelles *T. basalis* et induit un comportement de recherche. Le parasitoïde est particulièrement attiré par les composés sécrétés par les femelles prêtes à pondre soit au stade pré-oviposition. Le comportement de recherche des femelles est aussi déclenché par le 4-oxo-(E)-2-hexenal présent dans les sécrétions glandulaires des *N. viridula* (Laumann et al. 2009; Salerno et al. 2019; CABI 2021).

### 3.2 Recherche et détection à courte portée

Le parasitoïde utilise aussi une kairomone de contact afin de différencier les femelles et mâles de *N. viridula*. Cette kairomone (nonadecane ( $nC_{19}$ )) est uniquement présente dans la cuticule des mâles et son absence chez les femelles lui permet de discriminer les traces laissées par les deux sexes. La détection de traces laissées par les femelles entraîne un comportement de recherche chez les femelles parasitoïdes (Colazza et al. 2007). Les femelles marquent un arrêt et parcourent la surface contaminée avec leurs antennes. La détection de ces composés est favorisée par les propriétés adsorbantes des cires épicuticulaires des végétaux tels que dans les feuilles de *Vicia faba* ou *Brassica oleracea* (Lo Giudice et al. 2010; Colazza et al. 2009).

### 3.3 Parasitisme de *Nezara viridula*

Le parasitisme des œufs de *N. viridula* serait indépendant de la masse des œufs. Le parasitisme total est dépendant de la proportion d'ooplaques parasitées et du nombre d'œufs attaqués par ooplaque. Il serait peu probable que *T. basalis* parasite l'ensemble d'une ooplaque sous des conditions de forte prédation des œufs.



La proportion d'œufs parasités par ooplaque diminue avec la taille de l'ooplaque. Le nombre d'œufs de la femelle parasitoïde est un facteur limitant (Liljeström, Cingolani, Roggiero 2014).

Lors de son utilisation en lutte par introduction, une augmentation du nombre d'individus lâchés ne serait pas forcément suivie par une augmentation similaire du parasitisme, et ce à cause de l'interférence entre les adultes et l'existence d'un superparasitisme au sein de l'espèce. En effet, le temps entre les ovipositions successives est court (3 heures). Les femelles qui superparasitent offrent un avantage compétitif à leur descendance en ajustant le sexe ratio en faveur des mâles. Des essais en laboratoire ont montré que lors de l'exposition d'une ooplaque à une femelle pendant 4 heures, la proportion de femelles émergentes est de 0,89 contre 0,75 si cette même plaque est exposée à 4 femelles. Ainsi, le nombre de femelles diminuerait avec l'augmentation de la population de parasitoïdes possiblement suite à une hausse du superparasitisme (Liljeström, Cingolani, Rabinovich 2013).

#### 4. Effets sub-létaux des produits phytosanitaires

Lors d'essais, *T. basalis* était peu affecté par des applications de perméthrine (pyréthrinoïdes) mais était sensible aux applications de parathion méthyl (organophosphoré) avec des effets visibles surtout pendant les 6 premières heures. Le parathion méthyl a aussi tué des parasitoïdes qui ont émergé après l'application du produit. Cela pourrait s'expliquer par l'ingestion de résidus présents sur l'extérieur de l'œufs qui seraient ingérés lorsque l'adulte coupe la membrane de l'œufs pour éclore (Shelton s.d.).

Comme évoqué précédemment, en France seules les substances actives deltaméthrine et lambda-cyhalothrine (deux pyréthrinoïdes) sont autorisées en culture d'aubergine (ANSES 2022). Cependant, directement après exposition à la deltaméthrine, les femelles *T. basalis* étaient incapables de maintenir une posture normale ou de marcher normalement. Leur vitesse est aussi diminuée mais elle retrouve une vitesse normale après 24h. De plus, les femelles traitées s'arrêtent moins longtemps lorsqu'elles trouvent la kairomone de contact de *N. viridula* et leur réponse est moins intense et moins prononcée. Ainsi, un traitement à la deltaméthrine pourrait réduire l'efficacité du parasitoïde (Salerno, Colazza, Conti 2002). Un traitement à la lambda-cyhalothrine aurait aussi pour effet de réduire le parasitisme (Zantedeschi et al. 2018).

Pour rappel, dans le cadre de la lutte contre *Nezara viridula*, les objectifs de cette étude sont :

- l'amélioration de la connaissance du cycle de vie de *Nezara viridula* via des dissections régulières des femelles afin d'en déterminer le stade de maturité ovarienne
- l'évaluation de l'efficacité du parasitoïde *Trissolcus basalis* contre *Nezara viridula* en station d'expérimentation et chez un producteur
- l'évaluation de l'efficacité de différents produits alternatifs ou compatibles avec la faune auxiliaire contre *Nezara viridula* via des essais en cage insect-proof en station ou en flacon



### III. Matériel et méthodes

#### 1. Élevage de *Nezara viridula*

Afin d'obtenir des larves et ooplaques de *Nezara viridula* pour les essais en station un élevage a été mis en place. Il a débuté le 15/03/2022 à partir d'individus récoltés dans les abris de la station de Sainte-Livrade-sur-Lot. La population d'adultes est maintenue à 40-50 individus. Des punaises étaient capturées à la station dans le cas de remplacement d'individus décédés.

Les punaises sont élevées dans des boîtes plastique de 33,5x40 cm. Elles sont nourries de haricots, tomates et graines de tournesol décortiquées biologiques. La source d'eau est constituée d'un tube à essai rempli partiellement d'eau bouché par un coton. Des abris sont à disposition sous forme de papier plié en accordéon et de papier absorbant plié (Figure 12).

La boîte est nettoyée une fois par semaine mais un passage quotidien est réalisé afin de retirer les individus morts et pupes de *Trichopoda pennipes* (Figure 13). L'eau est également changée tous les jours ainsi que la nourriture jugée impropre (graines avec début de moisissures, tomates trop piquées ou haricots secs).

Lorsqu'une ooplaque est trouvée, elle est récupérée et placée dans une boîte de Petri. Une fois les œufs éclos, les jeunes larves sont déplacées dans la boîte d'élevage des premiers stades larvaires (L1, L2, L3 et L4) de 14x24 cm (Figure 12). Une fois au stade L5, les larves sont déplacées dans une boîte spécifique. Cela permet d'éviter le risque de cannibalisme par les stades les plus âgés. Afin de séparer plus facilement les différents stades, lors du nettoyage hebdomadaire les pontes écloses dans la semaine sont placées dans une boîte spécifique.

#### 2. Amélioration des connaissances de la biologie et du cycle de vie de *Nezara viridula*

##### 2.1 Méthodes de prélèvement et suivi des parcelles

A partir du 9 février, des prélèvements d'adultes de *N. viridula* sont réalisés tous les 15 jours à la station et en parcelle de production. Lors d'un prélèvement, un minimum de 15 femelles sont capturées puis conservées dans l'alcool à 70 % pour être disséquées. Les mâles capturés ne sont pas disséqués.

Pour chacune des punaises récupérées, leur état diapausant, en fin de diapause ou sortie de diapause est noté. Les adultes totalement bruns sont considérés comme en diapause et ceux totalement verts comme sortis de diapause. Les adultes bruns présentant un début de coloration vert sont définis comme en fin de diapause. Le protocole de dissection est disponible en Annexe I. Lors de la dissection, le système reproducteur des femelles est observé et l'état plein ou vide de leur spermathèque est noté (Figure 14).

##### 2.2 Définition des stades de maturité ovarienne

La dissection des femelles a pour objectif de déterminer quand elles sont prêtes à pondre afin de placer au mieux le début des lâchers de *Trissolcus basalis*. Ainsi, 4 stades de maturité ont été identifiés d'après les travaux de (Grodowitz et al. 2020) (Tableau 5). Les observations ont été réalisées sous loupe binoculaire.

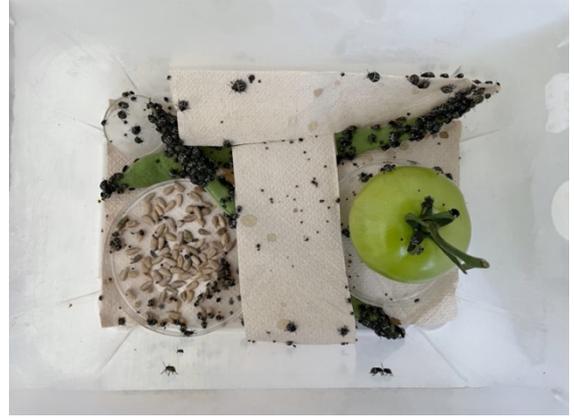


Figure 12 - Boîte d'élevage des adultes (gauche) et juvéniles (droite) de *N. viridula* ; Hélène Lauro, 06/05/2022



Figure 13 - Pupa de *Trichopoda pennipes* ; Hélène Lauro, 21/03/2022

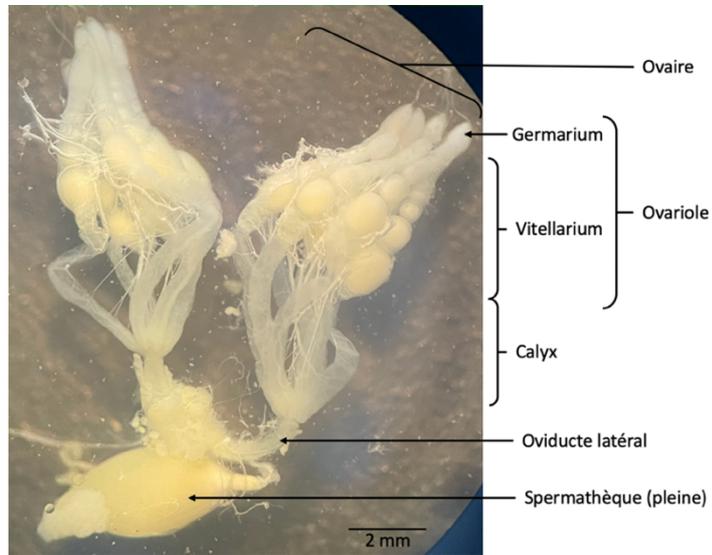


Figure 14 - Système reproducteur de femelle *Nezara viridula* ; Hélène Lauro, 04/04/2022

### 3. Évaluation de produits alternatifs

#### 3.1 Essais en cage insect-proof en station

Les essais de produits alternatifs et de produits phytosanitaires mais respectueux de la faune auxiliaire ont été réalisés à la station d'expérimentation de Sainte-Livrade-sur-Lot. Les plants étaient placés sous tunnel 5 mètres en cages individuelles avec filet insect-proof. La culture était menée en pot fertilisé et irrigué par goutte à goutte (Figure 15). La variété utilisée était la variété Monarca franc. Les plants ont été plantés le 31/05/2022. Chaque cage, contenant un plant était inoculée avec 10 larves de *N. viridula*, soit 5 larves dites jeunes (stades L2 et L3) et 5 larves dites âgées (stades L4 et L5). 4 répétitions d'une plante par modalité étaient réalisées.

Deux applications de produits sont réalisées à 7 jours d'intervalle avec un atomiseur à dos à jet pneumatique avec un volume d'eau de 800 L/ha. L'application se fait des deux côtés des plantes. Des papiers hydro sensibles ont été utilisés afin d'évaluer la qualité de la pulvérisation à travers les cages qu'elles soient fermées ou ouvertes en comparaison avec un plant sans cage. Deux papiers sont placés dans les 4 cages de la modalité eau sur la face supérieure et inférieure d'une feuille médiane.

Lors de la première série, les traitements ont été réalisés avec les cages fermées. Cependant, les résultats obtenus avec les papiers hydrosensibles montrent une nette réduction de la quantité de solution appliquée sur le plant lorsque le traitement est effectué à travers la cage par rapport à un plant sans cage. Ainsi, pour la deuxième série, le traitement est effectué avec la porte de la cage ouverte. Un seul traitement a été effectué pour la deuxième série car les papiers hydrosensibles ne montraient pas d'amélioration dans la qualité de la pulvérisation qu'elle soit réalisée avec la porte ouverte ou fermée.

Les témoins négatifs et positifs étaient de l'eau et le produit conventionnel Deltastar (Deltaméthrine) respectivement. Deux séries d'essais ont été menées, les produits testés sont détaillés Tableau 6.

Le nombre d'individus vivants était compté à J+0, J+1, J+3, J+7 et J+14 après le premier traitement lors de la première série. Lors de la seconde série, le nombre d'individus vivants était noté à J+0, J+3, J+7 et J+14.

#### 3.2 Essais en flacon : huile essentielle de thym

L'essai a été réalisé à la station d'expérimentation de Sainte-Livrade-sur-Lot. Il y avait 4 répétitions par modalité. L'huile essentielle utilisée est une huile essentielle bio de thym à thymol (*Thymus vulgaris*) de la marque Le comptoir Aroma. Pour chaque modalité testée, 1,5mL de solution était déposés sur un papier filtre imprégné de charbon actif de 70 cm de diamètre (référence A070740-AD). Le papier filtre imprégné était déposé dans un flacon de 125 cm<sup>3</sup>. Chaque flacon est inoculé avec 10 larves de *Nezara viridula* au stade 3 auxquelles étaient ajoutés 4 graines de tournesol bio décortiquées et un coton imbibé d'eau afin de permettre aux larves de se nourrir (Figure 16).

Tableau 5 - Description des 4 stades de maturité ovarienne identifiés ; Hélène Lauro, 2022

Nom du stade	Description	Exemple
Immature	Pas de follicules dans les ovarioles ou follicules immatures (transparents)	
Quelques follicules	Présence de quelques follicules en développement dans les ovarioles	
Mature	Présence de follicules matures (entièrement blancs/jaunes) dans les ovarioles	
Prête à pondre	Présence de follicules matures dans les ovarioles, des œufs peuvent être présents dans les oviductes ; reliques de follicules jaune pâle (mais pas à la base des ovarioles)	

Les témoins utilisés étaient de l'eau (Eau) et de l'alcool à 70° (Alcool). Cinq modalités étaient testées, avec l'application de :

- 2 gouttes d'huile essentielle (soit environ 62 mg d'huile essentielle) diluée dans 1,5 mL d'alcool à 70° (Alcool + HE) ou d'eau distillée (Eau + HE) ou dans un mélange avec 50% d'eau distillée et 50% d'alcool à 70° (  $\frac{1}{2}$  Alcool + HE)
- 1 goutte d'huile essentielle (soit environ 31 mg) 1,5 mL d'alcool à 70° (Alcool +  $\frac{1}{2}$  HE) ou dans un mélange avec 50% d'eau distillée et 50% d'alcool à 70° (  $\frac{1}{2}$  Alcool +  $\frac{1}{2}$  HE) .

Le nombre d'individus vivants était compté à J+0, J+1, J+2, J+3, J+7 et J+14.

### 3.3 Analyse des résultats et analyse statistique

Pour l'analyse des essais en cage et en flacon, les données brutes enregistrées sont, pour chaque date, le nombre d'individus vivants pour chaque plant (ou flacon) et traitement. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (version 1.4.1103). Les courbes de survie de Kaplan-Meier des individus en fonction du traitement ont été tracées (package `survminer`). Une ANOVA est réalisée pour les deux séries en cage et pour l'essai en flacon (`aov()`). Des comparaisons multiples sont effectuées pour les deux séries d'essais en cage et l'essai en flacon via les tests de Student-Newman-Keuls (`SNK.test()`, package « `agricolae` ») et de Dunnett (`glht()`, package « `multcomp` »).

Tableau 6 - Caractéristiques des produits testés lors des essais en cage et dates d'application ; Hélène Lauro, 2022

Série	Nom commercial	Substance active	Dose /ha (kg ou L)	Date du traitement 1		Date du traitement 2
				Série 1	Série 2	Série 1
1 et 2	Deltastar	Deltaméthrine 15g/L	0,83	28/06/2022	22/07/2022	05/07/2022
1 et 2	Silicosec	Kieselgur (terre à diatomées) 920g/kg	75	28/06/2022	22/07/2022	05/07/2022
1 et 2	Benevia	Cyantranilprole 100g/L	0,75	28/06/2022	22/07/2022	05/07/2022
1 et 2	Neemazal	Azadirachtine 9,8g/L	3	28/06/2022	22/07/2022	05/07/2022



Figure 15 - Tunnel 5m avec les plants des essais en cages ;  
Hélène Lauro, 27/06/2022

## 4. Évaluation de l'efficacité du parasitoïde *Trissolcus basal*

### 4.1 Choix et installation de la culture : en station et chez un producteur

- En station

Sur le site expérimental de Sainte-Livrade-sur-Lot, deux compartiments de 400 m<sup>2</sup> dans un abri en double paroi gonflable sont utilisés pour l'essai. La variété Monarca sur porte-greffe tomate Kaiser a été plantée le 14/03/2022. La culture était menée en hors-sol, en antigel en plantation semi-précoce sur pain de laine de roche. Dans chaque compartiment, l'installation était constituée de 10 rangs de 17 sacs sur lesquels étaient plantés 3 plants. La ferti-irrigation s'effectuait au goutte-à-goutte avec 5 goutteurs de 2 L par sac. Les plants sont menés en conduite à 4 bras (Figure 17).

- Chez le producteur

L'essai en production était mené au SCEA DEMETER BEAULIEU situé à Puch-d'Agenais (47) sous serre verre en hors-sol sur substrat laine de roche dans 2 compartiments de 1ha. La variété plantée semaine 10 est la variété Monarca avec 2 plants par sac. Chaque compartiment de 1ha compte 61 rangs de 106 sacs (Figure 17).

### 4.2 Mise en place des essais

Chez le producteur, le dispositif expérimental comprenait un compartiment de 1ha sans lâcher de *T. basal* (témoin) et un compartiment de 1ha avec lâcher de *T. basal*. Dans chaque compartiment, 40 plants répartis aléatoirement étaient suivis de façon hebdomadaire. L'ensemble des dates de lâcher sont résumées Tableau 7. Les individus sont apportés sous forme d'œufs parasités.

A la station, les lâchers étaient réalisés dans les deux compartiments. En effet, il n'était pas possible de mettre en place un compartiment témoin sans lâchers car les populations de punaises arrivaient par introduction naturelle et les deux compartiments n'ont pas la même pression en punaises. Le compartiment 13 a une pression naturelle plus élevée que le compartiment 15.

Les *Trissolcus basal* sont introduits en station et chez le producteur à la densité de 1,5 individus par m<sup>2</sup>. En station, les 600 individus par compartiment sont répartis dans 4 DIBOX (Figure 18). Les lâchers hebdomadaires ont débuté le 14/04/2022 pour l'essai en station et le 13/05/2022 chez le producteur. Les dates, doses et compartiments dans lesquels ont été effectués les lâchers sont résumés Tableau 8.

### 4.3 Méthode de suivi

Dans chaque compartiment, 40 plants chez le producteur et 20 plants en station, répartis aléatoirement, étaient suivis de façon hebdomadaire.

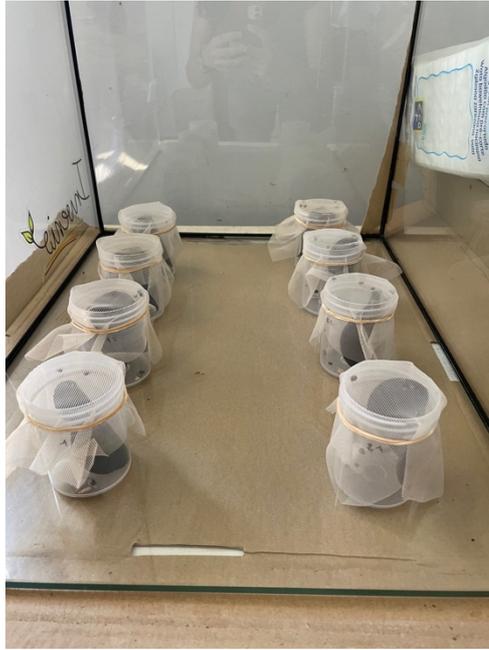


Figure 16 – Exemple de flacon utilisé pour l'essai en flacon ; Hélène Lauro, 26/07/2022



Figure 17 - Installation des plants en station (gauche) et chez le producteur (droite) ; Hélène Lauro, 2022

Sur chacun des plants étaient notés :

- le nombre d'adultes, de larves et d'ooplaques
- pour chaque ooplaque, le pourcentage de catégorie de chaque type d'œuf :
  - parasités (marrons ou argentés)
  - non parasités (jaunes ou rouges)
  - éclos parasités (bruns)
  - éclos non parasités (transparentes)
- le pourcentage d'apex touchés
- sur 2 bras par plante, le pourcentage de boutons floraux touchés

En station, les ooplaques trouvées sont marquées et la date de découverte est notée. Les plants marqués sont suivis indépendamment des 20 autres plants. L'objectif est de suivre l'évolution des ooplaques et d'évaluer le parasitisme de *T. basalis*.

De plus, la production est suivie sur 4 répétitions de 9 plantes par compartiment. Les variables étudiées sont le rendement net et le pourcentage de fruits piqués.

#### 4.4 Analyse des résultats et analyses statistiques

En station, les données de suivi des dégâts et population de punaises ont fait l'objet d'analyses graphiques. En effet, l'absence de témoin dans le dispositif expérimental ne permet pas d'analyses statistiques.

Chez le producteur, les données brutes enregistrées pour chaque date sont le nombre de larves, le nombre d'adultes, le pourcentage d'apex touchés et le pourcentage de boutons touchés pour chacun des plants notés et pour les deux modalités. Un test de comparaison de moyenne (Wilcoxon, `wilcoxon.test()`) est réalisé pour chaque date pour chaque variable mesurée.

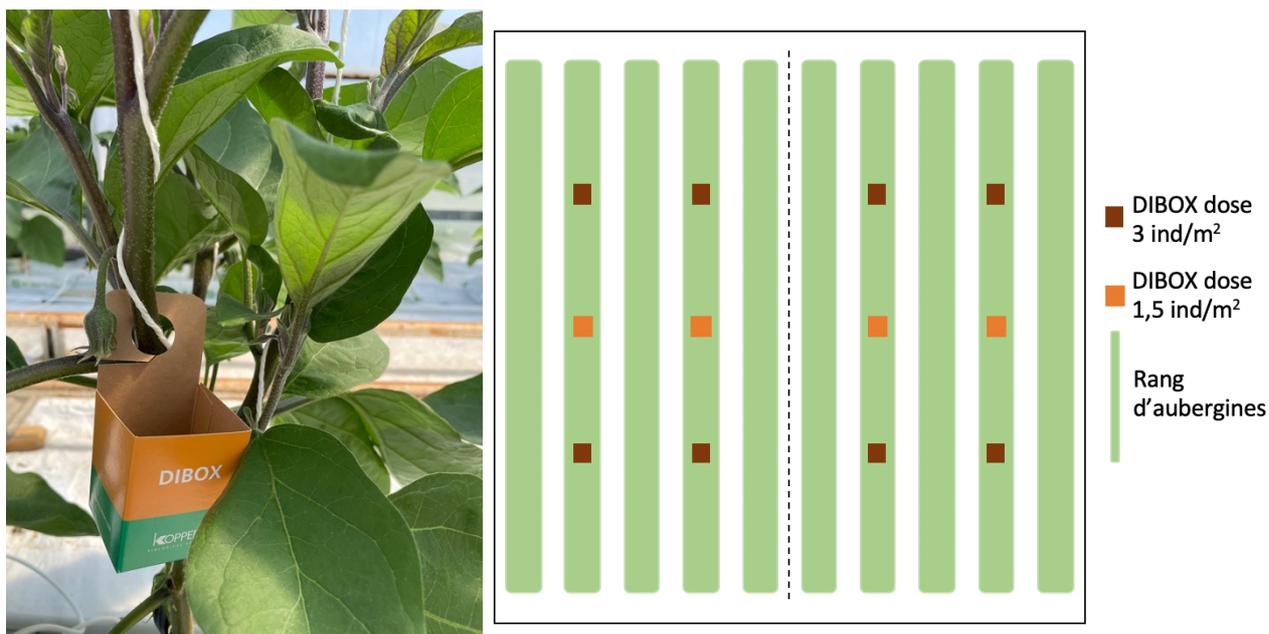


Figure 18 - DIBOX servant aux lâchers et leur localisation dans les compartiments en station ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 7 - Dates de lâcher et doses apportées   la station ; Hélène Lauro, 2022

Semaine	Date	Dose/m <sup>2</sup>	Compartiment
15	14/04	1,5	13 et 15
16	21/04	1,5	13 et 15
18	05/05	1,5	13 et 15
19	12/05	1,5	13 et 15
22	30/05	1,5	13 et 15
22	02/06	1,5	13 et 15
23	09/06	3	15
24	16/06	3	13 et 15
25	23/06	3	13 et 15
26	01/07	3	13 et 15
27	07/07	1,5	13 et 15
28	12/07	1,5	13 et 15
30	29/07	1,5	13
31	01/08	1,5	15
31	05/08	1,5	13 et 15
32	11/08	1,5	13 et 15
33	18/08	1,5	13 et 15

Tableau 8 - Dates de lâcher chez le producteur

Semaine	Date	Dose/m <sup>2</sup>	Dose/ha
19	13/05	1,5	15 000
20	20/05	1,5	15 000
21	28/05	1,5	15 000
22	01/06	1,5	15 000
23	10/06	3	30 000
25	22/06	1,5	15 000
25	25/06	1,5	15 000
26	01/06	1,5	15 000
27	06/07	1,5	15 000
30	30/07	3	30 000
31	06/08	1,5	15 000
33	20/08	1,5	15 000

## IV. Résultats

### 1. Suivi de la maturité ovarienne des femelles

Au total 20 prélèvements ont été réalisés et ont permis la capture de 582 adultes dont 286 femelles qui ont été disséquées (Tableau 9).

A la station le 09/02/2022, la totalité des punaises étaient en diapause ou fin de diapause tandis que le 24/02/2022, 18% des individus étaient sortis de diapause. Dès le 18/03/2022, des individus sortis de diapause étaient présents dans les cultures d'aubergine. Au 24/04/2022, la totalité des punaises étaient sorties de diapause.

Concernant les spermathèques, certaines étaient pleines dès le 18/03/2022. Seuls les individus sortis de diapause peuvent avoir une spermathèque pleine mais ils peuvent aussi avoir une spermathèque vide. 58% des individus sortis de diapause ont une spermathèque pleine.

Seules les femelles sorties de diapause présentent les stades « quelques follicules », « mature » et « prête à pondre ». Les individus en diapause sont toujours au stade « immature » (Figure 19). La vitesse de maturation des punaises est variable selon le site de prélèvement. Sur le site de Lalandette à Sainte-Livrade-sur-Lot, sur fraise en serre verre chauffée, 18% des femelles étaient prêtes à pondre dès le 29/03/2022. A la station le stade prêt à pondre est visible à partir du 25/04/2022 avec 50% des femelles à ce stade (Figure 20).

A la station, la première ponte a été observée le 25/04/2022 et les premières larves le 20/05/2022. Les premiers adultes issus des pontes ont commencé à apparaître le 13/06/2022.

Chez le producteur, à la SCEA DEMETER BEAULIEU, la première ponte a été trouvée semaine 15 (11/04 – 17/04) par le producteur. Au cours des notations, la première ponte a été trouvée le 01/06/2022 soit 7 semaines plus tard.

### 2. Essais de produits alternatifs

#### 2.1 Essais en cage

##### *Première série*

Dans le cas de traitement avec les cages fermées, à J+1 après le premier traitement, la modalité Deltastar se distingue des 4 autres modalités avec une probabilité de survie de 81% tandis qu'elle est de 94%, 98%, 99% et 98% pour le Benevia, le Neemazal, le Silicosec et l'Eau respectivement. Lors de la dernière notation, (14 jours après le premier traitement et 7 jours après le deuxième traitement), la probabilité de survie du Deltastar se distingue nettement de celle des autres modalités (Figure 21). Les probabilités de survie sont de 0%, 17%, 40%, 49% et 45% respectivement pour le Deltastar, le Benevia, le Neemazal, le Silicosec et l'Eau.

Tableau 9 - Liste des différents prélèvements réalisés

Lieu	Date	Culture	Nombre prélevé	Femelles	Mâles
DPG	09-févr	couloir	5	1	4
Hangar	09-févr	engrais	14	8	6
Hangar	24-févr	engrais	84	35	49
Hangar	07-mars	engrais	50	25	25
Serre Lalandette	18-mars	fraises	47	17	30
Hangar	21-mars	engrais	35	18	17
DPG15	25-mars	aubergine	1	1	0
DPG13	25-mars	aubergine	11	5	6
Simple paroi	25-mars	fraises	6	4	2
Serre verre	25-mars	fraises	1	1	0
Serre Lalandette	29-mars	fraises	40	17	23
Hangar	11-avr	engrais	23	11	12
G_Geneste	11-avr	aubergine	39	20	19
R_Baudas	11-avr	poivron	24	12	12
Simple paroi	12-avr	fraises	15	9	6
J-J_Turc	19-avr	concombre	22	11	11
DPG13	25-avr	aubergine	44	26	18
J-J_Turc	03-mai	concombre	15	9	6
Serre Lalandette	03-mai	concombre	37	22	15
DPG	01-juillet	aubergine	56	28	28

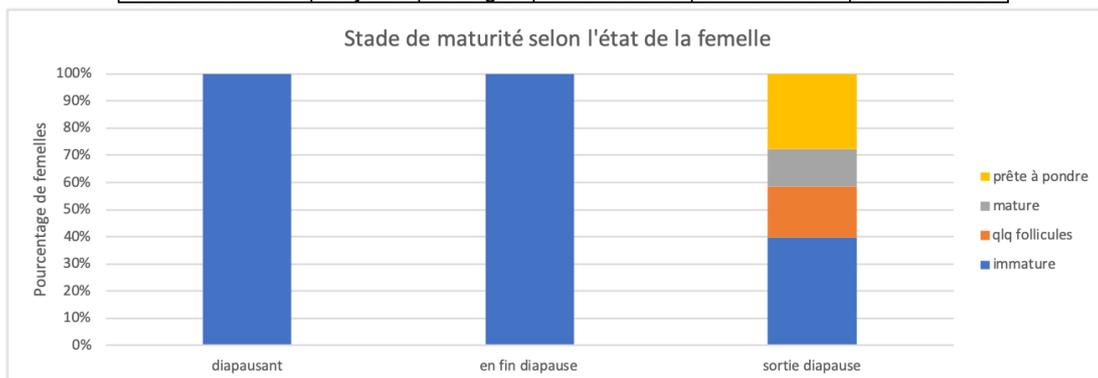


Figure 19 – Stade de maturité ovarienne selon l'état de la femelle ; Hélène Lauro, 2022

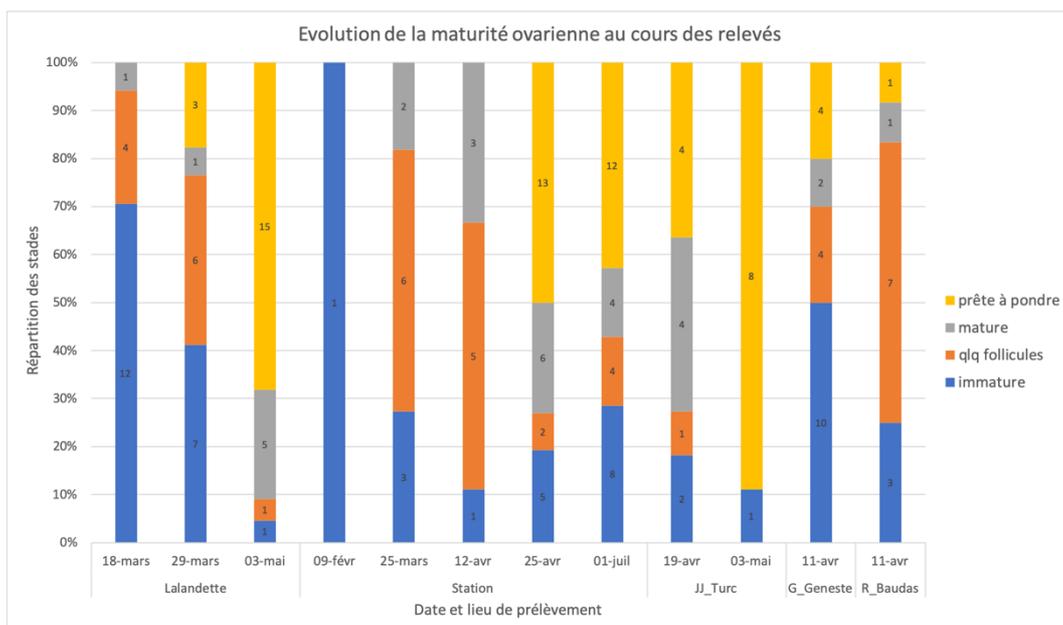


Figure 20 - Maturité ovarienne par date et lieu de prélèvement ; Hélène Lauro, 2022

Le 12/07, 14 jours après le premier traitement, le type de traitement appliqué a un effet sur la survie des punaises (p-valeur ANOVA = 0,001). Les tests de comparaison des moyennes définissent 3 groupes (test de Student-Newman-Keuls). Ainsi, d'après le test de Dunnett réalisé avec l'eau comme référence, le Silicosec et le Neemazal ne se distinguent pas du témoin eau (p-valeur de 1 et 0,96 respectivement) et le Benevia a une efficacité légèrement supérieure mais qui reste faible (p-valeur = 0,0206). Cependant, lorsque le test de Dunnett prend comme référence le Deltastar, le Benevia obtient une p-valeur de 0,08, il ne serait pas significativement différent. Les p-valeurs obtenues via les tests de Dunnett et les groupes formés sont résumés Tableau 10.

### *Deuxième série*

Le traitement a eu lieu le 22/07. Un seul traitement a été réalisé car le test avec les papiers hydrosensibles ne montrait pas de différence dans la qualité de la pulvérisation par rapport à un traitement réalisé avec la porte ouverte. Dès 3 jours après l'application du traitement, le Deltastar induit une probabilité de survie inférieure aux autres modalités testées, avec une probabilité de 69% contre 86%, 91%, 94% pour le Benevia, le Silicosec et l'Eau et Neemazal respectivement. A 14 jours après l'application du traitement, la différence est encore plus marquée. Les probabilités de survie sont de 2%, 27%, 32%, 53% et 51% respectivement pour le Deltastar, le Benevia, le Silicosec, l'Eau et le Neemazal Figure 22.

Lors de cette série d'essai, seul le Deltastar se distingue des autres modalités. Les tests de comparaison des moyennes définissent deux groupes constitués de l'eau, du Neemazal, du Silicosec et du Benevia pour l'un et du Deltastar pour l'autre (test de Student-Newman-Keuls). Lors du test de Dunnett avec l'eau en référence, seul le Deltastar est significativement différent (p-valeur < 0,001). Les p-valeurs obtenues via les tests de Dunnett et les groupes formés sont résumés Tableau 11.

## 2.2 Essai en flacon de l'huile essentielle de thym

Le lendemain de la mise en place de l'essai, trois groupes se distinguent (Figure 23), soient, un comprenant les modalités Alcool + HE et Alcool + ½ HE, un autre constitué des modalités Alcool, ½ Alcool + HE et ½ Alcool + ½ HE, le dernier est constitué des modalités Eau et Eau + HE. Ces groupes sont aussi définis par le test de comparaison multiple de Student-Newman-Keuls (Tableau 12).

Ainsi les modalités les plus efficaces pour tuer les larves de punaises de stade 3 sont les modalités Alcool + HE et Alcool + ½ HE avec une probabilité de survie de 45% et 51% à J+3, suivi des modalités Alcool, ½ Alcool + HE et ½ Alcool + ½ HE avec une probabilité de survie de 79%, 78% et 79% à J+3. Les modalités Eau et Eau + HE ont chacune une probabilité de survie de 100% et 99% à J+3 (Figure 23).

L'ANOVA réalisée pour les données de J+1 et J+2 indique que pour ces deux relevés le type de traitement appliqué a un effet sur la survie des punaises (p-valeur ANOVA < 0,001). Le test de Dunnett avec pour référence l'eau nous montre que dès 2 jours après le traitement, les modalités Alcool + HE et Alcool + ½ HE sont significativement différentes du témoin eau (p-valeur < 0,001). Les modalités Alcool, ½ Alcool + ½ HE et ½ Alcool + HE sont, elles, significativement différentes du témoin eau à partir de J+7 (p-valeurs de 0,024, 0,015 et 0,001 respectivement). La modalité Eau + HE n'est pas significativement différente de l'eau 14 jours après le traitement (p-valeur de 0,406 à J+14) (Tableau 12).

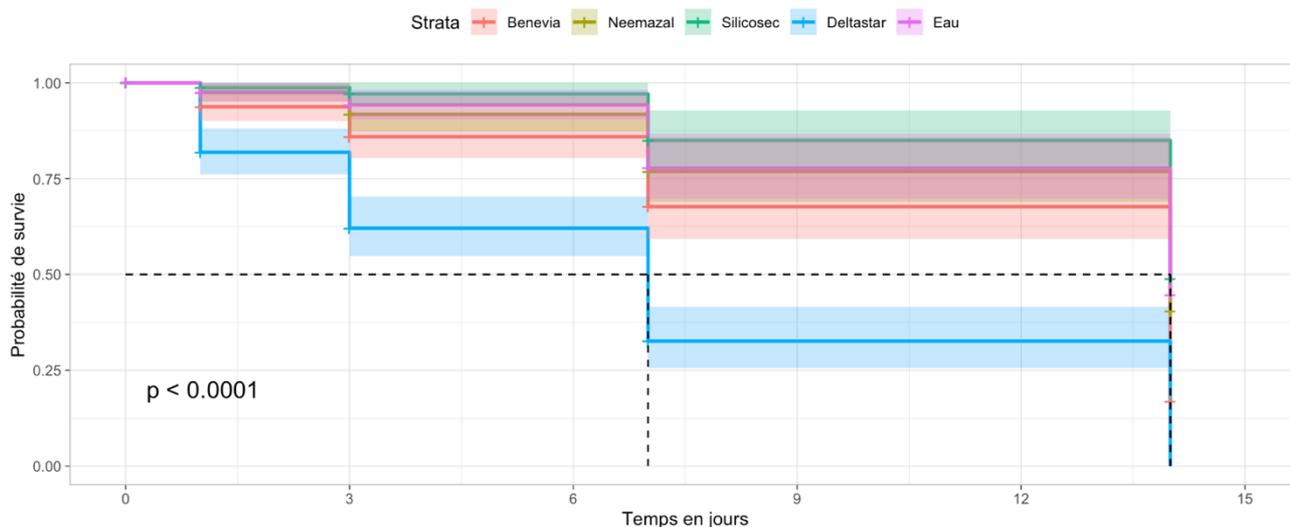


Figure 21 – Courbe de survie de Kaplan-Meier des larves en fonction du traitement pour la première série ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 10 - Résultats des tests réalisés à J+14 pour la première série ; Hélène Lauro, 2022

Modalité	p-valeur du test de Dunnett (référence = Eau)	p-valeur du test de Dunnett (référence = Deltastar)	Groupes du test SNK
Eau	/	<math><0,001^{***}</math>	a
Benevia	0,0206*	0,0842	b
Neemazal	0,9651	<math><0,001^{***}</math>	a
Silicosec	1,000	<math><0,001^{***}</math>	a
Deltastar	<math><0,001^{***}</math>	/	c

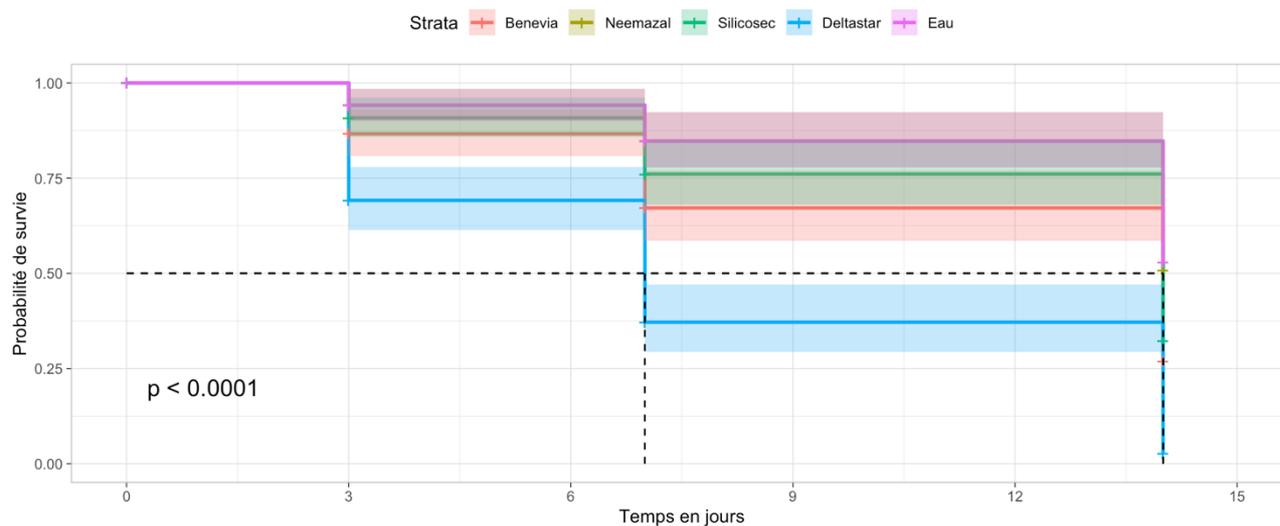


Figure 22 - Courbe de survie de Kaplan-Meier des larves en fonction du traitement pour la deuxième série ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 11 - Résultats des tests réalisés à J+14 pour la deuxième série ; Hélène Lauro, 2022

Modalité	p-valeur du test de Dunnett (référence = Eau)	p-valeur du test de Dunnett (référence = Deltastar)	Groupes du test SNK
Eau	/	<math><0,001^{***}</math>	a
Benevia	0,149	0,0257*	a
Neemazal	0,998	<math><0,001^{***}</math>	a
Silicosec	0,149	0,0253*	a
Deltastar	<math><0,001^{***}</math>	/	b

### 3. Suivi des individus et de leurs dégâts en station

Les punaises adultes sortant de diapause sont arrivées à la mi-mars et les premières copulations étaient observables dès le 22/03, soit 9 jours après plantation. Ces adultes ont été présents jusqu'à mi-mai. Les premières larves ont été observées le 20/05 avec un pic de présence du 20/05 au 23/06. La première génération d'adultes est apparue mi-juin et la deuxième génération de larves fin-juillet (Figure 24).

Les différents traitements réalisés dans les compartiments sont résumés Tableau 13.

#### 3.1 Résultats sur les populations de punaises

Dans le compartiment 15, le nombre de larves et adultes ne dépasse pas 0,5 individus par plant. Tandis que dans le compartiment 13, il y a deux pics de présence des adultes, d'avril à mi-mai et mi-juin à mi-juillet avec 1 à 1,5 adultes par plant. Ils correspondent au retour des premiers adultes sortant de diapause après le traitement Karaté K puis de la première génération composée des larves arrivant au stade adulte. Un pic de présence des larves s'étend de mi-mai à mi-juin. Ces pics de présence sont aussi visible dans le compartiment 15 dans une moindre mesure. De plus, il y a un deuxième pic de présence des larves fin juillet dans ce compartiment (Figure 25).

Le compartiment 13 était soumis à une plus grande pression en punaise avec jusqu'à 56 adultes observés simultanément. Dans ce compartiment, 9 traitements phytosanitaires ont été réalisés dont 4 ciblant les punaises. Dans le compartiment 15, 6 traitements phytosanitaires ont été réalisés dont 2 ciblant les punaises (Tableau 13). Ainsi, dans les deux compartiments 40% des traitements appliqués ont eu pour cible les punaises.

#### 3.2 Résultats sur les dégâts

Dans le compartiment 15, les dégâts sur les boutons sont limités à 20% jusqu'à début juillet tandis qu'ils atteignent 60% dans le compartiment 13 début juin et début juillet. Dans le compartiment 13, les apex ont deux pics de dégâts d'avril à mi-mai et fin mai à début juillet. Trois pics de dégâts sur les boutons sont visibles d'avril à mi-mai, fin mai à fin-juillet et début août (Figure 26).

Les premiers pics de dégâts sur les correspondent à l'arrivée et la période de présence des adultes sortant de diapause. Les seconds pics correspondent à la période de présence des premières larves et de la première génération d'adultes. Le dernier pic de dégâts sur les correspond à l'arrivée des larves de deuxième génération (issues des adultes de la première génération de larves).

Dans le compartiment 15, les dégâts sur les boutons augmentent brusquement fin juillet pour atteindre un pic début août avec 60% de dégâts. Ce pic correspond à une éclosion massive de pontes de *Nezara viridula* sur cette période avec l'arrivée des larves de deuxième génération. La hausse de populations de larves n'est pas visible Figure 25 puisque les foyers d'éclosion sont suivis séparément. Ainsi le 28/07, deux foyers récents ont été trouvés comptant 20 et 50 larves de jeunes stades (2 et 3).

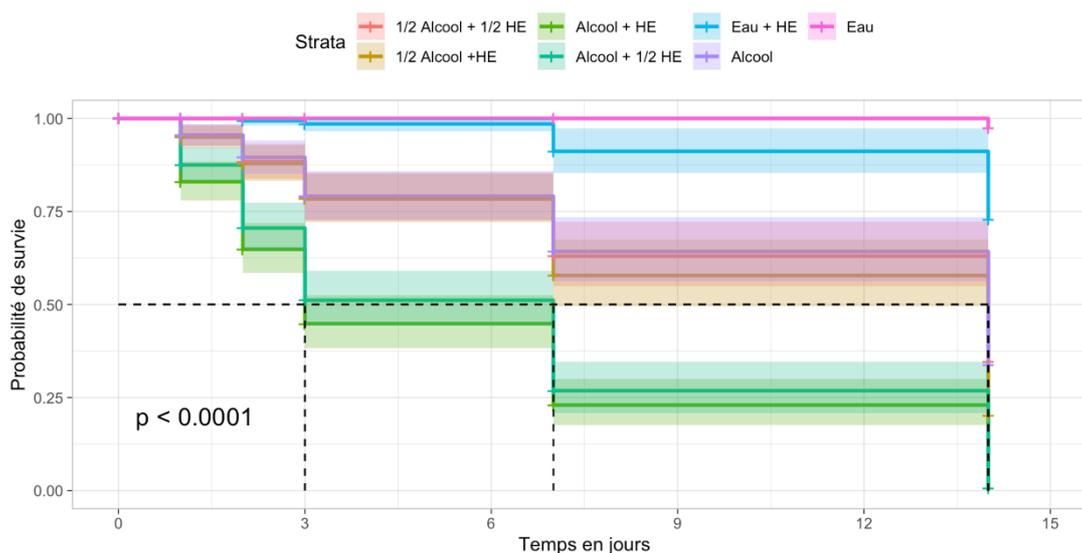


Figure 23 - Courbe de survie de Kaplan-Meier des larves en fonction du traitement pour l'essai en flacon ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 12 - Résultats des tests réalisés à J+14 pour l'essai en flacon ; Hélène Lauro, 2022

Modalité	p-valeur du test de Dunnett (référence = Eau)	p-valeur du test de Dunnett (référence = Alcool)	Groupes du test SNK (à J + 14)
Eau	/	0,0021*	a
1/2 Alcool + 1/2 HE	0,0035**	0,9999	b
1/2 Alcool + HE	<0,001***	0,4058	b
Alcool + HE	<0,001***	<0,001***	c
Alcool + 1/2 HE	<0,001***	<0,001***	c
Eau + HE	0,4058	0,0791	a
Alcool	0,0022**	/	b

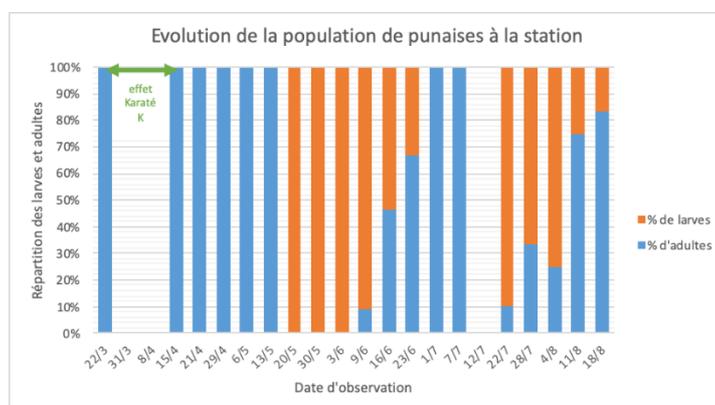


Figure 24 - Évolution de la population de punaises à la station au cours des notations ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 13 - Traitements effectués dans les compartiments d'essai à la station et date d'application ; Hélène Lauro, 2022

Date d'application	Compartiment traité	Nom commercial	Substances actives	Cible
28/03/2022	13 et 15	Karaté K	Pirimicarbe : 100 g/L et Lambda-cyhalothrine : 5 g/L	Punaises
27/05/2022	13 et 15	Floramite	Bifénazate : 240 g/L	Acariens
10/06/2022	13	Benevia	Cyantranilprole : 100 g/L	Punaise
17/06/2022	13 et 15	Teppeki	Fonicamide : 500 g/kg	Pucerons
01/07/2022	13	Decis Protech Tepeki	Deltaméthrine : 15 g/L Fonicamide : 500 g/kg	Punaise Pucerons
08/07/2022	13	Karaté Zéon Floramite	Lambda-cyhalothrine : 100 g/L Bifénazate : 240 g/L	Punaises Acariens
29/07/2022	15	Floramite Neemazal	Bifénazate : 240 g/L	Acariens Pucerons, punaises
19/08/2022	13	Nissorun	Hexythiazox : 250 g/L	Acariens
19/08/2022	15	Teppeki	Fonicamide : 500 g/kg	Pucerons

### 3.3 Suivi du parasitisme

#### *Pontes naturelles*

Les pontes parasitées éclosent environ 15 jours après parasitisme. Au cours de la saison, dans les deux compartiments, 15 pontes naturelles ont été trouvées, parmi elles 8 ont été parasitées soit 53%.

#### *Pontes sentinelles*

Au total 42 pontes sentinelles ont été mise en place. Celles-ci étaient suspendues aux plants, ou agrafées sur le plant portant une des DIBOX les plus récentes, ou sur un plant à 30cm ou 1m d'une DIBOX récente ou au milieu d'un demi compartiment.

Parmi les 14 suspendues, aucune n'a été parasitée. Pour les pontes agrafées, 3 des six pontes installées sur les plants avec les DIBOX ont été parasitées. Aucune des pontes installées à 30cm de la DIBOX ou au milieu d'un demi compartiment n'ont été parasitées. Concernant les pontes installées à 1m de la DIBOX, seulement 2 des 14 pontes installées ont été parasitées.

### 3.4 Résultats sur la production

Entre les deux compartiments, au 18/08 il n'y a pas de différence de rendement total net, qui est de 28,23 kg/m<sup>2</sup> dans le compartiment 13 et 28,25 kg/m<sup>2</sup> dans le compartiment 15. Nous pouvons observer deux chutes de rendement fin-juin à début-juillet et début août (Figure 27), elles font suite aux pics de dégâts observés sur les boutons dans les deux compartiments.

Les fruits piqués apparaissent fin mai soit en début de présence des larves dans les compartiments. Il y a deux pics de dégâts, fin-mai à mi-juillet pour le premier pic et fin-juillet à mi-août pour le second (Figure 28). Le second pic de dégâts commence plus tôt dans le compartiment 15, soit dès fin juillet contre début août dans le compartiment 13. En effet, les larves de la deuxième génération sont arrivées légèrement plus tôt dans ce compartiment.

Durant le premier pic de fruits piqués, le compartiment 13 est le plus touché avec jusqu'à 22% des fruits touchés. Tandis que lors du second pics de dégâts c'est le compartiment 15 qui a été le plus touchés avec jusqu'à 8% de fruits piqués. Ces données sont en accord avec les observations faites précédemment. En effet, les larves étaient plus nombreuses dans le compartiment 13 de fin-mai à fin-juin, tandis qu'elles étaient plus nombreuses dans le compartiment 15 fin-juillet (Figure 25).

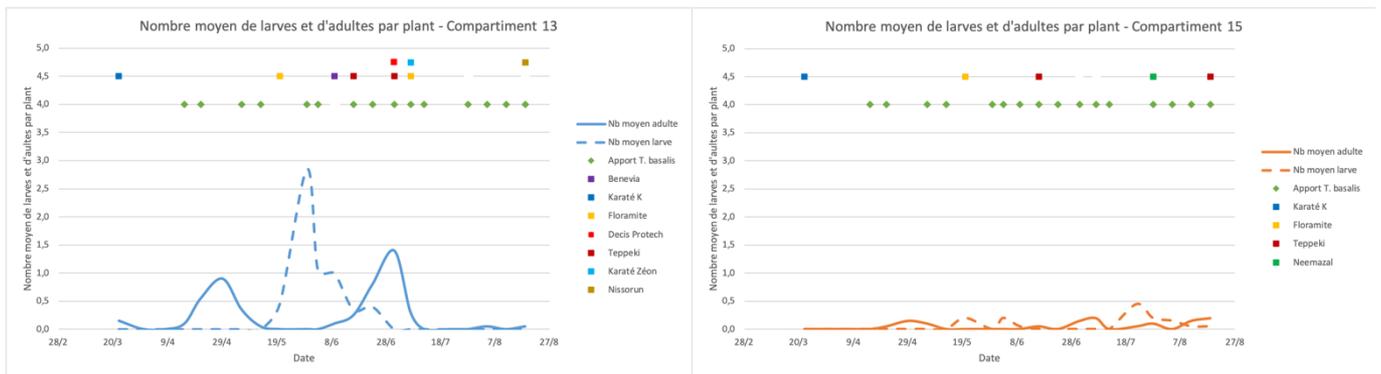


Figure 25 - Nombre moyen de larves et d'adultes par plant dans les deux compartiments au cours de la culture ; Hélène Lauro, 2022

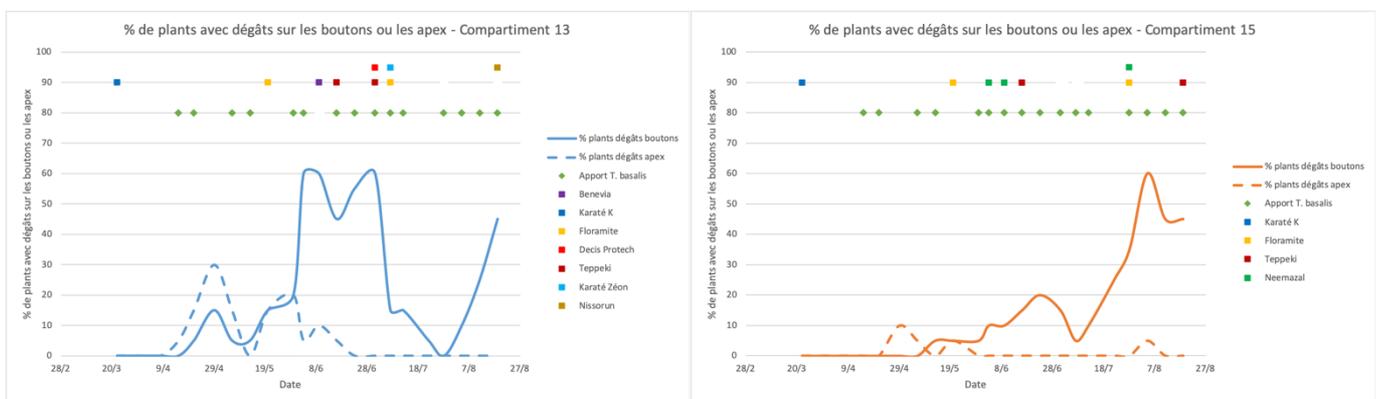


Figure 26 - Pourcentage de dégâts sur les boutons et apex dans les deux compartiments au cours de la culture ; Hélène Lauro, 2022

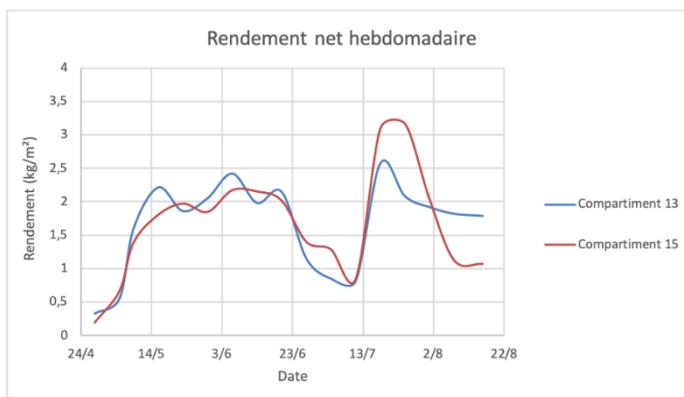


Figure 27 - Rendement net hebdomadaire (kg/m<sup>2</sup>) dans les deux compartiments ; Fanny Thiery, 2022

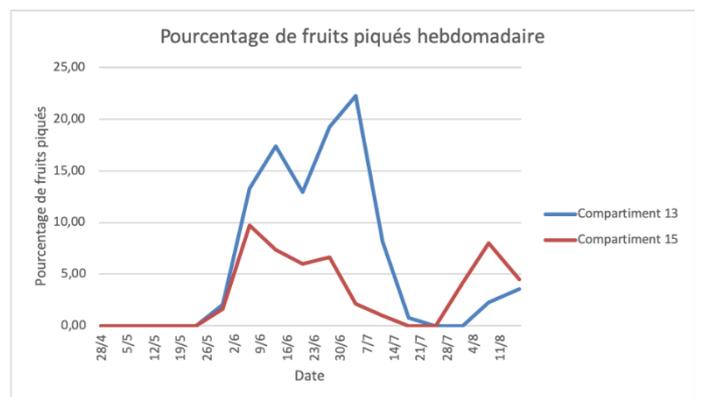


Figure 28 - Pourcentage de fruits piqués hebdomadaire dans les deux compartiments ; Hélène Lauro, 2022

#### 4. Évaluation de l'efficacité de *Trissolcus basal* en production

Les différents traitements réalisés sont résumés dans le Tableau 14. Des punaises adultes ont été observées pour la première fois le 20/04 dans les deux modalités. Les larves ont été observées pour la première fois le 01/06 dans la modalité sans apport de *Trissolcus basal* et le 15/06 dans la modalité avec apport de *Trissolcus basal*. Il y a eu deux pics de présences des adultes, en avril et de fin juillet à début août. Les larves ont, elles, été observées de fin mai à fin juin et début août.

Cependant, pour l'ensemble des dates de notation, il n'y a aucune différence significative entre la modalité avec lâchers et la modalité sans lâchers, et ce, quel que soit la variable mesurée (nombre de larves, d'adultes, pourcentage de dégâts sur apex et boutons). Seul le pourcentage de boutons touchés serait significativement supérieur dans la modalité avec apport le 10/08 (p-valeur = 0,0163). Cependant la présence d'autres espèces de punaises ne permet pas d'attribuer ces dégâts à des piqûres de *N. viridula*.

Durant la totalité des notations, soient 19 semaines, 5 pontes de *N. viridula* ont été trouvées, parmi elles une seule aurait été parasitée.

Tableau 14 - Traitements réalisés chez le producteur lors de l'essai ; Hélène Lauro, 2022

Date d'application	Nom commercial	Substances actives	Cible
18/06/2022	Decis Success Floramite Nissorun	Deltaméthrine : 15 g/L Spinosad : 480 g/L Bifénazate : 240 g/ Hexythiazox : 250 g/L	Punaise Thrips Acarie Acarie
05/07/2022	Essen'ciel	Huile essentielle d'orange douce	Thrips
22/07/2022	Verimark Operon	Cyantranilprole : 200 g/L Spiromésifène : 240 g/L	Pucerons, Thrips Aleurode
09/08/2022	Verimark	Cyantranilprole : 200 g/L	Pucerons, Thrips

## V. Discussion

### 1. Cycle biologique de *Nezara viridula*

L'ensemble des adultes étaient sortis de diapause à mi-avril à la station ce qui est plus précoce que dans les données rapportées par (Musolin 2012; McPherson et al. 2018) où l'ensemble des adultes étaient actifs ou sortis de diapause mi-mai, soit un mois plus tard. Des individus sortis de diapause étaient présents dans les cultures le 18/03. La durée du jour était supérieure ou égale à 12h à partir du 18/03 en 2022. D'après (Ali, Ewiess 2009) la photopériode critique de sortie de diapause est située entre 12h et 13h de jour. La présence d'adultes déjà sortis de diapause avant cette photopériode atteinte suggère que chez les adultes *Nezara viridula* l'induction de la sortie de la diapause peut être déclenchée avant que la photopériode critique ne soit atteinte. Il semblerait que *N. viridula* puisse sortir spontanément de diapause au bout d'une certaine durée même lorsque les individus sont soumis à un régime de jours courts. De plus, plus les individus ont été exposés à une durée de jour courte lors de l'induction de leur diapause, plus ils resteront en diapause longtemps. Par exemple, à 25°C, un individu restera en diapause 126 jours avec une durée de jour de 12h tandis qu'il restera en diapause 154 jours sous un régime de durée de jour de 10h (Musolin 2012). Ainsi, les premiers individus sortis de diapause présents sur les cultures dès le 18/03 pourraient être les adultes entrés en diapause les premiers l'année passée.

En 2022, les premières larves de *Nezara viridula* ont été observées le 20/05, soit fin mai, ce qui est en accord avec les observations réalisées en 2019 et 2021, années pour lesquelles les premières larves ont été visibles le 28/05 et le 02/06 respectivement. En 2021, les deux pics de présences des larves étaient du 02/06 au 12/07 et du 26/07 au 27/09.

L'observation des premières larves fin mai (20/05) est cohérente avec les résultats de (Saulich, Musolin 2014). Cependant, à la station, les pontes ont démarré fin avril (25/04). Le reste du cycle est plus précoce à la station. En effet, les premières adultes issues des larves arrivent dès mi-juin à la station et non mi-juillet (Figure 29). Puisque la vitesse de développement de *Nezara viridula* est dépendante de la température, avec une diminution de la durée de chaque stade lors d'une hausse de la température (Ali, Ewiess 2009), le développement plus rapide de *Nezara viridula* à la station pourrait s'expliquer par des températures sous abris plus élevée, les données de l'article étant basées sur des captures réalisées en plein air.

L'accélération du développement de *N. viridula* avec la hausse des températures peut aussi expliquer en partie l'arrivée plus précoce des femelles au stade « prête à pondre » au lieu de prélèvement de Lalandette car il s'agissait d'une serre verre chauffée. Des larves de stades 5 étaient déjà présentes le 03/05 alors qu'à la station les larves n'étaient pas encore présentes dans la culture.

Le développement de *N. viridula* pourrait être conditionné par une accumulation de degrés-jour. Pour le moment, aucun modèle n'a été développé pour *N. viridula*. Un modèle a été développé pour *H. halys*, une punaise de la même famille que *N. viridula* (Pentatomidae) par (Nielsen, Hamilton, Matadha 2008). Il définit un seuil de photopériode minimale à partir duquel les degrés jours quotidiens s'accumulent jusqu'à un seuil. Ainsi, 148 degrés-jours doivent être accumulés une fois la photopériode supérieure à 13h de jour avant oviposition. Ce modèle a été testé sur des données climatiques du Sud-Ouest de la France en culture de kiwi pour les années 2020 et 2021 et a fourni des dates de début des périodes de ponte théoriques en accord avec les observations sur le terrain Tableau 15.

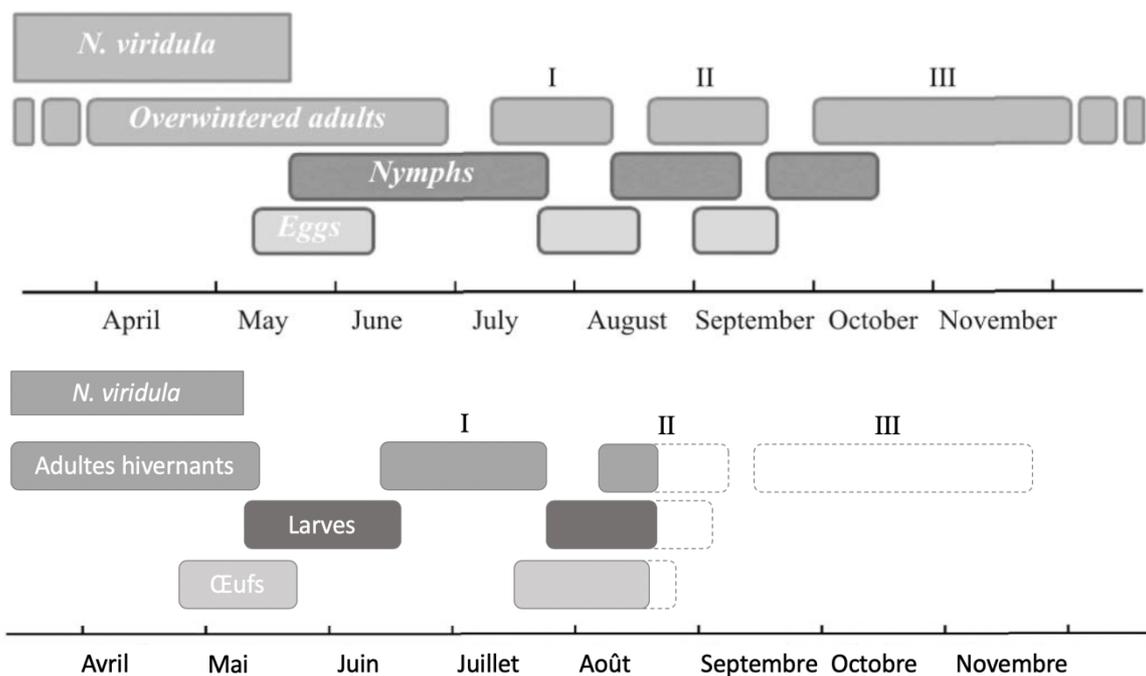


Figure 29 - Développement saisonnier de *Nezara viridula* au Japon (d'après Kiritani et al. 1963) (en haut) et à la station à Sainte-Livrade sur Lot en 2022 (en bas). Les générations successives sont numérotées en chiffres romains et les hypothèses en pointillés ; (Saulich, Musolin 2014), Hélène Lauro, 2022

Tableau 15 - Estimation de la date de début des pontes avec le modèle et de la date réelle observée pour les années 2020 et 2021 ; BIK, 2021

Année	2021	2020
Date où le seuil critique de photopériode est atteint	7 avril	6 avril
Date théorique des premières pontes (après 148 DJ)	15 juin	21 mai
Premier pic de ponte observé	15 juin	20 – 30 mai

## 2. Interprétation de l'efficacité des produits testés en cage et en flacon

### 2.1 Essais en cage

Les probabilités de survie élevées obtenues pour les produits testés sont à nuancer. En effet, la présence des cages qu'elles soient fermées ou ouvertes réduit nettement la quantité de produit pulvérisé sur les plants (Figure 30). Donc les doses réellement appliquées étaient inférieures aux doses théoriques indiquées Tableau 6. Or les produits testés agissent par ingestion et/ou contact (Tableau 16). Une dose appliquée inférieure à celle homologuée pourrait entraîner une efficacité réduite voire nulle, ce qui pourrait expliquer l'absence d'une mortalité plus élevée dans les modalités avec les produits testés par rapport au témoin eau.

L'efficacité observée du témoin produit Deltastar peut s'expliquer par l'efficacité de la deltaméthrine même à faible dose (Malbert-Colas et al. 2020). Cependant, la mortalité induite par le traitement Deltastar est plus faible que lors des essais réalisés en 2021 pour lesquels la mortalité était de 100% dès 3 jours après la première application. Lors des deux séries réalisées cette année, des individus étaient toujours vivants 14 jours après la première application et même avec deux applications dans le cas de la première série. D'après un technicien de la SCAFEEL il y aurait une perte d'efficacité du Décis avec la chaleur donc cela pourrait aussi être le cas avec le Deltastar. De plus le Benevia s'était aussi avéré plutôt efficace en 2021 avec une mortalité significativement supérieure à celle du témoin eau (Thiery 2022b).

Dans le cas du Neemazal, sa substance active a un effet perturbateur de la croissance et antiappétant chez *Nezara viridula*. L'application d'azadirachtine sur des larves de stade 4 ou 5 provoque une perturbation de la mue des insectes lorsqu'ils passent d'un stade au suivant. Les adultes obtenus sont anormaux avec des dysfonctionnements morphologiques. Cependant, selon les sources, les larves sont, ou non, impactées pendant le reste du stade auquel le traitement a eu lieu (Abudulai, Shepard, Mitchell 2003; Riba, Marti, Sans 2003). Chez les adultes obtenus à partir des larves traitées et qui survivent à la mue, leur fertilité est réduite dès l'exposition à une dose de 20 ng/individu. De plus, l'application d'azadirachtine sur une surface à la dose de 1 µg/cm<sup>2</sup> aurait un effet répulsif à l'oviposition (Riba, Marti, Sans 2003). Chez le parasitoïde *Trissolcus basalis*, le parasitisme n'est pas perturbé par le traitement à l'azadirachtine et le développement des individus et leur émergence d'œufs traités avant ou après parasitisme (Abudulai, Shepard 2003). Ainsi, cette substance active pourrait s'avérer efficace pour lutter contre *N. viridula* et serait compatible avec les lâchers de *T. basalis*.

La terre à diatomées est couramment utilisée afin de lutter contre les ravageurs des denrées stockées, les céréales notamment. Celle-ci agit par abrasion de la cuticule des insectes causant leur dessiccation ou créant des blessures par lesquelles des agents pathogènes ou champignons entomopathogènes peuvent pénétrer dans l'insecte (Zeni et al. 2021). De nombreuses études ont été menées afin d'étudier son effet synergique avec les champignons entomopathogènes *M. anisopliae* et *B. bassiana* (Ashraf et al. 2017; Wakil, Schmitt, Kavallieratos 2021). Son efficacité a déjà été démontrée pour lutter contre l'Hémiptère *Cimex lectularius* (punaise des lits) (Singh et al. 2016; Akhtar, Isman 2013). Cependant, certaines formulations du produit fonctionnent mieux en conditions sèches et son efficacité diminue avec la hausse de l'hygrométrie (Zeni et al. 2021). Les plants d'aubergine étant maintenus dans des conditions d'hygrométrie élevée, l'efficacité de ce produit pourrait être limitée. Dans le cadre de la lutte contre *N. viridula*, ce produit pourrait s'avérer plus efficace contre les premiers stades larvaires (1, 2 et 3) du fait de leur plus grande sensibilité à la dessiccation (Hirose, Panizzi, Cattelan 2006). *N. viridula* étant particulièrement résistante aux attaques fongiques, l'action synergique de la terre à diatomées avec *M. anisopliae* et *B. bassiana* pourrait ne pas être efficace (voir précédemment : Champignons entomopathogènes).

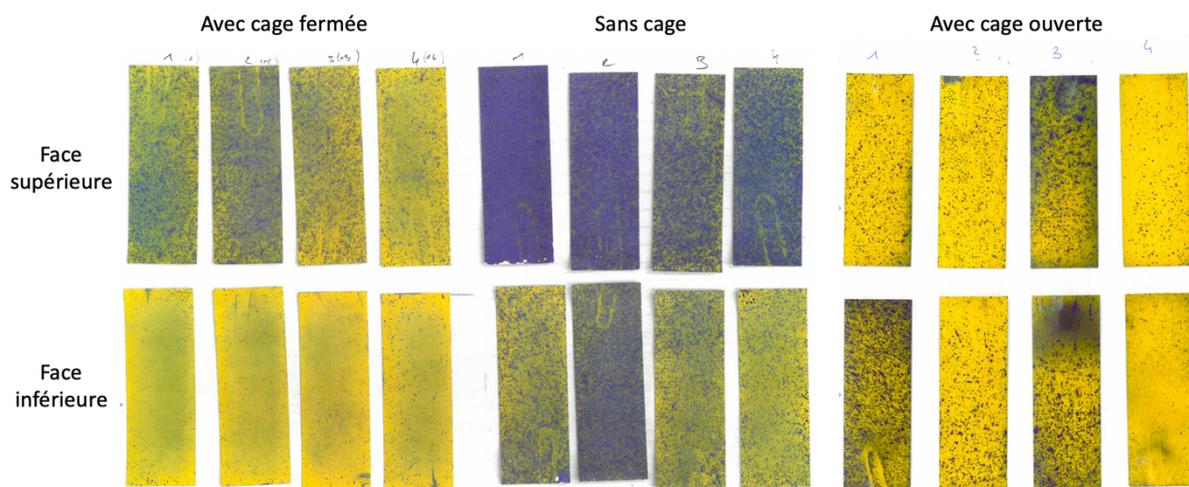


Figure 30 – Effet de la présence de la cage lors du traitement sur la qualité de la pulvérisation à l'aide de papiers hydrosensibles (Les papiers initialement jaunes virent au bleu en présence d'eau) ; Hélène Lauro, 2022

Tableau 16 - Mode d'action des produits testés lors des essais en cage ; Hélène Lauro, 2022

Nom commercial (et substance active)	Mode d'action
Benevia (Cyantraniliprole)	Ingestion et contact
Neemazal (Azadirachtine)	Ingestion
Silicosec (Terre à diatomées)	Contact
Deltastar (Deltaméthrine)	Ingestion et contact

En 2021, les applications des différents produits étaient réalisées à travers les cages fermées, or, le Benevia et le Deltastar avaient eu une meilleure efficacité que lors des essais de 2022. Ainsi, l'application d'une dose inférieure à la dose théorique n'expliquerait pas entièrement la faible mortalité des larves en 2022. Durant les essais réalisés en 2021, les cages étaient localisées dans la serre verre de la station. Contrairement à l'année 2021, en 2022 les cages étaient placées dans un tunnel 5m dans lequel les plants en pot se sont développés avant la mise en place des cages et des essais. Du fait de leur installation en extérieur, des arthropodes se sont installés sur les plants et notamment des araignées de la famille des Salticidae. Lors des essais, nous avons pu constater la prédation des larves de punaises, notamment les stades 2 et 3, par les araignées présentes dans les cages. La prédation de *N. viridula* par des araignées a déjà été reporté mais il semblerait que les araignées de la famille des Salticidae se nourrissent habituellement plutôt des œufs de punaises (Athey et al. 2019; Conti et al. 2021).

## 2.2 Essais en flacon : huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*)

Les tests réalisés nous ont permis de confirmer l'effet biocide de l'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris*) sur les larves de stade 3 de *N. viridula* (Werdirn González et al. 2011). Cependant, dans nos essais les solutions appliquées étaient fortement dosées en huile essentielles (21 g/L et 42 g/L) de nouveaux tests pourraient être effectués en diminuant la concentration d'huile essentielle ou la quantité de solution appliquée sur le papier filtre. La dilution de l'huile dans de l'alcool pur permet une meilleure efficacité qu'une dilution dans de l'eau à dose équivalente. Cette huile essentielle agit par fumigation et contact sur les insectes, une dilution dans un solvant plus volatile permettrait une meilleure diffusion des molécules dans l'air (Werdirn González et al. 2011). Son pouvoir insecticide a été étudié chez *N. viridula* mais aussi chez d'autres insectes tels que *Acanthoscelides obtectus* (Bruche du haricot) chez lequel elle entraîne une diminution de la longévité des adultes, une réduction de l'oviposition et l'inhibition de l'émergence des adultes (Lazarević et al. 2020).

L'huile essentielle de thym n'est pas une substance homologuée en Europe. Cependant celle-ci est majoritairement constituée de Thymol qui est une substance homologuée (Werdirn González et al. 2011; European Commission sd). De plus, l'effet insecticide de cette huile essentielle pourrait être attribuée à l'effet du thymol et du carvacrol (Park et al. 2017). En effet, la propriété insecticide du thymol a été démontrée chez *Galleria mellonella* (fausse teigne de la cire) (Park et al. 2017; Sohail et al. 2021). Il semblerait que le thymol et carvacrol puissent fonctionner en synergie lors de leur utilisation en tant qu'insecticide (Youssefi et al. 2019). Le thymol est actuellement homologué en France et notamment en cultures de tomate et aubergine, mais uniquement pour une application au goutte-à-goutte en traitement contre les nématodes et en mélange avec le géraniol (ANSES 2021).

## 3. Efficacité limitée de *Trissolcus basalis* en station et en production

A la station, l'introduction hebdomadaire de *Trissolcus basalis* à la dose de 1,5 individus/m<sup>2</sup> n'a pas permis d'éviter les explosions de population de punaise lors de l'éclosion des pontes. Un nombre élevé de ponte n'étant pas parasité. Les deux périodes de pic de ponte ont eu lieu fin mai (semaines 20 et 21) et mi-juillet (semaine 29), or les semaines 17, 20 et 29 aucun *T. basalis* n'a pu être apporté dans les compartiments suite à des problèmes d'approvisionnement. L'absence de parasitoïdes lors de ces semaines clés peut expliquer l'éclosion de nombreuses pontes non parasitées fin juillet et début août.



Au cours de cet essai, 50% des pontes naturelles découvertes et 12% des pontes sentinelles ont été parasitées. Lors du projet IMPULsE, avec l'apport hebdomadaire de 1 à 2 individus/m<sup>2</sup>, le nombre d'ooïdes parasitées était de 72% et 66% respectivement (Gard, Prisca 2021). Les parasitoïdes étaient apportés sous la forme de pontes d'*H. halys* parasitées. La souche utilisée n'était pas la même que celle fournie par Koppert pour nos essais. La souche utilisée au cours du projet IMPULsE avait été sélectionnée pour sa capacité à parasiter efficacement les œufs de *N. viridula* et son bon comportement en élevage. Il s'agissait de la souche 367, originaire de la région de Nîmes et collectée le 03/08/2018. Les lâchers de parasitoïdes à la dose 1 individu/m<sup>2</sup>/semaine ont fourni les résultats les plus probants avec une réduction de 60% des dégâts sur les apex et de 71% des dégâts sur les boutons par rapport à un témoin sans lâchers (Gard, Prisca 2021).

Lors de notre essai, parmi les 28 pontes sentinelles agrafées à maximum 1m des zones de lâcher seules 5 pontes ont été parasitées. Ce résultat est très faible avec un taux de parasitisme de seulement 18%. Pourtant, durant des essais menés dans des champs de patate douce (*Ipomoea batatas*) avec des lâchers de 400 et 600 individus plus de 30% et 70% des pontes sentinelles placées à 20m du lieu de lâcher étaient parasitées (Walaa 2020).

Face au faible pourcentage de ponte parasitées lors de l'essai, nous avons recherché à déterminer si le problème pouvait venir de la souche introduite ou de son mode d'apport. Nous avons alors mis en place des tests d'émergence. Dans ce cadre, 10 tubes de 10 œufs étaient préparés à partir des lots livrés semaines 30 et 31. Ainsi, il semblerait que chez les adultes émergents après la réception du lot, le sexe ratio soit légèrement en faveur des femelles avec 63% et 74% de femelles émergées respectivement pour les semaines 30 et 31. La présence d'un nombre de mâles inférieurs à celui des femelles ne serait pas préjudiciable au comportement de recherche des femelles puisque *T. basalis* est haplodiploïde, l'accouplement ne serait pas une condition nécessaire (Bout 2022; Cantón-Ramos, Callejon-Ferre 2010).

Les premiers jours suivants l'introduction des DIBOX contenant les œufs parasités, des adultes fraîchement émergés sont visibles sur les DIBOX et à proximité de celle-ci mais uniquement sur le plant où elle est accrochée. Environ 5 jours après l'introduction, plus aucun adulte n'est visible sur ou à proximité de la DIBOX. Or du fait de la petite taille du parasitoïde (1 mm), il est très difficile d'observer des adultes qui patrouilleraient dans la culture. C'est pour cette raison que les pontes sentinelles ont été mises en place. Cependant, au vu du faible nombre de pontes sentinelles parasitées (5 des 42 pontes installées) nous pouvons nous questionner sur la capacité du parasitoïde à rester dans la culture après son éclosion. Il est probable qu'une part non négligeable des individus quittent les compartiments par les ouvrants lorsqu'ils sont ouverts. Il est admis que d'autres auxiliaires de cultures tels que les *Macrolophus pygmaeus* ou *Amblyseius swirski* peuvent « s'installer » dans les cultures une fois lâchés et ne nécessitent pas d'introduction hebdomadaire. Chez *Macrolophus pygmaeus* si les proies manquent dans la culture le temps de l'installation, il est possible de leur fournir de la nourriture sous forme de cystes d'*Artemia salina* (Biobest 2022). Chez les parasitoïde *Diadegma insulare*, la mise à disposition d'une ressource florale permet d'augmenter la longévité et la fécondité des adultes (Lee, Heimpel 2008). Ces résultats entrent dans le cadre de l'hypothèse de provision de nectar selon laquelle la présence de plantes produisant du nectar permettrait d'améliorer l'efficacité des parasitoïdes en leur fournissant un apport de sucre (Heimpel, Jervis 2005). Cependant, selon l'espèce d'insecte étudiée, les résultats d'études sur l'effet de l'apport de plants nectarifères sur le parasitisme peuvent ou non confirmer cette hypothèse (Heimpel 2019).



Ainsi, l'effet de l'apport de sources de nectar dans les cultures sous abris sur l'efficacité du parasitisme par *T. basalis* pourrait être étudié. Une étude a été menée sur *T. japonicus* un parasitoïde oophage de la punaise diabolique *Halyomorpha halys* (Pentatomidae). L'objectif était d'évaluer les effets de différentes plantes sur la survie des parasitoïdes. Ainsi, il semblerait que le sarrasin, la coriandre et l'aneth augmentent la survie médiane des adultes respectivement de 15, 3,5 et 17,5 jours par rapport à l'eau (McIntosh et al. 2020). Ces plantes pourraient être de bonnes candidates pour évaluer l'effet de sources de nectar sur l'efficacité de *T. basalis* sous abris.

De plus, trouver un moyen d'installer les *T. basalis* dans la culture permettrait d'éviter les apports hebdomadaires et de réduire considérablement le coût d'utilisation de cet auxiliaire. En effet, pour le moment l'introduction de cet auxiliaire représente un coût élevé pour les producteurs qui l'essayent. Lors de cet essai, le flacon de 5 000 individus coûtait 80€ hors taxes. Ainsi, l'apport hebdomadaires de 1,5 individus/m<sup>2</sup> sur 1 ha coûtait 240€ par semaine.

En condition de production, il semblerait que l'introduction hebdomadaire de *T. basalis* à la dose de 1,5 individus/m<sup>2</sup> ne permette pas de réduire les dégâts observés sur la culture. Cependant, *N. viridula* n'était pas la seule espèce de punaise présente dans la culture. En effet, des larves et adultes du genre *Lygus* et le traitement réalisé le 18/06 les ciblait en plus de *N. viridula*. Des larves de punaise diabolique (*Halyomorpha halys*) ont aussi été trouvées pour la première fois le 10/08. Or quel que soit l'espèce de punaise, elle provoque les mêmes dégâts en aubergine, soit la chute des boutons floraux et un dessèchement des apex. Il n'est donc pas possible d'attribuer les dégâts observés à la présence de *N. viridula*. Les deux compartiments d'essai de la station ont aussi été colonisés par des *H. halys*. Ces dernières étaient présentes fin mai à fin juin dans le compartiment 13 et dès fin juillet dans les deux compartiments.

Le nombre de plants observés chez le producteur a pu être insuffisant compte-tenu de la surface en culture et du nombre de plants. En effet, chaque modalité faisait 1 ha et contenait environ 12 500 plants. L'observation de 40 plants par modalité a pu s'avérer insuffisant pour avoir une vision globale de l'état actuelle de la culture et de la présence de punaises. De plus, les deux modalités n'étaient pas séparées physiquement, si ce n'est pas un chemin de 4m de large, des parasitoïdes ont peut-être pu aller dans la modalité sans lâchers. Il avait été supposé que la capacité de dispersion du parasitoïde serait assez réduite pour ne pas que celui-ci aille prospecter dans le témoin sans lâchers. Or il semblerait que celui-ci puisse se disperser jusqu'à 100m du point de lâcher (BIOPLANET 2022).



## Conclusion

La punaise phytophage *Nezara viridula* impacte fortement la production d'aubergine de manière directe via les piqûres provoquant la chute des boutons néoformés et le dessèchement des apex et indirecte par l'impact des traitements phytosanitaires réalisés sur la protection biologique intégrée mise en place par les producteurs. A travers le projet POLCKA dans lequel s'inscrit ce mémoire, des méthodes alternatives de lutte contre cette punaise ont été évaluées en station et en condition de production. Son cycle de vie dans le Lot-et-Garonne est un peu mieux connu, notamment la date de début de la ponte après la sortie de la diapause.

Ainsi, le début d'introduction de *T. basalis* a été définie comme pouvant être effectuée dès mi-avril. Des tests pourraient être réalisés afin d'évaluer plus finement la période idéale de début des lâchers. La création d'un modèle similaire à celui existant pour *H. halys* pourrait être envisagée pour *N. viridula*. Cependant, puisque cette punaise passe son cycle à la fois en extérieur et sous abris les degrés-jours accumulés dépendent de la date de rentrée des individus dans les abris et leur température. Comme nous avons pu le constater, les pontes démarrent plus précocement en abris chauffés. Ainsi, si un modèle est créé il faudra y intégrer cette caractéristique de *N. viridula*.

Chez le producteur, l'introduction de *T. basalis* n'est pas suffisante pour gérer complètement les populations de *N. viridula*. D'où les essais de produits, moins préjudiciable pour les auxiliaires, alternatifs aux traitements phytosanitaires actuellement utilisés réalisés. Ainsi, même si les essais en cage réalisés cette année n'ont pas permis de faire ressortir des produits efficaces à cause des conditions d'application, les essais réalisés les années passées et la dernière série lancée montrent que le Benevia, le Silicosec et le Neemazal seraient efficaces pour lutter contre les larves de *N. viridula*. L'huile essentielle de thym a confirmé son potentiel insecticide contre les larves et celle-ci pourrait être testée en cage l'année prochaine. L'acquisition de données sur son efficacité pourrait permettre d'appuyer son homologation. L'efficacité du thymol contre cette punaise pourrait être testé.

A la station, l'absence de témoin n'a pas permis d'évaluer réellement l'efficacité de *T. basalis* mais celle-ci avait été démontrée lors du projet IMPULsE. Ce parasitoïde reste un levier de choix pour lutter contre cette punaise phytophage, en combinaison avec des produits compatibles avec celui-ci et les autres auxiliaires. Des études doivent être menées afin d'éventuellement améliorer son efficacité en condition de production, soit dans des abris dans filets empêchant son départ et des pressions naturelles en punaises.

Pour finir, la présence d'autres punaises phytophages comme *Lygus* sp. et la montée en puissance des autres punaises dans les cultures, notamment *H. halys* l'utilisation de ce parasitoïde ne permettrait pas de résoudre entièrement la problématique punaise. Cette dernière est de plus en plus présente dans les cultures, celle-ci était absente chez les producteurs jusqu'à récemment. Cette année *H. halys* a été aperçue chez 4 producteurs lors des notations et prélèvements pour les dissections. A la station, cette dernière était déjà présente à partir de septembre l'année passée mais cette année elle est arrivée plus précocement soit dès mai-juin. Elle a aussi entraîné pour la première fois des dégâts de piqûre sur poivron cette année à la station. Ainsi, même si l'association de *T. basalis* avec des produits compatibles avec la faune auxiliaires permettrait d'éviter les traitements ciblant lors des explosions de populations observées actuellement, des alternatives aux produits phytosanitaires utilisés devront être trouvés pour lutter contre *H. halys* et *Lygus* sp.



## Bibliographie et sitographie

ABUDULAI, M. et SHEPARD, B. M., 2003. Effects of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) on *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae), a Parasitoid of *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Entomological Science*. 1 juillet 2003. Vol. 38, n° 3, pp. 386-397. DOI 10.18474/0749-8004-38.3.386.

ABUDULAI, M., SHEPARD, B. M. et MITCHELL, P. L., 2003. Antifeedant and Toxic Effects of a Neem (*Azadirachta indica* A. Juss)-Based Formulation *Neemix*® Against *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Entomological Science*. 1 juillet 2003. Vol. 38, n° 3, pp. 398-408. DOI 10.18474/0749-8004-38.3.398.

AKHTAR, Y. et ISMAN, M. B., 2013. Horizontal Transfer of Diatomaceous Earth and Botanical Insecticides in the Common Bed Bug, *Cimex lectularius* L.; Hemiptera: Cimicidae. DICKENS, J. C. (éd.), *PLoS ONE*. 25 septembre 2013. Vol. 8, n° 9, pp. e75626. DOI 10.1371/journal.pone.0075626.

ALI, M. et EWIESS, M. A., 2009. Photoperiodic and temperature effects on rate of development and diapause in the green stink bug, *Nezara viridula* L. (Heteroptera: Pentatomidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*. 26 août 2009. Vol. 84, n° 1-4, pp. 256-264. DOI 10.1111/j.1439-0418.1977.tb04286.x.

ANONYME, A., 2014. Biocontrol - *Trissolcus basalis*. *Ephytia* [en ligne]. 13 août 2014. [Consulté le 11 mars 2022]. Disponible à l'adresse : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/20116/Biocontrol-Trissolcus-basalis>

ANSES, 2020. *AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande d'autorisation d'introduction dans l'environnement d'un macro-organisme non indigène utile aux végétaux à des fins d'expérimentations Souche non indigène de Trissolcus basalis de la société Koppert France* [en ligne]. 4 mai 2020. Disponible à l'adresse : [https://www.anses.fr/fr/system/files/TRISSOLCUS\\_MO19-006\\_Ans.pdf](https://www.anses.fr/fr/system/files/TRISSOLCUS_MO19-006_Ans.pdf)

ANSES, 2021. CEDROZ. *E-Phy* [en ligne]. 15 juin 2021. [Consulté le 15 août 2022]. Disponible à l'adresse : <https://ephy.anses.fr/ppp/cedroz>

ANSES, 2022. Résultats de la recherche Tomate - Aubergine\*Trt Part.Aer.\*Cicadelles, punaises et psylles. *E-Phy* [en ligne]. 2022. [Consulté le 29 mars 2022]. Disponible à l'adresse : [https://ephy.anses.fr/resultats\\_recherche/produits?f%5B%5D=usg%3A4363&uop=or&origin=Y3VsdHVyZTE9VG9tYXRIJTIwLSUyMEF1YmVyZ2luZSZjdWx0dXJlMj0mbnVpc2libGUxPXB1bmFpc2VzJm51aXNpYmxlMj0mbW9kZT0mZiUyNTVCMCUyNTVEPWxpc3RfdHlwZV91c2FnZSUzQTlwMTAwNDAxMDAwMDAwMDAx](https://ephy.anses.fr/resultats_recherche/produits?f%5B%5D=usg%3A4363&uop=or&origin=Y3VsdHVyZTE9VG9tYXRIJTIwLSUyMEF1YmVyZ2luZSZjdWx0dXJlMj0mbnVpc2libGUxPXB1bmFpc2VzJm51aXNpYmxlMj0mbW9kZT0mZiUyNTVCMCUyNTVEPWxpc3RfdHlwZV91c2FnZSUzQTlwMTAwNDAxMDAwMDAwMDAwMDAx)

ASHRAF, M., FAROOQ, M., SHAKEEL, M., DIN, N., HUSSAIN, S., SAEED, N., SHAKEEL, Q. et RAJPUT, N. A., 2017. Influence of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*, alone and in combination with diatomaceous earth and thiamethoxam on mortality, progeny production, mycosis, and sporulation of the stored grain insect pests. *Environmental Science and Pollution Research*. décembre 2017. Vol. 24, n° 36, pp. 28165-28174. DOI 10.1007/s11356-017-0383-6.

ATHEY, Kacie J., RUBERSON, J. R., OLSON, D. M. et HARWOOD, J. D., 2019. Predation on stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in cotton and soybean agroecosystems. BIONDI, A. (éd.), *PLOS ONE*. 26 mars 2019. Vol. 14, n° 3, pp. e0214325. DOI 10.1371/journal.pone.0214325.

AUSTIN, A.D., JOHNSON, N.F. et DOWTON, M., 2005. SYSTEMATICS, EVOLUTION, AND BIOLOGY OF SCELIONID AND PLATYGASTRID WASPS. *Annual Review of Entomology*. 1 janvier 2005. Vol. 50, n° 1, pp. 553-582. DOI 10.1146/annurev.ento.50.071803.130500.

BALUSU, R., TALAMAS, E., COTTRELL, T., TOEWS, M., BLAAUW, B., SIAL, A., BUNTIN, D., FADAMIRO, H. et TILLMAN, G., 2019. First record of *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae) parasitizing *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) in the United States. *Biodiversity Data Journal*. 28 octobre 2019. Vol. 7, pp. e39247. DOI 10.3897/BDJ.7.e39247.

BIOBEST, 2022. Pensez à bien nourrir vos *Macrolophus* pour une installation optimale dans votre culture de tomates | Biobest. *Biobest sustainable crop management* [en ligne]. 2022. [Consulté le 15 août 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.biobestgroup.com/index.php/fr/actualites/pensez-a-bien-nourrir-vos-macrolophus-pour-une-installation-optimale-dans-votre-culture-de-tomates>

BIOPLANET, 2022. *Trissolcus basalis* pour lutter contre la Punaise verte ponctuée. *Bioplanet* [en ligne]. 2022. [Consulté le 17 août 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.insectesutiles.fr/insectes-utiles/136-trissolcus-basalis.html>

BLANCARD, D. et RYCKEWAERT, P., 2021. Tropilég - Punaises (*Nezara viridula*, etc.). [en ligne]. 2 novembre 2021. [Consulté le 14 janvier 2022]. Disponible à l'adresse : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/23160/Tropileg-Punaises-Nezara-viridula-etc>

BOUT, A., 2022. *Visite d'Alexandre BOUT à la station*. 8 juillet 2022.

CABI, 2021. Invasive Species Compendium *Nezara viridula* (green stink bug). *CABI* [en ligne]. 16 novembre 2021. [Consulté le 16 janvier 2022]. Disponible à l'adresse : <https://www.cabi.org/isc/datasheet/36282#tonaturalEnemies>

CANTÓN-RAMOS, J.M. et CALLEJON-FERRE, Á. J., 2010. Raising *Trissolcus basalis* for the biological control of *Nezara viridula* in greenhouses of Almería (Spain). *African Journal of Agricultural Research*. 4 décembre 2010. Vol. 5, pp. 3207-3212. DOI 10.5897/AJAR10.651.

COLAZZA, S., AQUILA, G., DE PASQUALE, C., PERI, E. et MILLAR, J. G., 2007. The egg parasitoid *Trissolcus basalis* uses n-nonadecane, a cuticular hydrocarbon from its stink bug host *Nezara viridula*, to discriminate between female and male hosts. *Journal of Chemical Ecology*. juillet 2007. Vol. 33, n° 7, pp. 1405-1420. DOI 10.1007/s10886-007-9300-7.

COLAZZA, S., LO BUE, M., LO GIUDICE, D. et PERI, E., 2009. The response of *Trissolcus basalis* to footprint contact kairomones from *Nezara viridula* females is mediated by leaf epicuticular waxes. *Naturwissenschaften*. août 2009. Vol. 96, n° 8, pp. 975-981. DOI 10.1007/s00114-009-0548-3.

COLAZZA, S., MCELFFRESH, J. S. et MILLAR, J. G., 2004. Identification of Volatile Synomones, Induced by *Nezara viridula* Feeding and Oviposition on Bean spp., That Attract the Egg Parasitoid *Trissolcus basalis*. *Journal of Chemical Ecology*. mai 2004. Vol. 30, n° 5, pp. 945-964. DOI 10.1023/B:JOEC.0000028460.70584.d1.

CONTI, E., AVILA, G., BARRATT, B., CINGOLANI, F., COLAZZA, S., GUARINO, S., HOELMER, K., LAUMANN, R. A., MAISTRELLO, L., MARTEL, G., PERI, E., RODRIGUEZ-SAONA, C., RONDONI, G., ROSTÁS, M., ROVERSI, P. F., SFORZA, R. F.H., TAVELLA, L. et WAJNBERG, E., 2021. Biological control of invasive stink bugs: review of global state and future prospects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. janvier 2021. Vol. 169, n° 1, pp. 28-51. DOI 10.1111/eea.12967.

DUSOULIER, F., 2020. *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) - Punaise verte ponctuée. *Inventaire National du Patrimoine Naturel* [en ligne]. 26 mars 2020. [Consulté le 14 janvier 2022]. Disponible à l'adresse : [https://inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/238461](https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/238461)

ESQUIVEL, J. F. et WARD, L. A., 2014. Characteristics for Determining Sex of Late-Instar *Nezara viridula* (L.)1. *Southwestern Entomologist*. 1 mars 2014. Vol. 39, n° 1, pp. 187-189. DOI 10.3958/059.039.0117.

EUROPEAN COMMISSION, sd. EU Pesticides Database (v.2.2) Active substance Thyme oil. *EU Pesticides Database* [en ligne]. sd. [Consulté le 22 avril 2022]. Disponible à l'adresse : [https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/active-substances/?event=as.details&as\\_id=686](https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/active-substances/?event=as.details&as_id=686)

GARD, B. et PRISCA, P., 2021. *COMPTE RENDU FINAL DU PROJET IMPULSE développement et Intégration de Méthodes innovantes pour la maîtrise des PUnaises en cultures LEgumières 2017-2020*. mars 2021.

GARD, B., PRISCA, P., CLERC, H., STREITO, J. C., BOUT, A., CHAILLOUT, S., CAMOIN, L., TOSELLO, L., GINEZ, A., DELAMARRE, C. et LAMBION, J., 2021. *Gestion des punaises phytophages en cultures maraîchères Le projet IMPULsE à l'heure du Bilan* [en ligne]. 2021. Disponible à l'adresse : [https://www.ctifl.fr/ecophytopic/infos\\_ctifl/infos368/368p19-28.pdf](https://www.ctifl.fr/ecophytopic/infos_ctifl/infos368/368p19-28.pdf)

GRODOWITZ, M. J., ELLIOT, B., EVANS, R., ROJAS, G. et MORALES RAMOS, J., 2020. Development of a Physiological Age-Grading System for *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). ONS, S. (éd.), *Journal of Insect Science*. 1 août 2020. Vol. 20, n° 5, pp. 6. DOI 10.1093/jisesa/ieaa092.

HEIMPEL, G. E., 2019. Linking parasitoid nectar feeding and dispersal in conservation biological control. *Biological Control*. mai 2019. Vol. 132, pp. 36-41. DOI 10.1016/j.biocontrol.2019.01.012.

HEIMPEL, G. E. et JERVIS, M. A., 2005. Does floral nectar improve biological control by parasitoids? In : WÄCKERS, F. L., VAN RIJN, P. C. J. et BRUIN, J. (éd.), *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects* [en ligne]. 1. Cambridge University Press. pp. 267-304. [Consulté le 15 août 2022]. ISBN 978-0-521-81941-1. Disponible à l'adresse : [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9780511542220A020/type/book\\_part](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/CBO9780511542220A020/type/book_part)

HIROSE, E., PANIZZI, A. R. et CATTELAN, A. J., 2006. Effect of relative humidity on emergence and on dispersal and regrouping of first instar *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology*. décembre 2006. Vol. 35, n° 6, pp. 757-761. DOI 10.1590/S1519-566X2006000600006.

JAOKO, V., NJI TIZI TANING, C., BACKX, S., MULATYA, J., VAN DEN ABEELE, J., MAGOMERE, T., OLUBAYO, F., MANGELINCKX, S., WERBROUCK, S. P.O. et SMAGGHE, G., 2020. The Phytochemical Composition of *Melia volkensii* and Its Potential for Insect Pest Management. *Plants*. 22 janvier 2020. Vol. 9, n° 2, pp. 143. DOI 10.3390/plants9020143.

JONES, W., 1988. World Review of the Parasitoids of the Southern Green Stink Bug, *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 1 mars 1988. Vol. 81, n° 2, pp. 262-273. DOI 10.1093/aesa/81.2.262.

KIKUCHI, Y., TADA, A., MUSOLIN, D. L., HARI, N., HOSOKAWA, T., FUJISAKI, K. et FUKATSU, T., 2016. Collapse of Insect Gut Symbiosis under Simulated Climate Change. MCFALL-NGAI, M. J. (éd.), *mBio*. 2 novembre 2016. Vol. 7, n° 5, pp. e01578-16. DOI 10.1128/mBio.01578-16.

KIRITANI, K., 2011. Impacts of global warming on *Nezara viridula* and its native congeneric species. *Journal of Asia-pacific Entomology - J ASIA-PAC ENTOMOL*. 1 juin 2011. Vol. 14, n° 2, pp. 221-226. DOI 10.1016/j.aspen.2010.09.002.

LAUMANN, R. A., AQUINO, M. F. S., MORAES, M. C. B., PAREJA, M. et BORGES, M., 2009. Response of the Egg Parasitoids *Trissolcus basalis* and *Telenomus podisi* to Compounds from Defensive Secretions of Stink Bugs. *Journal of Chemical Ecology*. janvier 2009. Vol. 35, n° 1, pp. 8-19. DOI 10.1007/s10886-008-9578-0.

LAZAREVIĆ, J., JEVREMOVIĆ, S., KOSTIĆ, I., KOSTIĆ, M., VULETA, A., MANITAŠEVIĆ JOVANOVIĆ, S. et JOVANOVIĆ, D. Š., 2020. Toxic, Oviposition Deterrent and Oxidative Stress Effects of *Thymus vulgaris* Essential Oil against *Acanthoscelides obtectus*. *Insects*. 24 août 2020. Vol. 11, n° 9, pp. 563. DOI 10.3390/insects11090563.

LEE, J. C. et HEIMPEL, G. E., 2008. Floral resources impact longevity and oviposition rate of a parasitoid in the field. *Journal of Animal Ecology*. mai 2008. Vol. 77, n° 3, pp. 565-572. DOI 10.1111/j.1365-2656.2008.01355.x.

LILJESTHRÖM, G G, CINGOLANI, M F et ROGGIERO, M F, 2014. Susceptibility of *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) Egg Masses of Different Sizes to Parasitism by *Trissolcus basalis* (Woll.) (Hymenoptera: Platygasteridae) in the Field. *Neotropical Entomology*. février 2014. Vol. 43, n° 1, pp. 78-84. DOI 10.1007/s13744-013-0177-6.

LILJESTHRÖM, G.G., CINGOLANI, M.F. et RABINOVICH, J.E., 2013. The functional and numerical responses of *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Platygasteridae) parasitizing *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) eggs in the field. *Bulletin of Entomological Research*. août 2013. Vol. 103, n° 4, pp. 441-450. DOI 10.1017/S0007485313000023.

LO GIUDICE, D., PERI, E., LO BUE, M. et COLAZZA, S., 2010. Plant surfaces of vegetable crops mediate interactions between chemical footprints of true bugs and their egg parasitoids. *Communicative & Integrative Biology*. janvier 2010. Vol. 3, n° 1, pp. 70-74. DOI 10.4161/cib.3.1.10300.

LOCKWOOD, J. A. et STORY, R. N., 1985. Photoc, Thermic, and Sibling Influences on the Hatching Rhythm of the Southern Green Stink Bug, *Nezara viridula*(L.). *Environmental Entomology*. 1 octobre 1985. Vol. 14, n° 5, pp. 562-567. DOI 10.1093/ee/14.5.562.

LOPES, R. B., LAUMANN, R. A., BLASSIOLI-MORAES, M. C., BORGES, M. et FARIA, M., 2015. The fungistatic and fungicidal effects of volatiles from metathoracic glands of soybean-attacking stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) on the entomopathogen *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*. novembre 2015. Vol. 132, pp. 77-85. DOI 10.1016/j.jip.2015.08.011.

MALBERT-COLAS, A., DROZDZ, T., MASSOT, M., BAGNI, T., CHERTEMPS, T., MARIA, A., MAÏBÈCHE, M. et SIAUSSAT, D., 2020. Effects of low concentrations of deltamethrin are dependent on developmental stages and sexes in the pest moth *Spodoptera littoralis*. *Environmental Science and Pollution Research*. novembre 2020. Vol. 27, n° 33, pp. 41893-41901. DOI 10.1007/s11356-020-10181-9.

MCINTOSH, H. R., SKILLMAN, V., GALINDO, G. et LEE, J. C., 2020. Floral Resources for *Trissolcus japonicus*, a Parasitoid of *Halyomorpha halys*. *Insects*. 3 juillet 2020. Vol. 11, n° 7, pp. 413. DOI 10.3390/insects11070413.

MCPHERSON, J. E., ESQUIVEL, J. F., MUSOLIN, D. L., JONES, W., RABITSCH, W., GREENE, J. K., TOEWS, M. D., SCHWERTNER, C. F., GRAZIA, J. et MCPHERSON, R. M., 2018. *Invasive Stink Bugs and Related Species (Pentatomidae): Biology, Higher Systematics, Semiochemistry, and Management* [en ligne]. CRC Press. ISBN 978-1-4987-1510-2. Disponible à l'adresse : [https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=UDsPEAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA351&dq=nezara+viridula+gonads+maturation+duration&ots=xI5udnKlyp&sig=MmFxFxSwE-hHy9\\_g3gTfbed919qKY#v=onepage&q=nezara%20viridula%20gonads%20maturation%20duration&f=false](https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=UDsPEAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA351&dq=nezara+viridula+gonads+maturation+duration&ots=xI5udnKlyp&sig=MmFxFxSwE-hHy9_g3gTfbed919qKY#v=onepage&q=nezara%20viridula%20gonads%20maturation%20duration&f=false)

MOUJAHED, R., FRATI, F., CUSUMANO, A., SALERNO, G., CONTI, E., PERI, E. et COLAZZA, S., 2014. Egg parasitoid attraction toward induced plant volatiles is disrupted by a non-host herbivore attacking above or belowground plant organs. *Frontiers in Plant Science* [en ligne]. 5 novembre 2014. Vol. 5. [Consulté le 11 mars 2022]. DOI 10.3389/fpls.2014.00601. Disponible à l'adresse : <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2014.00601/abstract>

MUSOLIN, D. L., 2012. Surviving winter: diapause syndrome in the southern green stink bug *Nezara viridula* in the laboratory, in the field, and under climate change conditions. *Physiological Entomology*. 2012. Vol. 37, n° 4, pp. 309-322. DOI 10.1111/j.1365-3032.2012.00846.x.

MUSOLIN, D. L., FUJISAKI, K. et NUMATA, H., 2007. Photoperiodic control of diapause termination, colour change and postdiapause reproduction in the southern green stink bug, *Nezara viridula*. *Physiological Entomology*. mars 2007. Vol. 32, n° 1, pp. 64-72. DOI 10.1111/j.1365-3032.2006.00542.x.

MUSOLIN, D. L., TOUGOU, D. et FUJISAKI, K., 2010. Too hot to handle? Phenological and life-history responses to simulated climate change of the southern green stink bug *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae): CLIMATE CHANGE AND INSECT LIFE-HISTORY TRAITS. *Global Change Biology*. janvier 2010. Vol. 16, n° 1, pp. 73-87. DOI 10.1111/j.1365-2486.2009.01914.x.

NIELSEN, A. L., HAMILTON, G. C. et MATADHA, D., 2008. Developmental Rate Estimation and Life Table Analysis for *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae). *Environmental Entomology*. 1 avril 2008. Vol. 37, n° 2, pp. 348-355. DOI 10.1603/0046-225X(2008)37[348:DREALT]2.0.CO;2.

PARK, J-H, JEON, Y-J, LEE, C-H, CHUNG, N. et LEE, H-S, 2017. Insecticidal toxicities of carvacrol and thymol derived from *Thymus vulgaris* Lin. against *Pochazia shantungensis* Chou & Lu., newly recorded pest. *Scientific Reports*. mars 2017. Vol. 7, n° 1, pp. 40902. DOI 10.1038/srep40902.

PRISCA, P., GARD, B. et TROTTIN, Y., 2017. *Maîtrise des punaises en culture légumières Les méthodes innovantes du projet IMPULSe* [en ligne]. décembre 2017. Disponible à l'adresse : [https://www.ctifl.fr/ecophytopic/infos\\_ctifl/infos337/337p25-32.pdf](https://www.ctifl.fr/ecophytopic/infos_ctifl/infos337/337p25-32.pdf)

RIBA, M., MARTI, J. et SANS, A., 2003. Influence of azadirachtin on development and reproduction of *Nezara viridula* L. (Het., Pentatomidae). *Journal of Applied Entomology*. février 2003. Vol. 127, n° 1, pp. 37-41. DOI 10.1046/j.1439-0418.2003.00684.x.

SALERNO, G., COLAZZA, S. et CONTI, E., 2002. Sub-lethal effects of deltamethrin on walking behaviour and response to host kairomone of the egg parasitoid *Trissolcus basalis*. *Pest Management Science*. juillet 2002. Vol. 58, n° 7, pp. 663-668. DOI 10.1002/ps.492.

SALERNO, G., FRATI, F., CONTI, E., PERI, E., COLAZZA, S. et CUSUMANO, A., 2019. Mating Status of an Herbivorous Stink Bug Female Affects the Emission of Oviposition-Induced Plant Volatiles Exploited by an Egg Parasitoid. *Frontiers in Physiology*. 2019. Vol. 10, pp. 398. DOI 10.3389/fphys.2019.00398.

SAULICH, A. Kh. et MUSOLIN, D. L., 2014. Seasonal cycles in stink bugs (Heteroptera, Pentatomidae) from the temperate zone: Diversity and control. *Entomological Review*. septembre 2014. Vol. 94, n° 6, pp. 785-814. DOI 10.1134/S0013873814060013.

SHELTON, A., s.d. *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae). *Biological Control A Guide to Natural Enemies in North America* [en ligne]. s.d. [Consulté le 11 mars 2022]. Disponible à l'adresse : <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/parasitoids/trissolcus.php>

SINGH, N., WANG, C., WANG, D., COOPER, R. et ZHA, C., 2016. Comparative Efficacy of Selected Dust Insecticides for Controlling *Cimex lectularius* (Hemiptera: Cimicidae). *Journal of Economic Entomology*. août 2016. Vol. 109, n° 4, pp. 1819-1826. DOI 10.1093/jee/tow129.

SNODGRASS, G. L., ADAMCZYK, J. J. et GORE, J., 2005. Toxicity of Insecticides in a Glass-Vial Bioassay to Adult Brown, Green, and Southern Green Stink Bugs (Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Economic Entomology*. 1 février 2005. Vol. 98, n° 1, pp. 177-181. DOI 10.1093/jee/98.1.177.

SOHAIL, M., AQUEEL, M. A., DAI, P. et ELLIS, J. D., 2021. The Larvicidal and Adulticidal Effects of Selected Plant Essential Oil Constituents on Greater Wax Moths. JOHNSON, R. (éd.), *Journal of Economic Entomology*. 9 février 2021. Vol. 114, n° 1, pp. 397-402. DOI 10.1093/jee/toaa249.

SOSA-GOMEZ, D.R., BOUCIAS, D.G. et NATION, J.L., 1997. Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the Southern Green Stink Bug *Nezara viridula* Cuticle and Fungistatic Effect of Cuticular Lipids and Aldehydes. *Journal of Invertebrate Pathology*. janvier 1997. Vol. 69, n° 1, pp. 31-39. DOI 10.1006/jipa.1996.4619.

TAKEUCHI, H. et ENDO, N., 2012. Insecticide Susceptibility of *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae) and Three Other Stink Bug Species Composing a Soybean Pest Complex in Japan. *Journal of Economic Entomology*. 1 juin 2012. Vol. 105, n° 3, pp. 1024-1033. DOI 10.1603/EC11383.

THIERY, F., 2022a. Comité de pilotage du projet POLCKA Régulation des punaises Pentatomides en cultures de Choux, Concombres, Kiwis et Aubergines par optimisation de différents leviers de protection alternatifs aux produits phytosanitaires. *Comité de pilotage du projet POLCKA*. 8 février 2022.

THIERY, F., 2022b. *Compte-rendu d'essai AUBERGINE 2021 Efficacité de produits pour la lutte contre la punaise phytophage Nezara viridula*. 26 janvier 2022.

VIVAN, L. M. et PANIZZI, A. R., 2006. Geographical distribution of genetically determined types of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: pentatomidae) in Brazil. *Neotropical Entomology*. avril 2006. Vol. 35, n° 2, pp. 175-181. DOI 10.1590/S1519-566X2006000200004.

WAKIL, W., SCHMITT, T. et KAVALLIERATOS, N. G., 2021. Persistence and efficacy of enhanced diatomaceous earth, imidacloprid, and *Beauveria bassiana* against three coleopteran and one psocid stored-grain insects. *Environmental Science and Pollution Research*. mai 2021. Vol. 28, n° 18, pp. 23459-23472. DOI 10.1007/s11356-020-12304-8.

WALAA, A. T., 2020. Dispersal of the Egg Parasitoid *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae) on Eggs of the Southern Green Stink Bug *Nezara viridula* L. In Sweet Potato Fields. *IDOSI*. 2020. Vol. 20, pp. 124-128. DOI 10.5829/idosi.ajeaes.2020.124.128.

WERDIN GONZÁLEZ, J. O., GUTIÉRREZ, M. M., MURRAY, A. P. et FERRERO, A. A., 2010. Biological Activity of Essential Oils from *Aloysia polystachya* and *Aloysia citriodora* (Verbenaceae) against the Soybean Pest *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Natural Product Communications*. février 2010. Vol. 5, n° 2, pp. 1934578X1000500. DOI 10.1177/1934578X1000500227.

WERDIN GONZÁLEZ, J. O., GUTIÉRREZ, M. M., MURRAY, A. P. et FERRERO, A. A., 2011. Composition and biological activity of essential oils from Labiatae against *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) soybean pest: Activity of essential oils from Labiatae against *N. viridula*. *Pest Management Science*. août 2011. Vol. 67, n° 8, pp. 948-955. DOI 10.1002/ps.2138.

WERDIN GONZÁLEZ, J. O., LAUMANN, R. A., DA SILVEIRA, S., MORAES, M. C. B., BORGES, M. et FERRERO, A. A., 2013. Lethal and sublethal effects of four essential oils on the egg parasitoids *Trissolcus basalis*. *Chemosphere*. juillet 2013. Vol. 92, n° 5, pp. 608-615. DOI 10.1016/j.chemosphere.2013.03.066.

YOUSSEFI, R. Y., TABARI, M. A., ESFANDIARI, A., KAZEMI, S., MOGHADAMNIA, A. A., SUT, S., DALL'ACQUA, S., BENELLI, G. et MAGGI, F., 2019. Efficacy of Two Monoterpenoids, Carvacrol and Thymol, and Their Combinations against Eggs and Larvae of the West Nile Vector *Culex pipiens*. *Molecules*. 15 mai 2019. Vol. 24, n° 10, pp. 1867. DOI 10.3390/molecules24101867.

ZANTEDESCHI, R., RAKES, M., PASINI, R. A., ARAÚJO, M. B., BUENO, F. A. et GRÜTZMACHER, A. D., 2018. Toxicity of soybean-registered agrochemicals to *Telenomus podisi* and *Trissolcus basalis* immature stages. *Phytoparasitica*. avril 2018. Vol. 46, n° 2, pp. 203-212. DOI 10.1007/s12600-018-0660-z.

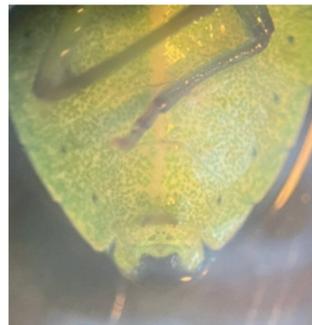
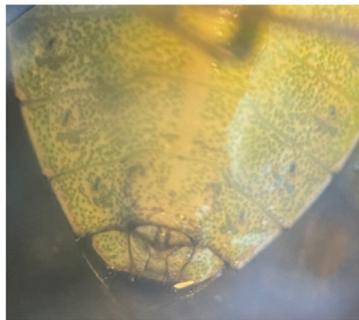
ZENI, V., BALIOTA, G. V., BENELLI, G., CANALE, A. et ATHANASSIOU, C. G., 2021. Diatomaceous Earth for Arthropod Pest Control: Back to the Future. *Molecules*. 10 décembre 2021. Vol. 26, n° 24, pp. 7487. DOI 10.3390/molecules26247487.



## Annexe I – Protocole de dissection de *Nezara viridula*



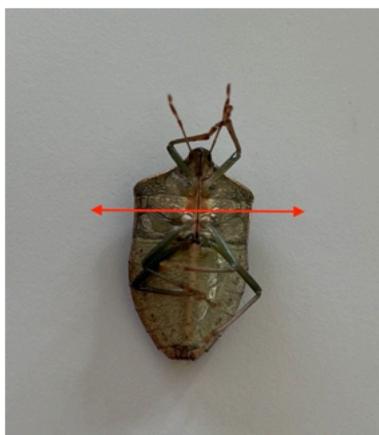
Seules les femelles sont à disséquer, un moyen simple de différencier les mâles et femelles est donné ci-dessous :



*Nezara viridula* sous la loupe binoculaire, femelle à gauche et mâle à droite

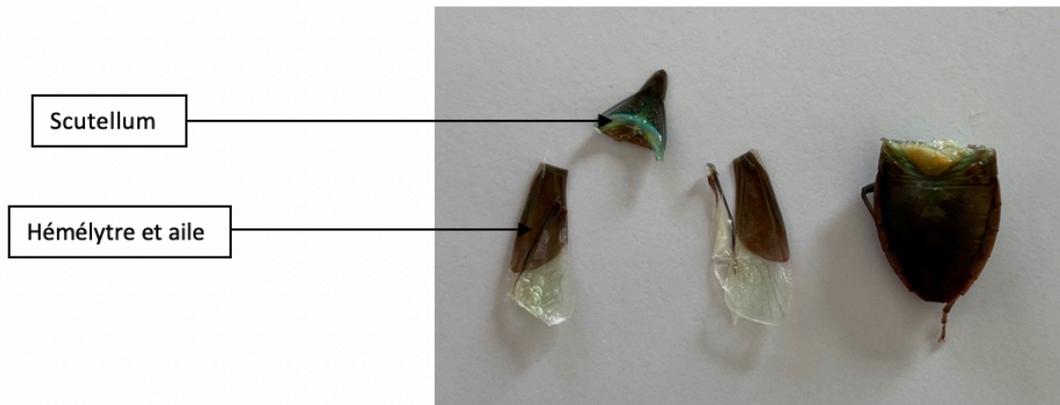
### Étape 1 :

Mettre la punaise sur le dos. A l'aide d'un scalpel couper entre les paires de pattes antérieures et intermédiaires pour que le pronotum ainsi que les hémélytres et ailes soient enlevés (s'ils n'ont pas été coupés ils peuvent être retirés avec des pinces pour ne pas qu'ils gênent par la suite).



## Étape 2 :

Retirer le scutellum avec des pinces fines.



## Étape 3 :

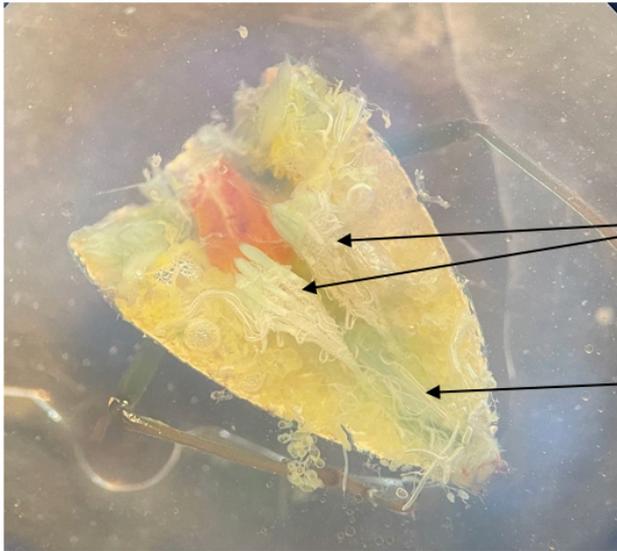
Découper le tour de la partie ventrale.



Soulever délicatement la cuticule abdominale dorsale et la retirer. Les organes internes sont à présents exposés, mettre la punaise dans une boîte de Petri et la recouvrir d'eau.



L'appareil reproducteur se trouve sous le système digestif qu'il faut enlever.



Ovaires composées de 7 ovarioles

Spermathèque (peu visible ici)

#### Étape 4 :

Reconnaissance des stades et de l'état de la spermathèque (vide ou remplie).

#### 5 stades :

1 - Immature = pas de follicules dans les ovarioles ou follicules immatures (transparents)



Ovaires immatures : pas de follicules dans les ovarioles

Spermathèque vide

2 - Quelques follicules immatures = présence de quelques (environ 3 par ovariole) follicules en développement dans les ovarioles



Présence de quelques follicules immatures dans les ovarioles

Spermathèque pleine

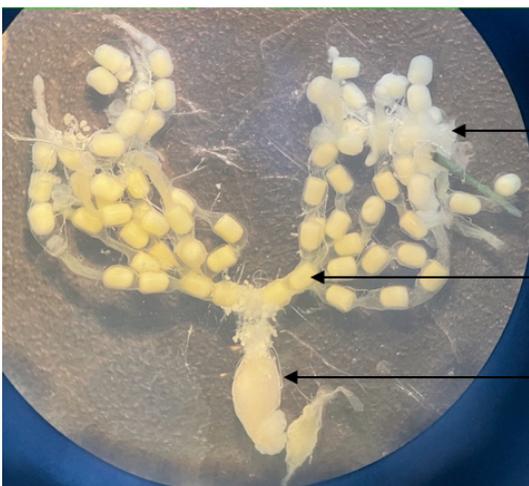
3 - Mature = follicules matures (jaunes) dans les ovarioles, la femelle est presque prête à pondre



Présence de quelques follicules matures dans les ovarioles

Spermathèque pleine

4 – Prête à pondre = présence de reliques de follicules jaunes pâles (mais pas à la base des ovarioles), des œufs peuvent être présents dans les oviductes



Présence de follicules matures dans les ovarioles

Présence d'œufs matures dans les oviductes

Spermathèque pleine

5 - Ponte active (La femelle a déjà pondu une première fois) = présence de reliques de follicules (jaunes foncés vifs à marrons) à la base des ovarioles. Les reliques de follicules peuvent contenir des particules noires. Des œufs peuvent être présents dans les oviductes.

**Remarque :**

Il est possible de trouver des femelles dont le système reproducteur est sénescé. Il y a peu ou plus de follicules en cours de maturation dans les ovarioles qui sont pour la plupart vides. Des zones noires peuvent être présentes dans les ovarioles.



Micrographe d'ovaire de *Nezara viridula* sénescé  
(Grodowitz et al. 2020)

	Diplôme : Ingénieur Spécialité : Horticulture Spécialisation / option : Protection des Plantes et Environnement appliquée à l'Horticulture (PPEH) Enseignant référent : Alexandre DEGRAVE
Auteur(s) : Hélène LAURO Date de naissance* : 09/07/1999	Organisme d'accueil : INVENIO Adresse : Domaine de Lalande, 47110, Sainte-Livrade sur Lot
Nb pages : 27      Annexe(s) : 1	
Année de soutenance : 2022	Maître de stage : Fanny THIERY
Titre français : Évaluation de l'efficacité de produits alternatifs et du parasitoïde <i>Trissolcus basal</i> contre la punaise <i>Nezara viridula</i> en culture d'aubergine	
Titre anglais : Evaluation of the effectiveness of alternative products and the parasitoid <i>Trissolcus basal</i> against the stink bug <i>Nezara viridula</i> in aubergine	
<p>Résumé : <i>Nezara viridula</i> (Hemiptera: Pentatomidae) est un ravageur phytophage important en culture d'aubergine. Chez cette culture ses piqûres provoquent la chute des boutons floraux néoformés et le dessèchement des apex causant jusqu'à 90% de perte de rendement. Actuellement la lutte est basée sur l'utilisation de produits phytosanitaires chimiques incompatibles avec la Protection Biologique Intégrée. Ce mémoire s'inscrit dans le cadre du projet POLCKA et compte trois objectifs. Tout d'abord d'approfondir la connaissance du cycle de vie de <i>N. viridula</i>, plus particulièrement la détermination de la période de début de ponte, puis d'évaluer l'efficacité du parasitoïde oophage <i>Trissolcus basal</i> et enfin d'évaluer l'efficacité de différents produits alternatifs ou compatibles avec la faune auxiliaire. Pour y répondre des lâchers de <i>T. basal</i> ont été réalisés à la station et chez un producteur où la population de punaise et les dégâts étaient suivis de façon hebdomadaire, les produits étaient testés sur les larves en cages insect-proof et l'huile essentielle de thym en flacons. Ainsi, les résultats montrent que les femelles <i>N. viridula</i> sont prêtes à pondre à partir de mi-avril en abris non chauffés mais plus précocement en abris chauffés. Les lâchers de parasitoïdes n'ont pas permis d'éviter l'explosion de population pendant les périodes d'éclosion à la station. Le Benevia, le Silicosec et le Neemazal n'ont pas eu d'effet lors de nos essais ce qui est contraire à la bibliographie existante. L'huile essentielle de thym a confirmé son effet insecticide contre les larves de <i>N. viridula</i>.</p>	
<p>Abstract: <i>Nezara viridula</i> (Hemiptera: Pentatomidae) is an important phytophagous pest in aubergine. In this crop its bites cause the fall of newformed flower buds and the drying of the apexes causing up to 90% yield loss. Currently, control is based on the use of chemical phytosanitary products that are incompatible with Integrated Biological Protection. This thesis is part of the POLCKA project and has three objectives. Firstly, to gain a better understanding of the life cycle of <i>N. viridula</i>, and more particularly to determine the period when egg-laying begins, then to evaluate the effectiveness of the oophagous parasitoid <i>Trissolcus basal</i>, and finally to evaluate the effectiveness of various alternative products or products compatible with the auxiliary fauna. To answer this question, releases of <i>T. basal</i> were carried out at the station and at a producer's where the bug population and the damage were observed on a weekly basis, the products were tested on the larvae in insect-proof cages and the essential oil of thyme in vials. The results show that <i>N. viridula</i> females are ready to lay eggs from mid-April in unheated shelters but earlier in heated shelters. Parasitoid releases did not prevent population explosions during the hatching periods at the station. Benevia, Silicosec and Neemazal had no effect in our trials which is contrary to the existing literature. Thyme oil confirmed its insecticidal effect against <i>N. viridula</i> larvae.</p>	
Mots-clés : <i>Nezara viridula</i> , cycle de vie, <i>Trissolcus basal</i> , aubergines, méthodes de protection, PBI	
Key Words: <i>Nezara viridula</i> , life cycle, <i>Trissolcus basal</i> , aubergines, crop protection ways, IBP	

\* Élément qui permet d'enregistrer les notices auteurs dans le catalogue des bibliothèques universitaires