



HAL
open science

Etude de l'évolution de la virulence des parasitoïdes d'*Acyrtosiphon pisum* face à la protection symbiotique de leur hôte

Nawelle Malinge

► To cite this version:

Nawelle Malinge. Etude de l'évolution de la virulence des parasitoïdes d'*Acyrtosiphon pisum* face à la protection symbiotique de leur hôte. Sciences du Vivant [q-bio]. 2023. dumas-04244407

HAL Id: dumas-04244407

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04244407v1>

Submitted on 16 Oct 2023

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

Année universitaire : 2022-2023

Spécialité : Protection des plantes et
environnement horticulture- PPEH

Mémoire de fin d'études

- d'ingénieur de l'Institut Agro Rennes-Angers (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)
- de master de l'Institut Agro Rennes-Angers (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)
- de l'Institut Agro Montpellier (étudiant arrivé en M2)
- d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

Etude de l'évolution de la virulence des parasitoïdes d'*Acyrtosiphon pisum* face à la protection symbiotique de leur hôte

Par : Nawelle MALINGE



Soutenu à Angers le 06/09/2023

Devant le jury composé de :

Président : M. CHEN Nicolas

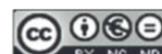
Maître de stage : M. OUTREMAN Yannick, M. SIMON Jean-Christophe

Enseignant référent : M. JALOUX Bruno

Autres membres du jury :
M. LE CAM Bruno

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

Tout d'abord, je tiens à préciser que j'ai passé un très agréable stage au sein de l'IGEPP et pour cela je voudrais remercier l'ensemble de l'équipe et des stagiaires présents. Grâce à vous, j'ai été heureuse de venir travailler tous les matins.

Je remercie particulièrement Yannick Outreman pour son encadrement bienveillant et patient qui m'a fait progresser sans stress. Merci aussi pour votre disponibilité (même pour échantillonner des momies de puceron à 8 h du matin ou passer du temps pour imprimer des étiquettes). Je remercie également Jean-Christophe Simon, co-maître de stage, bien que nous nous sommes peu croisé, c'était un plaisir de pouvoir échanger avec vous. De même, Ginette Dago merci d'avoir pris le temps de m'expliquer les mannips que tu faisais lorsque tu étais à ma place.

Je voulais aussi remercier Christelle Buchard pour sa précieuse aide dans l'identification des parasitoïdes, pour son expertise et sa gentillesse.

Aussi, un grand merci à mes colocataires du bureau des stagiaires 1 : Armelle, Eloïse, Agathe, Mathieu avec qui l'ambiance était toujours au rendez-vous (on se souviendra du rat mort trouvé pendant la journée ménage), mais aussi aux autres stagiaires, doctorants et post-doctorants : Clément, Cyrielle, Charlotte, Marion, Paul, Abel, Marianne, Guillaume et Israël (qui m'ont très bien accueilli), Hugo (merci pour les contacts), Pauline qui sont tous de très belles personnes et également à Gwénola, Yann, Ingrid, Loïs, Christophe, Manu (merci pour la sortie pêche), Anne et les autres membres de l'équipe pour leur bonne humeur, leur gentillesse et tous ces moments de convivialité à la cafet'.

Enfin, je voulais aussi remercier l'ensemble des professeurs de PPEH (Bruno Jaloux, Nicolas Chen, Alexandre Degraeve, Yann Tricault, Valérie Leclerc, Vanessa Soufflet-Freslon, Benjamin Carbone) pour cette année et les autres au sein d'Agrocampus (vive l'INH !). Merci pour vos enseignements, votre patience et votre pédagogie. Vous parvenez à nous instruire tout en laissant notre esprit critique se développer.

Et aussi merci à mes camarades de promo pour cette belle année passée ensemble Salomé, Fannie, Charlotte, Bao, François, Océane, Julie, Paul, Elodie, Marceau, Mathilde.

Table des matières

Introduction.....	4
1. Utilisation des parasitoïdes en lutte biologique.....	4
2. Stratégies de défenses des hôtes	5
2.1. Stratégies de défenses comportementales.....	5
2.2 Résistances constitutives de l'hôte	5
2.3 La protection symbiotique	6
3. Réponses des parasitoïdes face aux protections symbiotiques de leur hôte.....	7
4. Objectifs de notre étude	8
Matériel et méthode.....	11
1. Echantillonnage des parasitoïdes en milieu naturel	11
1.1 Echantillonnage des momies.....	11
1.2 Identification des parasitoïdes	12
2. Identification du profil de virulence des parasitoïdes testés	12
2.1 Choix des lignées d'Acyrtosiphon pisum et élevage des pucerons.....	12
2.2 Tests de virulence des parasitoïdes	13
3. Analyses statistiques.....	13
3.1 Communautés de parasitoïdes dans les cultures de luzerne et de pois.....	14
3.2 Virulence des parasitoïdes vis-à-vis des protections symbiotiques.....	14
3.3 Evolution de la virulence des parasitoïdes au cours du temps.....	14
Résultats.....	15
1. Ecologie des communautés : évolution de la répartition des espèces de parasitoïdes en milieu naturel	15
2. Effet de l'espèce et de la culture d'échantillonnage du parasitoïde sur sa virulence vis-à-vis de chaque lignée de puceron	16
3. Effet de l'espèce et de la culture sur la fréquence des profils de virulence	17
4. Effet de la date sur la fréquence des profils de virulences.....	18
Discussion.....	19
1. Communautés de parasitoïdes associées à <i>A. pisum</i>	19
2. Parasitoïdes virulents face à différentes résistances dans le milieu naturel	19
3. Fréquence des profils de virulence	20
4. Différences de virulence entre parasitoïdes de différents milieux.....	21
5. Différences de virulence interspécifiques	21
6. Variation temporelle des profils de virulence.....	22
7. Perspectives et améliorations.....	22
Coûts de la virulence et lutte biologique	23
Mécanismes de résistance et de virulence	24
Conclusion	25
Bibliographie	26

Liste des figures

Figure 1, Schéma illustrant les modèles d'interactions gène pour gène et matching alleles, auteur Clay, Keith & Kover, Paula (1996).

Figure 2, Cycle biologique d'*Aphidius ervi*, Dion 2011

Figure 3, Schéma du calendrier type des manipulations, Nawelle Malinge

Figure 4, Schéma représentant le test de parasitisme du parasitoïde femelle sur les 4 lignées de puceron testées, Nawelle Malinge

Figure 5, Photographie des plants de féveroles sur lesquels les pucerons parasités sont conservés pendant 15 jours, Nawelle Malinge

Figure 6, Histogramme représentant l'évolution de la composition des communautés de parasitoïdes prélevés sur le terrain

Figure 7, Nombre de momies échantillonnées et de parasitoïdes émergés en fonction de la date d'échantillonnage (sur culture de luzerne à gauche et sur culture de pois à droite)

Figure 8, Représentations graphiques de la probabilité pour chaque lignée de retrouver au moins une momie sur cinq pucerons parasités (à gauche) et au moins un descendant émergeant des 5 pucerons parasités (à droite)

Figure 9, Répartition des profils de virulence en fonction de l'espèce et du biotype du parasitoïde testé

Figure 10, Graphiques représentant l'effet de l'espèce et du biotype du parasitoïde sur la probabilité d'être virulent généraliste (virulent sur les 4 lignées de puceron) ou avirulent (virulent seulement sur la lignée témoin aposymbiotique luzerne)

Figure 11, Répartition des profils de virulence des femelles *A. ervi* récoltées sur luzerne en début et fin de saison

Tableau 1, Résultats des modèles statistiques réalisés sur R, sur les deux variables réponses analysées pour chaque lignée aphidienne étudiée : (1) la probabilité de momification d'un puceron après une exposition à un parasitoïde et (2) la probabilité pour le parasitoïde d'avoir un descendant.

Tableau 2, Résultats des modèles statistiques réalisés sur R, sur la probabilité d'obtenir des parasitoïdes virulents généralistes ou avirulents parmi les parasitoïdes testés

Liste des Annexes

Annexe I, Clé d'identification des principales espèces d'*Aphidius* parasitoïdes du puceron du pois, auteur Christelle Buchard

Annexe II, Photographies des parasitoïdes femelles *Aphidius*

Annexe III, Photographies de parasitoïdes femelles *Aphidius eadyi* et *Aphidius banksae*

Annexe IV, Différences entre les genres *Aphidius* et *Praon*

Annexe V, Script R des modèles mixtes généralisés de la probabilité de momification et de la probabilité d'obtenir un descendant (exemple pour la lignée de puceron du biotype *Medicago aposymbiotique*)

Annexe VI, Script R des modèles mixtes généralisés de la probabilité d'obtenir un profil de virulence donné pour toutes les lignées confondues (exemple du profil virulent généraliste)

Annexe VII, Script R des modèles du χ^2 sur l'effet de l'espèce et du biotype sur la fréquence des profils de virulence des parasitoïdes, sur l'effet de la date sur la fréquence des profils de virulence des parasitoïdes *A.ervi/luzerne* et de l'effet du biotype du parasitoïde sur la répartition de la fréquence des espèces échantillonnées

Introduction

1. Utilisation des parasitoïdes en lutte biologique

L'une des techniques permettant de lutter contre les insectes ravageurs des cultures est la lutte biologique telle que l'ont défini Van Drische et Bellows en 1996. Elle consiste à agir sur la densité des populations d'une espèce nuisible pour les cultures, en la confrontant à des organismes antagonistes tels que des prédateurs, des compétiteurs ou des parasites (Boivin, 2001). Ces antagonistes peuvent être apportés dans les cultures lors de stratégies de lutte par augmentation ou par acclimatation (selon la provenance indigène ou exogène de l'antagoniste) (Jourdheuil et al., 1991). Lorsque des lâchers sont réalisés à intervalles réguliers, on parle de stratégies de lutte par inondation (Jourdheuil et al., 1991). La présence naturelle d'antagonistes dans les agrosystèmes est également favorisée lors de stratégies de lutte par conservation (Luquet, 2019).

On trouve 4 principaux groupes d'organismes utilisés en lutte biologique : les micro-organismes, les nématodes, les prédateurs et les insectes parasitoïdes (Boivin, 2011). Il existe des organismes efficaces pour chacune de ces catégories. La bactérie *Bacillus thuringiensis* est par exemple très utilisée contre les lépidoptères, coléoptères et certains diptères tandis que les punaises prédatrices du genre *Macrolophus* représentent l'un des principaux auxiliaires en maraîchage sous abris, permettant de lutter contre les aleurodes, les acariens tétranyques ou *Tuta absoluta* (Boivin, 2001 ; Streito et al., 2018). Concernant les nématodes, les genres *Heterhorabditis* et *Steneirnema* ont fait l'objet de plusieurs études. Ce sont des nématodes entomopathogènes qui parasitent certains insectes et sont utilisés pour le contrôle biologique de certains lépidoptères, diptères et coléoptères (Burnell et al., 2000 ; Huot, 2019).

Les auxiliaires étudiés dans le cadre de ce rapport sont les parasitoïdes. Contrairement aux parasites, les parasitoïdes tuent directement ou indirectement leur hôte, obligatoire pour le développement de leur larve (Bensadia, 2005). En effet, alors que l'adulte est libre, la larve a besoin d'un hôte pour se développer. On retrouve différents types de parasitoïdes. Chez les ectoparasitoïdes, les œufs sont déposés à proximité ou sur l'hôte alors que les endoparasitoïdes pondent leurs œufs à l'intérieur de leur hôte (Bensadia, 2005). On distingue également les parasitoïdes idiobiontes et koinobiontes : si les idiobiontes tuent leurs hôtes en début de parasitisme, les koinobiontes laissent leur hôte se développer et parfois se reproduire avant de le tuer (Bensadia, 2005). Chez certains parasitoïdes idiobiontes, l'hôte peut être parasité au stade œuf. C'est le cas des trichogrammes, efficaces pour lutter contre la pyrale du maïs (St-Onge, 2016). En revanche, les koinobiontes tels que les hyménoptères parasitoïdes ont besoin des larves ou des nymphes de leur hôte pour se développer (Jourdheuil et al., 1991). Enfin, on distingue les parasitoïdes dit solitaires (un seul individu se développe dans l'hôte) ou grégaires (plusieurs individus peuvent émerger d'un même hôte) (Bensadia, 2005). Les parasitoïdes les plus utilisés en lutte biologique sont les hyménoptères (Boivin, 2001).

L'un des intérêts de l'utilisation des parasitoïdes en lutte biologique, est leur efficacité à parasiter leur hôte. Des études ont montré que les taux de parasitisme d'une année à l'autre étaient relativement constants, ce qui indique que leur efficacité dépend peu des aléas climatiques (Boivin, 2001). De plus, le parasitisme des parasitoïdes étant obligatoire, ces organismes ont développé des

fortes capacités pour la localisation et l'exploitation de leurs hôtes (Boivin, 2001). Un autre avantage des parasitoïdes en lutte biologique, est leur importante spécificité : ils n'attaquent pour la plupart que les organismes ciblés (Boivin, 2001). La coïncidence chronologique de leur cycle de vie avec celui de leur hôte est également une qualité recherchée (Jourdeuil et al., 1991). Cela les rend efficaces dans une utilisation en lutte biologique.

Cependant, les hôtes de parasitoïdes peuvent développer des stratégies pour se protéger contre ces ennemis naturels, rendant plus difficile le parasitisme et perturbant l'efficacité de la lutte biologique.

2. Stratégies de défenses des hôtes

Plusieurs stratégies de défenses des hôtes vis-à-vis de leur parasitoïdes ont été identifiées. Il existe des stratégies de défenses induites, qui ont lieu lorsque l'hôte rencontre le parasitoïde, et d'autres constitutives de l'hôte, présentes en permanence chez l'individu (Dion et al., 2011).

2.1. Stratégies de défenses comportementales

Pour éviter la rencontre avec le parasitoïde, l'hôte doit d'abord pouvoir repérer la présence ou l'activité de son ennemi. Ces perceptions peuvent être visuelles (présence de cadavres de congénères), physiques ou chimiques (phéromones d'alarme émises par un hôte lors d'une attaque) (Peacor, 2003).

L'hôte peut alors chercher à s'éloigner ou se disperser pour ne pas être perçu par l'ennemi, c'est le cas de nombreuses chenilles qui se déplacent beaucoup entre deux prises de nourriture (Mauricio & Bower, 1990). Les hôtes parasités par des parasitoïdes d'œufs peuvent aussi protéger leur descendance en pondant dans des lieux inaccessibles aux parasitoïdes (Bensadia, 2005). Pour les pucerons, d'autres stratégies consistent au contraire à rester près des cadavres de congénères car la motivation des parasitoïdes pour rester dans une colonie de puceron diminue en présence de cadavres (Fievet, 2009). D'autres insectes vont également chercher à se dissimuler, par exemple en minimisant la production de phéromones chimiques que le parasitoïde peut détecter (Godfray, 1994).

Si l'hôte n'est pas parvenu à échapper au parasitoïde, d'autres mécanismes actifs lui permettent de se défendre. Les pucerons peuvent par exemple adopter des comportements agressifs et donner des coups de pattes à leur ennemi naturel. Ils peuvent aussi émettre des sécrétions corniculaires repoussant le parasitoïde et/ou ralentissant l'attaque (Dion et al., 2011).

2.2 Résistances constitutives de l'hôte

L'hôte peut également résister aux parasitoïdes, grâce à des résistances physiques. Par exemple, *Bemisia tabaci*, l'aleurode du tabac, possède une cuticule épaisse gênant l'oviposition du parasitoïde *Eretmocerus mundus* (Gelman et al., 2005).

Les insectes possèdent aussi un système de défense inné qualifié de système immunitaire. On retrouve la voie humorale faisant intervenir des voies de signalisation conduisant à la production de

peptides antimicrobiens, et la voie cellulaire impliquant des cellules phagocytaires (Renoz, 2017). La voie cellulaire a particulièrement été étudiée chez *Drosophila melanogaster*, à travers le mécanisme de l'encapsulation. Les molécules étrangères détectées sont encapsulées par l'agglomération de cellules appelées hémocytes présentes dans l'hémolymph de l'insecte. L'œuf du parasitoïde est alors tué dans l'hôte (Ao et al., 2007). Cependant, ce mécanisme semble peu présent chez les hôtes de la famille des Aphididae (Renoz, 2017).

2.3 La protection symbiotique

Des travaux récents ont mis en évidence des stratégies de protections vis-à-vis des insectes parasitoïdes, impliquant des symbioses microbiennes présentes notamment chez des espèces de pucerons et de drosophiles (Corbin et al., 2021 ; Olivier et al., 2005).

De nombreux insectes, possèdent un cortège symbiotique composé de bactéries pouvant modifier leur comportement ou leur physiologie (i.e. on parle de phénotype étendu) (Guyomar, 2018 ; Sochard, 2020). Ces bactéries peuvent être présentes dans l'hémolymph, dans l'intestin, dans les tissus reproducteurs de leur hôte et parfois dans des cellules spécialisées appelées bactériocytes (Leclair et al., 2021). Elles peuvent être obligatoires, c'est-à-dire essentielles à la survie ou à la reproduction de leur hôte. La bactérie *Portiera aleyrodidarum* par exemple, fournit à son hôte, l'aleurode du tabac, des nutriments essentiels à sa croissance que cet insecte ne trouve pas dans la sève phloémienne des plantes qu'il consomme (Benhamou, 2022). D'autres bactéries, sont secondaires : on ne les trouve que chez certains individus parmi la population hôte (Tsuchida et al., 2004). Plusieurs d'entre elles possèdent un rôle dans l'adaptation écologique de leur hôte. Elles peuvent par exemple conduire à une spécialisation de leur insecte hôte sur une plante hôte comme le montrent de récentes recherches sur les symbiotes secondaires de *Bemisia tabaci* (Benhamou, 2022). D'autres bactéries peuvent avoir un effet sur la couleur de leur hôte comme *Rickettsiella viridis* sur le puceron du pois (Feldhaar, 2011). Les bactéries secondaires peuvent souvent conférer des avantages à leur porteur, améliorant leur fitness. Les bactéries du genre *Wolbachia* par exemple, présentes chez de nombreux arthropodes, notamment chez des coléoptères et des thysanoptères (*Echinothrips amearicanus* ou *Gynaikothrips ficorum*), impactent la reproduction de leur hôte. Sans ce symbiote, l'hôte ne peut pas avoir de descendants (Kumm & Moritz, 2008 ; Chen et al., 2012). Certaines bactéries protègent leur hôte contre des stress abiotiques comme des chocs thermiques. Ainsi, la bactérie *Serratia symbiotica* présente chez plusieurs pucerons peut conférer à leur porteur une meilleure résistance au stress thermique (Renoz, 2017). D'autres bactéries offrent à leur hôte une protection contre des champignons entomopathogènes telle *Regiella insecticola* portée par le puceron du pois ou certaines bactéries portées par *Streptomyces* (Olivier et al., 2014 ; Vorburger & Perlman, 2018). Enfin, il existe des bactéries permettant de protéger leur hôte contre des micro-organismes, des prédateurs ou des nématodes (*Spiroplasma* protège *Drosophila neotestacea* contre des nématodes), mais aussi contre des parasitoïdes, telle *Hamiltonella defensa* (Ferrari et al., 2004).

Il a clairement été démontré que les bactéries symbiotiques posent problème dans l'utilisation des parasitoïdes en lutte biologique. Des études de terrain ont montré que les taux de parasitisme diminuaient fortement en présence de bactéries protectrices dans les populations de pucerons (Vorburger, 2017). Cependant, certains parasitoïdes pourraient contourner cette résistance de leur hôte.

3. Réponses des parasitoïdes face aux protections symbiotiques de leur hôte

L'interaction entre les parasitoïdes et leurs hôtes peut aboutir à des phénomènes de coévolution : l'évolution de l'hôte va influencer l'évolution du parasitoïde et réciproquement (Ridley, 1997). Cette coévolution est antagoniste car les intérêts du parasitoïde et de son hôte sont divergents : le parasitoïde a besoin de son hôte pour se développer, tandis que l'hôte survit s'il échappe au parasitisme (Ridley, 1997). On utilise alors l'expression « course aux armements » puisque la survie de chaque espèce est assurée par l'existence d'individus adaptés pour faire face aux capacités de l'autre l'espèce (Bilodeau, 2010).

Ainsi, si la pression de sélection exercée par les parasitoïdes entraîne une évolution rapide des populations de l'hôte, conduisant à l'apparition d'individus résistants, il peut en aller de même en sens inverse (Vorburger, 2017). Les populations de parasitoïdes exposées à des hôtes possédant une protection symbiotique, subissent de fortes pressions de sélection, pouvant conduire à l'apparition de parasitoïdes virulents face à des hôtes résistants (Guay et al., 2009). Le terme virulence signifiant que le parasitoïde est capable de parasiter son hôte et de s'y développer (Vorburger & Perlman, 2018).

Même s'il existe encore peu d'études sur le sujet, plusieurs expérimentations en laboratoire ont effectivement démontré la présence de parasitoïdes contournant la protection symbiotique. Une étude a été réalisée sur le puceron *Aphidius fabae* infecté par la bactérie *H. defensa* et parasité par *Lysiplebus fabarum*. Les résultats des expérimentations montrent que certaines lignées de parasitoïdes d'élevage testées parviennent à parasiter des clones de pucerons résistants (Rouchet & Vorburger, 2012). Les travaux de Dion et al., (2011) mettent également en avant une évolution de la virulence des parasitoïdes. Cette étude a permis de tester la virulence du parasitoïde *A. ervi* exposé à des lignées de puceron contenant *H. defensa* et d'autres ne contenant pas la bactérie protectrice. Des tests ont été effectués sur plusieurs générations, afin de montrer l'évolution du potentiel de virulence des parasitoïdes. Ainsi, les populations de parasitoïdes exposées aux pucerons résistants présentaient des capacités de contournement de la résistance au bout de plusieurs générations. L'étude de Martinez et al., (2014) est allée plus loin dans la compréhension de cette virulence, en montrant que certains hyménoptères parasitoïdes peuvent éliminer les bactéries symbiotiques présentes dans le puceron hôte après l'avoir parasité. Le stress créé par le parasitisme entraînerait une lyse bactérienne des bactéries protectrices (Martinez et al., 2014).

Ainsi, il s'agit aussi de caractériser plus précisément cette virulence des parasitoïdes face à la protection symbiotique. La littérature nous indique qu'il peut exister une diversité de réponses évolutives de la virulence des parasitoïdes face à la protection symbiotique de leur hôte.

Pour illustrer cette diversité de réponse évolutive, nous pouvons nous appuyer sur des modèles d'évolution des interactions hôte-parasite. Ces modèles impliquent que pour un gène de résistance de l'hôte, le parasite développe un gène de virulence dit « d'adaptation », chaque gène possédant plusieurs allèles (Harry, 1994). Dans le modèle gène pour gène, tous les hôtes susceptibles peuvent être infectés, quelque soit l'allèle de virulence du parasite. De même, les parasites virulents parviennent à infecter tous les hôtes, quelque soit leur niveau de résistance. Ainsi, on obtient des parasitoïdes soit avirulents ne parvenant à parasiter que les hôtes ne possédant pas d'allèle de résistance, soit virulents généralistes, parasitant tous les types de résistances. A l'opposé, le modèle du matching allele, suppose que certains parasites possèdent les allèles permettant de contourner certaines résistances mais pas de contourner tous les types de résistance. Nous obtenons alors des parasites avirulents, des parasites virulents généralistes et des parasites virulents spécialistes d'un type de résistance (Luijckx et al., 2013) (Figure 1).

A		<i>Parasite</i>		
<i>Host</i>		avirulent AA	avirulent Aa	virulent aa
	susceptible rr	infection	infection	infection
	resistant Rr	no infection	no infection	infection
	resistant RR	no infection	no infection	infection

Gene For Gene

B		<i>Parasite</i>		
<i>Host</i>		AA	Aa	aa
	rr	no infection	no infection	infection
	Rr	no infection	infection	no infection
	RR	infection	no infection	no infection

Matching allele

Figure 1, Schéma illustrant les modèles d'interaction gène pour gène et matching allèle, auteur Clay, Keith & Kover, Paula (1996).

Chaque espèce d'hôte pouvant présenter différents types de résistance symbiotique, incluant différents mécanismes, nous pouvons alors nous demander quel type de réponse est observé chez les parasitoïdes face aux protections symbiotiques de leurs hôtes.

4. Objectifs de notre étude

Il est clairement établi que certains parasitoïdes possèdent la capacité de contourner la résistance symbiotique de leurs hôtes (Rouchet & Vorburger, 2012 ; Dion et al., 2011 ; Martinez et al., 2014). Cependant, nous nous intéressons désormais à l'évolution de la virulence des communautés de parasitoïdes présents dans les milieux naturels. Ainsi, s'il a été démontré que les parasitoïdes pouvaient être confrontés à des populations de pucerons présentant des résistances symbiotiques, nous pouvons supposer qu'il existe dans le milieu naturel, des parasitoïdes contournant cette résistance (Vorburger, 2017 ; Leclair et al., 2021). Pour cela, nous nous appuyons sur le modèle du puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum* car ce modèle est très étudié en écologie et ce pour plusieurs raisons.

Tout d'abord, ce puceron possède un cortège symbiotique simple et bien connu. En plus d'une bactérie primaire *Buchnera aphidicola*, qui lui apporte des acides aminés essentiels pour sa nutrition, il possède 8 bactéries secondaires : *H. defensa*, *Regiella insecticola*, *Serratia symbiotica*, *Rickettsiella sp.*, *Fukatsuia symbiotica*, *Rickettsia sp.*, *Wolbachia* et *Spiroplasma* (Leclair, 2016). Il est établi que la bactérie *H. defensa* lui apporte une protection contre les parasitoïdes (Olivier et al., 2003). La bactérie *F. symbiotica* découverte plus récemment offre également une protection contre les parasitoïdes lorsqu'elle est présente en co-infection avec *H. defensa* (Guay et al., 2009). La bactérie *Serratia symbiotica* peut également avoir un rôle dans cette protection même si son effet est moins important que celui des bactéries précédentes (Olivier et al., 2003 ; Renoz, 2017 ; Martinez et al., 2014). Nous savons aussi que la protection conférée par *H. defensa* au puceron, est liée à la présence, dans la bactérie, d'un virus bactériophage nommé APSE (A pisum secondary endosymbionte) (Degnan et al., 2008). L'hypothèse est que certaines toxines produites par ce virus comme la CDT (Cytolethal distending toxin) permettent un arrêt du développement du parasitoïde immature ou un arrêt du développement de l'œuf du parasitoïde à l'intérieur de l'hôte (Degnan et al., 2008 ; Postic, 2017). Il existe une variabilité génétique des phages APSE, conférant différents niveaux de résistances, aux pucerons porteurs de *H. defensa* (Dion et al., 2011). Ces niveaux de résistance peuvent varier de 19% à 100% (Oliver et al., 2005).

Le puceron du pois *A. pisum* est souvent étudié car ses bactéries secondaires sont facilement manipulables : il est possible de les retirer de leur hôte ou d'en ajouter de nouvelles (Sochard et al., 2020). Cela facilite grandement les expérimentations.

Aussi, le puceron du pois est très facile à élever. Dans la nature, cette espèce se retrouve sur une large gamme de plantes hôtes dont le pois (*Pisum sativum*), la luzerne (*Medicago sativa*) et le genêt (*Genista sp.*). Chaque individu effectue tout son cycle de développement sur une seule plante hôte (espèce monoécique) et se développe spécifiquement sur cette plante hôte (Leclair, 2016). Il existe ainsi 15 biotypes de puceron du pois en fonction de la plante sur laquelle le puceron se développe (Leclair, 2016). Cependant, tous les pucerons du pois sans exception peuvent survivre sur la fève (*Vicia faba*) considérée comme un hôte universel pour ce puceron, facilitant les élevages des différents biotypes (Peccoud et al., 2009). Il faut aussi noter que dans la nature, les *A. pisum* des différents biotypes n'ont pas tous la même probabilité de posséder la bactérie protectrice *H. defensa*. La

prévalence de ce symbiote protecteur est par exemple de 80 % dans les population aphidiennes spécialisées sur la luzerne tandis qu'elle est quasiment nulle dans les populations aphidiennes spécialisées sur le pois (Leclair, 2016).

Enfin, les parasitoïdes du puceron du pois sont bien connus et très étudiés surtout *Aphidius ervi*, le principale parasitoïde d'*A. pisum*. Mais le puceron du pois peut aussi être parasité par d'autres espèces de la famille des Aphidiinae telles que *Aphidius eadyi*, *Aphidius banksae* *Praon volucre*, *Praon barbatum* et *Ephedrus plagiator* (Leclair, 2021 ; Dago, 2022). Certaines de ces espèces comme *A. ervi* sont généralistes et peuvent parasiter de nombreuses espèces de pucerons tandis que d'autres telles que *A. eadyi* sont spécifiques du puceron du pois (Navasse, 2016). Ces hyménoptères parasitoïdes sont tous des endoparasitoïdes, koinobiontes et solitaires. Lors de la ponte, ils vont injecter un venin qui va être responsable de la virulence du parasitoïde. Les toxines qu'il contient ont un effet sur le système nerveux du puceron et perturbent son système immunitaire (Guay et al, 2009). Ce sont surtout certaines protéines contenues dans ce venin ainsi que les cellules tératocytes entourant la membrane de l'œuf de parasitoïde qui sont impliquées dans cette virulence (Falabella et al., 2000). Au bout d'environ trois jours, l'œuf du parasitoïde éclot à l'intérieur de son hôte. La larve se développe encore pendant une dizaine de jours avant de transformer le puceron en momie. C'est à ce moment que le puceron meurt, vidé de ces ressources. Il faut encore quelques jours au parasitoïde devenu adulte pour percer un opercule et émerger à la surface de son hôte. (Figure 2).

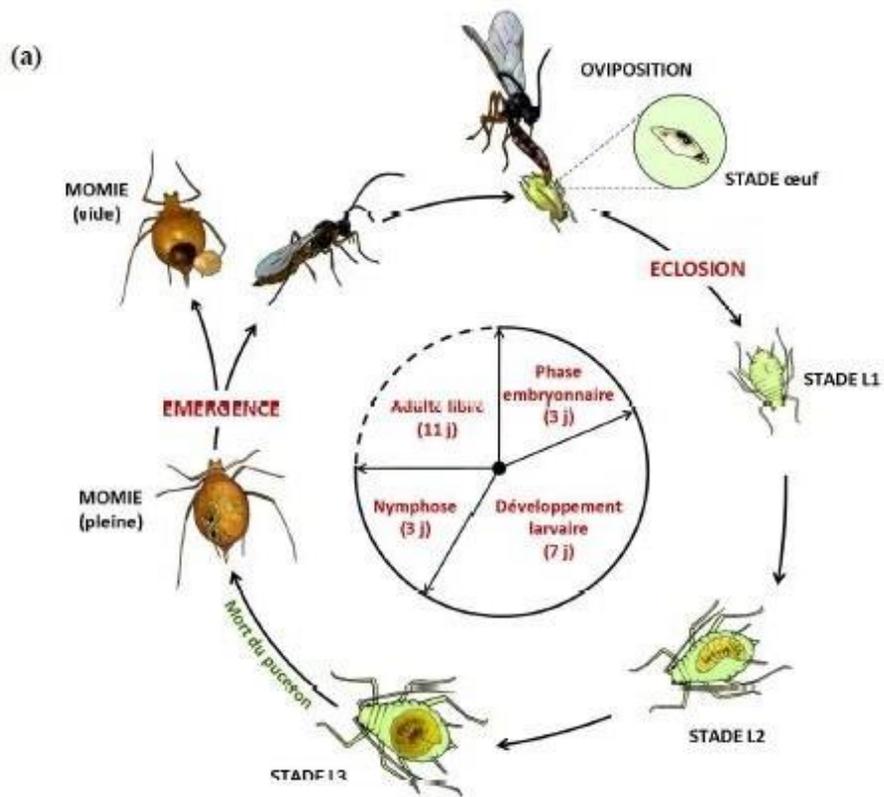


Figure 2, Cycle biologique d'Aphidius ervi
, auteur Dion, 2011

(a) Etapes du cycle, 'j' représentant le nombre de jours pour un développement à 20°C

Ainsi, en s'appuyant sur le modèle du puceron du pois nous pouvons tenter de répondre à la question suivante :

Existe-il dans le milieu naturel, des parasitoïdes parvenant à contourner la protection symbiotique de leurs hôtes ?

Si une telle adaptation des parasitoïdes existe, nous pouvons caractériser l'évolution de la virulence. Plusieurs questions y sont associées. Dans les populations naturelles, quelle est la fréquence de parasitoïdes capables de contourner la protection symbiotique ? Ces parasitoïdes virulents peuvent-ils contourner toutes les combinaisons de résistance conférées par les différents symbiotes protecteurs ou seulement une partie ? Toutes les espèces de parasitoïdes exploitant le puceron du pois possèdent-elles des capacités de virulence équivalentes ? Est-ce que la fréquence des parasitoïdes virulents dépend de la prévalence du symbiote protecteur dans les populations hôtes ? La virulence des parasitoïdes évolue-t-elle au cours du temps ? Autant de questions que nous avons abordées durant ce stage.

Ainsi, notre première hypothèse de travail est qu'il existe dans le milieu naturel, des parasitoïdes parvenant à contourner plusieurs types de résistances. Nous cherchons donc à caractériser la virulence de ces parasitoïdes face à plusieurs combinaisons de résistances possible afin d'identifier si les parasitoïdes sont des virulents généralistes pouvant contourner plusieurs résistances ou des virulents spécialistes, ne parvenant à contourner que certains types de résistance. Nous allons évaluer la virulence de parasitoïde de milieu naturel face à 3 types de résistance. La littérature nous indique que les pucerons *A. pisum* du biotype *Medicago* mono-infectés par *H. defensa* présentent une résistance variable tandis que les *A. pisum* du biotype *Medicago* co-infectés par *H. defensa* et *F. symbiotica* sont généralement totalement résistants. Enfin, les *A. pisum* du biotype *Genista* très différents génétiquement de ceux du biotype *Medicago* et mono-infectés par *H. defensa* présentent des caractéristiques particulières. En effet, bien que le symbiote *H. defensa* confère une résistance quasi complète aux parasitoïdes, les pucerons ayant résisté ont perdu leur capacité de reproduction

Nous cherchons ensuite à identifier si les parasitoïdes échantillonnés sur des populations aphidiennes présentant de fortes prévalences de symbiotes protecteurs (i.e. *H. defensa* et *F. symbiotica*), telle que les populations aphidiennes spécialisées sur la luzerne (*Medicago* sp), sont plus virulents que ceux échantillonnés sur des populations aphidiennes ne possédant pas de symbiotes protecteurs (populations spécialisées sur le pois). Pour ce faire, nous échantillonnerons des parasitoïdes présents dans des cultures de luzerne et d'autres présents dans les cultures de pois.

Aussi, nous voulons vérifier si les parasitoïdes spécialistes du puceron du pois l'espèce *A. eadyi* possèdent un potentiel adaptatif plus élevé que les espèces généralistes comme *A. ervi*. Les espèces généralistes subissant à priori une pression de sélection moins importante de la part des pucerons résistants, puisqu'elles peuvent exploiter d'autres espèces de pucerons et sont donc moins dépendantes des pucerons *A. pisum* infectés.

Enfin, nous supposons qu'il y aura une variation de la virulence des parasitoïdes au cours de la saison avec une augmentation de la virulence en fin de saison, les parasitoïdes les plus virulents ayant été sélectionnés par des pressions de sélections.

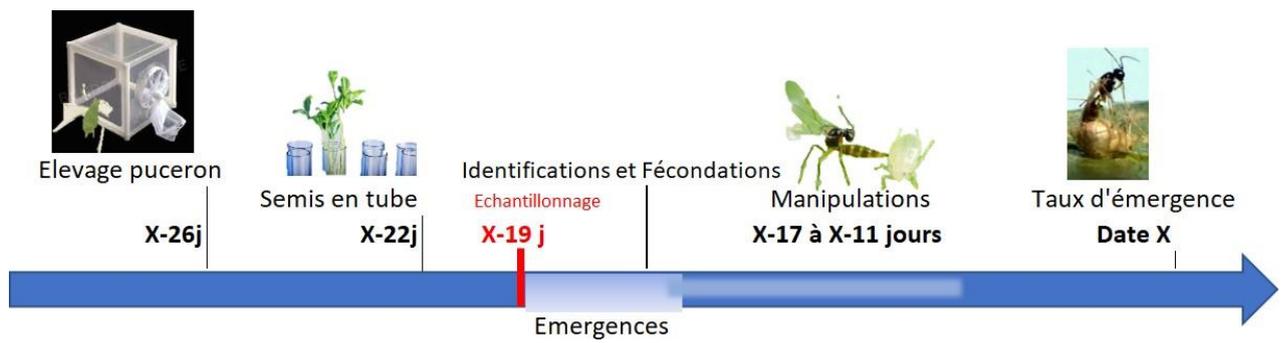


Figure 3, Schéma du calendrier type des manipulations, auteur Nawelle Malinge

Matériel et méthode

Le protocole se déroule en deux étapes principales. Dans un premier temps, nous procédons à l'échantillonnage des parasitoïdes en milieu naturel en récoltant des momies d'*A. pisum* sur des cultures de légumineuses. Dans un second temps, nous évaluons le niveau de virulence des parasitoïdes prélevés en mesurant leur réussite parasitaire sur diverses lignées aphidiennes présentant différentes protections symbiotiques (Figure 3).

1. Echantillonnage des parasitoïdes en milieu naturel

1.1 Echantillonnage des momies

Afin de récolter les parasitoïdes présents sur le terrain, nous échantillons des momies de pucerons sur 2 plantes :

- La luzerne présentant des populations d'*A. pisum* largement infectées par *H. defensa* (80% d'après l'étude de Leclair et al., 2021) et *F. symbiotica*. Les parasitoïdes exploitant les populations aphidiennes inféodées à la luzerne sont donc confrontés à une pression de sélection importante, avec un avantage pour les individus virulents. Les parasitoïdes exploitant le biotype luzerne sont principalement *A. ervi* puis *A. eadyi* (Leclair et al., 2021).
- Les populations d'*A. pisum* présentes sur le pois sont dépourvues d'*H. defensa* et de *F. symbiotica* (Leclair et al., 2021). Les parasitoïdes retrouvés dans cette culture ne sont pas confrontés à des pucerons résistants (pression de sélection liée à la protection symbiotique faible à absente). Les parasitoïdes exploitant le biotype pois sont principalement *A. ervi* et *A. avenae* remplacées par *A. eadyi* en fin de culture (Leclair et al., 2021).

L'échantillonnage est réalisé sur trois parcelles de luzerne et sur deux parcelles de pois situées dans la couronne rennaise près du domaine expérimental de l'INRAE du Rheu. Quatorze sessions d'échantillonnage sont réalisées de début avril à fin juillet. Chaque parcelle est échantillonnée au hasard et lorsqu'une momie est récoltée, on évite une nouvelle récolte à proximité afin de limiter le risque de tester les descendants d'une même femelle parasitoïde. Pour chaque session, nous échantillons le maximum de momies possible sur un temps imparti allant de 2 à 3 heures afin d'avoir une probabilité plus importante de trouver les espèces de parasitoïdes les moins fréquentes. Dans la mesure du possible, l'effort d'échantillonnage est plus important en fin de saison car les hyperparasitoïdes de puceron (i.e- des hyménoptères parasitant les parasitoïdes du puceron) sont très actifs et réduisent l'obtention de parasitoïdes à tester [1].

Les momies récoltées sont conservées dans des cages à émergence contenant du miel et un coton imbibé d'eau. Elles sont conservées aux conditions de laboratoires $18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$; 70% d'humidité $\pm 10\%$ et $L:D 16:8$ pour la photopériode jusqu'à émergence des parasitoïdes.

1.2 Identification des parasitoïdes

Suite à un échantillonnage, les émergences sont relevées tous les jours durant 5 jours (le stade nymphal est de 3 jours chez *A. ervi* (Dion et al., 2011). Une fois émergé, l'individu parasitoïde est identifié au niveau de l'espèce et sexé sous loupe binoculaire. Les femelles se distinguent des mâles par leur ovipositeur à l'extrémité de leur abdomen. On différencie les espèces grâce au tergite de l'insecte et à la forme de la momie (Annexes 1 à 4).

Plusieurs femelles et un mâle de la même espèce provenant de la même parcelle sont ensuite conservés pendant 24h dans un tube contenant une goutte de mélange eau/miel (50/50) (Cheyppé-Buchmann, 2006). Ainsi, les individus mâles et femelles émergeant des momies échantillonnées sont regroupés à l'échelle de la parcelle échantillonnée : il n'y a pas de mélange d'individus issus de deux parcelles différentes d'une même culture afin de maintenir les propriétés biologiques locales. Les femelles parasitoïdes ainsi nourries et fécondées peuvent être testées dans les jours suivants.

2. Identification du profil de virulence des parasitoïdes testés

Les expérimentations menées en laboratoire consistent à caractériser le profil de virulence des femelles parasitoïdes échantillonnées. Chaque parasitoïde sera mis en présence des lignées de puceron présentant différents types de protection symbiotique.

2.1 Choix des lignées d'*Acyrtosiphon pisum* et élevage des pucerons

Dans cette étude, 4 lignées aphidiennes ont été considérées : trois lignées issues du biotype Luzerne (*Medicago sativa*) et une lignée issue du biotype Genista.

- La lignée *L9MS_07-acg* du biotype Luzerne, est une lignée sans symbiote secondaire (i.e lignée aposymbiotique) Cette lignée est considérée ici comme témoin. Sur cette lignée, on s'attend à une performance importante des parasitoïdes testés.
- La lignée *L9MS-14* du biotype Luzerne abrite la bactérie *H. defensa*. Le niveau de résistance lié à cette infection n'est pas connu au moment des expérimentations (pour rappel, le niveau de résistance conféré par *H. defensa* peut être très variable : d'une résistance totale à une résistance très partielle).
- La troisième lignée, *L1S6-11* du biotype Luzerne est co-infectée par *H. defensa* et *F. symbiotica*. Jusqu'qu'alors, les différentes études montrent que cette co-infection dans les populations aphidiennes inféodées à la luzerne confère une résistance complète contre le parasitoïde (Dion et al., 2011, Leclair et al., 2021, Sochard, 2020).
- La lignée GT2-01 du biotype Genista abrite *H. defensa* et des études menées par l'équipe d'accueil (IGEPP) montre que la résistance conférée est complète. Cependant, bien que les parasitoïdes ne peuvent pas se développer, les pucerons parasités et ayant résisté au développement parasitaire ne parviennent pas à avoir de descendance (Leclair, 2021). De plus, il est intéressant de tester des pucerons présentant un biotype différent de la luzerne afin de savoir si le parasitoïde peut parasiter des pucerons résistants provenant de différents biotypes.



Figure 4, Schéma représentant le test de parasitisme du parasitoïde femelle sur les 4 lignées de puceron testées, auteur Nawelle Malinge



Figure 5, Photographie des plants de féveroles sur lesquels les pucerons parasités sont conservés pendant 15 jours, auteur Nawelle Malinge

Les pucerons sont utilisés dans les expérimentations aux stades L3 et L4, (i.e. larves âgées de 6-8 jours). Ce sont les stades pour lesquels le parasitisme est optimal (Bilodeau, 2010 ; Li et al., 2002). Dans nos conditions d'élevage, les pucerons se reproduisent de manière parthénogénétique : les populations sont strictement composées de femelles se reproduisant par parthénogénèse et possédant le même statut symbiotique (symbiotes à transmission verticale) (Dion et al., 2011). La lignée de puceron est donc normalement conservée au cours des générations. Les pucerons sont élevés sur des plantes de *Vicia faba*, la plante universelle sur laquelle tous les biotypes peuvent se développer (Dion et al., 2011). Ces plantes sont conservées en laboratoire aux conditions climatiques suivantes : $18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$; $70\% \text{ d'humidité} \pm 10\%$ et L:D 16 :8 pour la photopériode.

2.2 Tests de virulence des parasitoïdes

Pour les tests de parasitisme, on dispose 5 pucerons d'une lignée donnée dans une boîte de Petri comportant une feuille de féverole pour l'alimentation des pucerons. Ainsi, pour une femelle parasitoïde à tester, quatre boîtes de Petri sont préparées (i.e 1 boîte par lignée) (*Figure 4*). Le parasitoïde à tester est déposé successivement pendant quelques minutes dans chaque boîte de Petri. L'ordre d'exposition du parasitoïde aux différentes lignées de pucerons varie aléatoirement pour éviter un effet de la séquence sur la performance parasitaire. Les manipulations sont effectuées en laboratoire à température ambiante. Lorsque le parasitoïde a attaqué les 5 pucerons d'une boîte donnée, il est transféré dans la boîte suivante. Toutefois, si le parasitoïde est inactif dans une boîte donnée, il est transféré dans la boîte suivante après une quinzaine de minutes d'inactivité.

Les pucerons piqués d'une même lignée et par un même parasitoïde, sont transférés sur un plant de fève semé dans un tube recouvert d'un sachet de cellophane (*Figure 5*). Quinze jours plus tard, on relève le nombre de momies et la présence/absence de parasitoïdes émergents. Dans cette étude, on considère que :

- Si le parasitoïde testé a obtenu au minimum un descendant sur une lignée donnée, alors il est désigné virulent pour cette lignée.
- Si le parasitoïde testé n'a produit aucun descendant sur une lignée donnée alors il est désigné avirulent pour cette lignée.

De cette règle, nous pouvons en déduire 8 profils de virulences différents.

3 Analyses statistiques

3.1 Communautés de parasitoïdes dans les cultures de luzerne et pois

Dans un premier temps, nous nous intéressons aux communautés de parasitoïdes échantillonnées sur le terrain. Nous cherchons à représenter l'évolution de la répartition des différentes espèces rencontrées et à comparer cette répartition des espèces entre les cultures de luzerne et de pois. Pour comparer ces différentes fréquences relatives, nous avons utilisé des tests de χ^2 .

3.2 Virulence des parasitoïdes vis-à-vis des protections symbiotiques

Afin d'analyser l'évolution de la virulence dans les populations de parasitoïdes, nous avons testé si l'espèce de parasitoïde et sa culture d'origine (luzerne ou pois) ont un effet sur leur performance parasitaire sur les différentes lignées. A l'issue des échantillonnages menés dans cette étude, seules deux espèces ont été échantillonnées en nombre suffisant pour permettre l'analyse de leur virulence. Ainsi le facteur 'Espèce de parasitoïde' comporte ici deux modalités : *A. ervi* et *A. eadyi*.

Notre analyse statistique de la virulence est déclinée en deux parties :

Dans un premier temps, nous avons considéré chaque lignée aphidienne séparément. Ainsi, pour une lignée aphidienne donnée, nous avons testé l'effet des deux facteurs fixes ('Espèce' et 'Culture') et de leur interaction sur les deux variables réponses suivantes : la probabilité d'avoir une momie sur cette lignée et la probabilité d'avoir un descendant parasitoïde sur cette lignée. Il convient en effet de considérer ces deux réponses car si on observe la présence de momie, il est possible que la présence d'une protection symbiotique agisse sur la probabilité d'émergence du parasitoïde immature.

L'analyse des profils de virulence des parasitoïdes testés a permis (entre autres) de caractériser les deux profils de virulence extrêmes : les avirulents (individus incapables d'exploiter les pucerons porteurs de symbiotes protecteurs) et les virulents généralistes (individus capables d'exploiter toutes les lignées porteuses de symbiotes protecteurs). Ainsi, nous avons analysé l'effet de l'espèce des parasitoïdes, l'effet de la culture d'origine des parasitoïdes et l'interaction entre ces deux facteurs sur la probabilité d'obtenir un individu avirulent ou un individu virulent généraliste.

Toutes les réponses étudiées étant des variables binomiales, nous les avons analysées en utilisant des modèles linéaires généralisés mixtes, considérant une erreur binomiale et une fonction de lien 'logit'. Des individus parasitoïdes testés ayant été échantillonnés dans une même parcelle et /ou à la même date, le jeu de données comporte de la dépendance statistique. Afin de la considérer dans la modélisation, la parcelle échantillonnée ainsi que la date d'échantillonnage ont été intégrées à la modélisation en facteur aléatoire. La significativité des facteurs fixes testés et de leur interaction a été identifiée par un test de rapport de vraisemblance. En cas d'effets significatifs, les coefficients du modèle sont étudiés afin de comprendre le sens des effets. Tous les modèles statistiques ont été développés avec le package lme4.

3.3 Evolution de la virulence des parasitoïdes au cours du temps

Afin de tester si les profils de virulence relevés chez les parasitoïdes issus du terrain évoluent en fréquence au cours de la saison de culture, nous avons comparé la fréquence relative de chaque profil de virulence (voir Figure 5) entre le début de la saison et la fin de la saison en utilisant un test de χ^2 . Pour cette analyse, nous avons uniquement considéré l'espèce *A. ervi* sur les cultures de luzerne car elle représente des effectifs importants tout au long de nos échantillonnages.

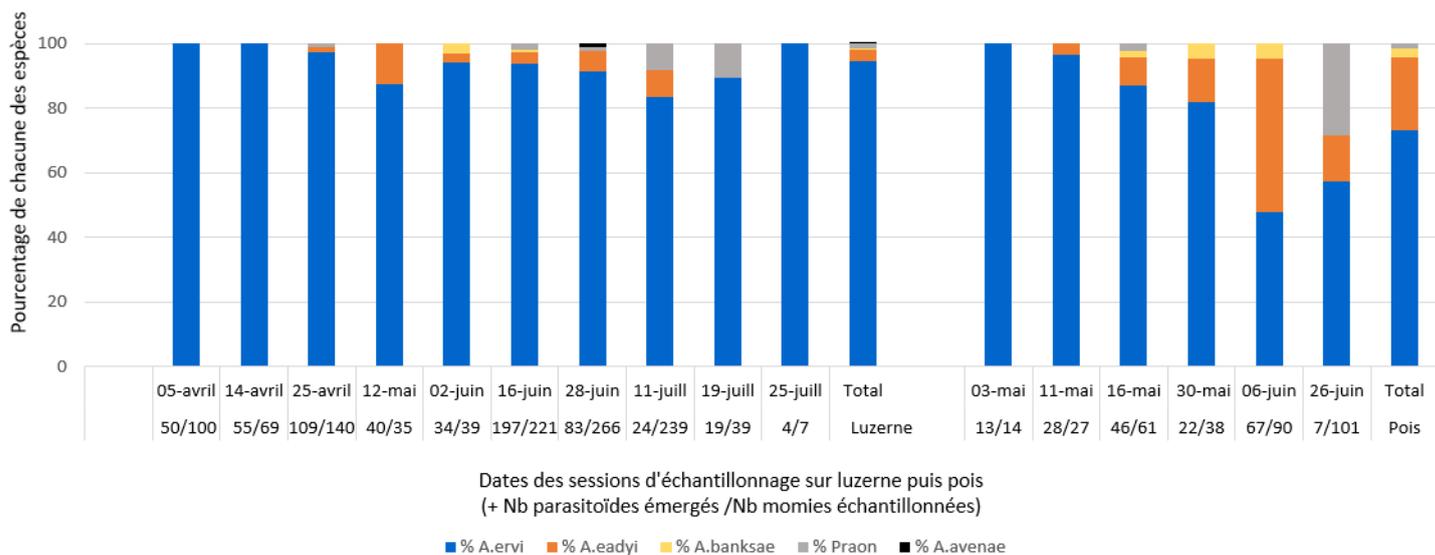


Figure 5, Histogramme représentant l'évolution de la composition des communautés de parasitoïdes prélevés sur le terrain, (Test du chi 2 effectué sur les résultats totaux des 2 biotypes : $\chi^2 = 246.97$, $df = 3$, $p\text{-value} < 2.2e-16$)

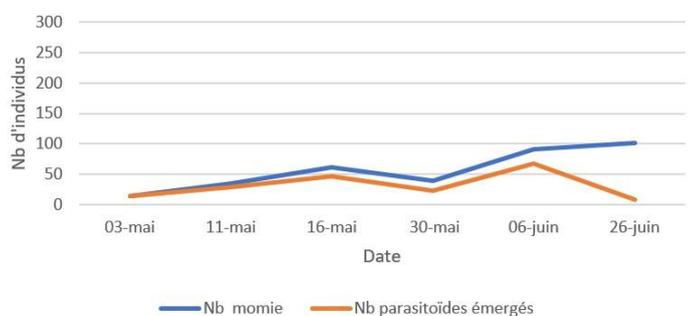
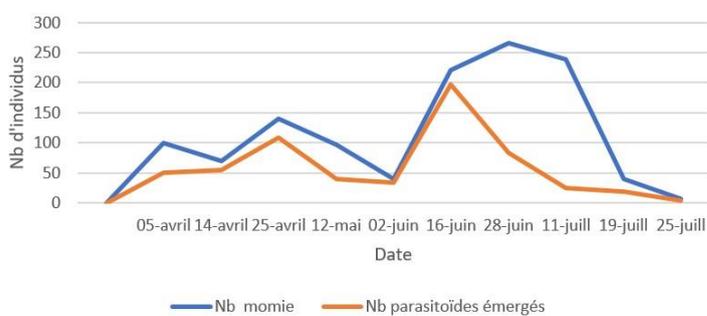


Figure 6, Nombre de momies échantillonnées et de parasitoïdes émergés en fonction de la date d'échantillonnage (sur culture de luzerne à gauche et sur culture de pois à droite)

Résultats

1. Ecologie des communautés : évolution de la répartition des espèces de parasitoïdes en milieu naturel

Au total, 1554 momies ont été prélevées sur le terrain entre avril et juillet, dont 338 sur pois et 1216 sur luzerne. De ces momies, nous avons obtenus 798 parasitoïdes émergés (183 sur pois et 615 sur luzerne). Nous avons identifié différentes espèces, dont principalement *A. ervi* (714 individus), et *A. eadyi* (63 individus) puis *Praon sp* (13 individus), *A. banksae* (7 individus) et *A. avenae* (1 individu).

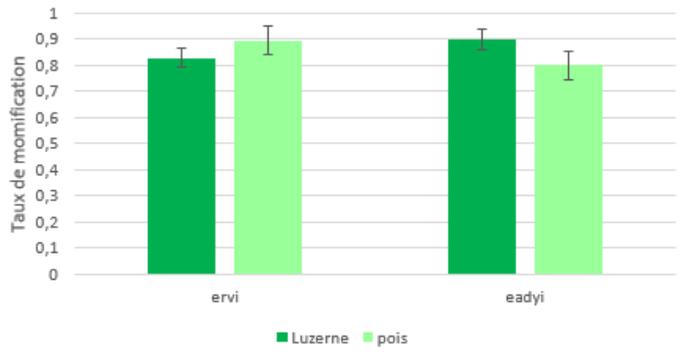
Nous remarquons sur la luzerne, qu'en début et fin de saison, nous retrouvons principalement des *A. ervi*. *A. eadyi* est une espèce apparaissant vers mi-mai et les *Praon sp* apparaissent en juin. Dans les parcelles de pois, une diversité spécifique augmente au cours du temps (*Figure 5*).

En considérant les effectifs globaux, on observe une différence significative dans la structure des communautés entre les parcelles de luzerne et de pois ($\chi^2 = 246.97$, $p < 2.2e-16$). La proportion d'*A. eadyi* dans les communautés inféodées au pois est plus importante (fréquence relative de 22 % pour le pois contre 3,5 % sur luzerne). Bien que les chiffres soient bien plus faibles, *A. banksae* serait plus présents sur pois (5 individus contre 2 sur luzerne), alors que les parasitoïdes *Praon sp* seraient plus fréquents sur les cultures de luzerne (10 individus contre 3 sur pois) (*Figure 5*).

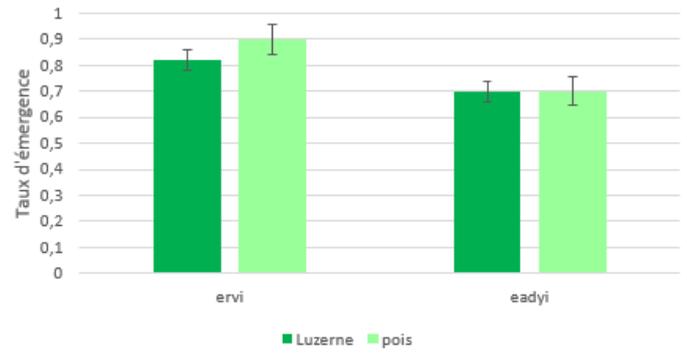
La figure 6 détaille le nombre de momies échantillonnées dans les cultures de pois et luzerne au cours de la saison et le nombre de parasitoïdes ayant émergé de ces momies. Sur la luzerne, un nombre plus important de momie a été échantillonné en juin. De même sur pois, plus de momies ont été échantillonnées en juin qu'en mai. On remarque en fin de période estivale que si on échantillonne de nombreuses momies, très peu d'individus parasitoïdes en émergent (*Figure 6*).

Lignée aposymbiotique Medicago

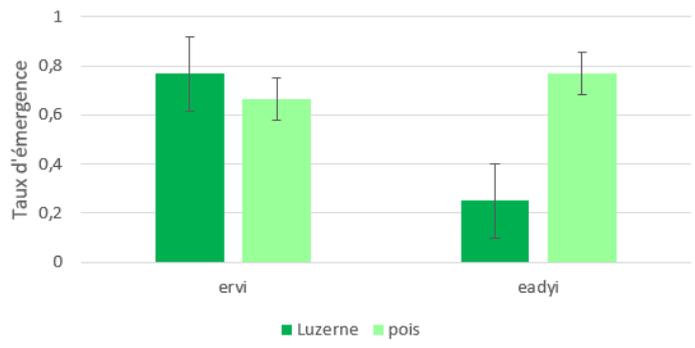
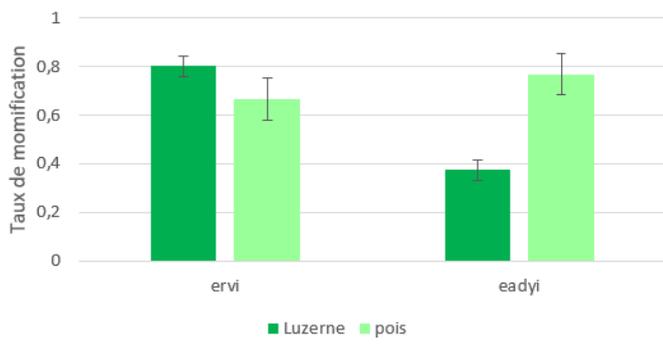
Probabilité de momification



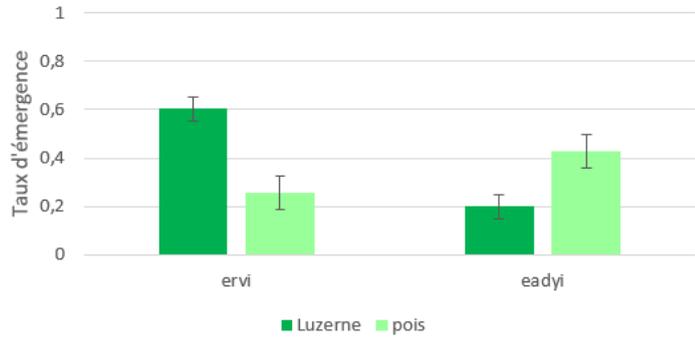
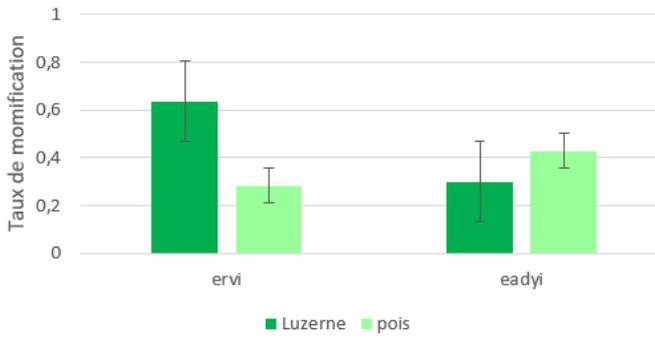
Probabilité d'obtenir un descendant



Lignée Medicago mono-infectée



Lignée LMedicago co-infectée



Lignée Genista mono-infectée

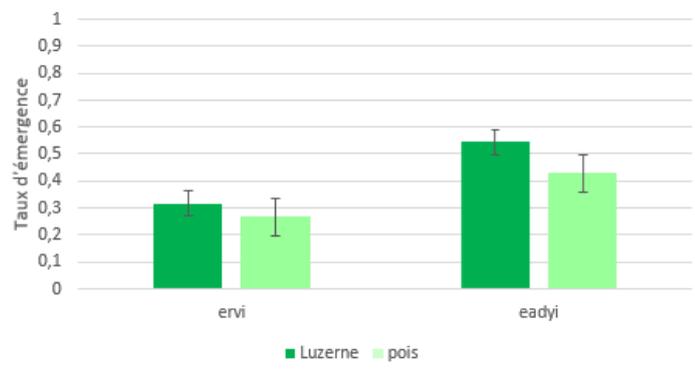
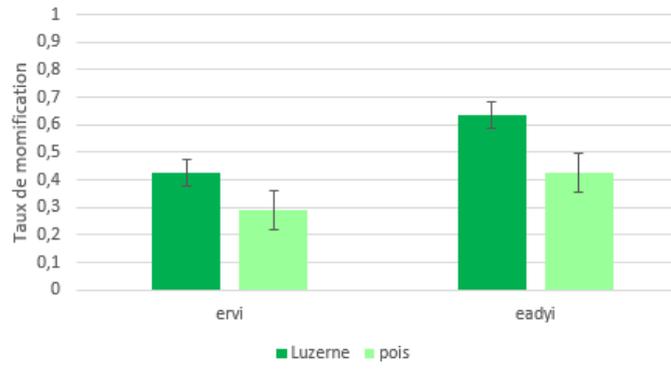


Figure 7, Représentations graphiques de la probabilité pour chaque lignée de retrouver au moins une momie sur cinq pucerons parasités (à gauche) et au moins un descendant émergeant des 5 pucerons parasités (à droite)

2. Effet de l'espèce et de la culture d'échantillonnage du parasitoïde sur sa virulence vis-à-vis de chaque lignée de puceron

Pour chacune des quatre lignées de puceron présentant différents niveaux de résistance, nous avons étudié la probabilité qu'au moins un puceron sur cinq attaqué soit momifié ainsi que la probabilité qu'au moins un descendant parasitoïde émerge parmi les cinq pucerons attaqués. Ces réponses sont testées selon l'espèce (*A. ervi* et *A. eadyi*) et la culture d'origine du parasitoïde (Pois vs luzerne). Nous remarquons que les deux probabilités étudiées sont très similaires, suggérant un taux d'émergence important. La figure 7 représente les valeurs obtenues pour ces deux variables réponses et le tableau 1 détaille les résultats des modèles statistiques.

Lignée Medicago aposymbiotique

La probabilité d'avoir une momie sur cette lignée à l'issue de l'exposition aux parasitoïdes est très importante (i.e en moyenne 0.85). Cette probabilité ne varie pas selon l'espèce de parasitoïde ni selon l'origine des parasitoïdes testés (*Figure 7, Tableau 1*). L'analyse de la probabilité d'avoir un descendant parasitoïde sur cette lignée est identique : cette probabilité est importante (i.e en moyenne 0.85) et ne varie pas selon les deux facteurs étudiés (*Figure 7*).

Lignée Medicago mono-infectée

Pour cette lignée, l'interaction entre l'espèce de parasitoïde et l'origine des parasitoïdes testés a un effet significatif sur les deux variables réponses (*Tableau 1, Figure 7*). L'effet interactif est principalement lié aux performances d'*A. eadyi* différentes selon les origines des individus testés. Ainsi, si les parasitoïdes sont globalement efficaces sur cette lignée (probabilité moyenne d'obtenir une momie de 0.64 et probabilité moyenne d'obtenir un descendant de 0.60), les individus *A. eadyi* collectés sur luzerne ont comparativement une bien plus faible performance (e.g : probabilité d'avoir un descendant : 0.77 sur pois ; 0.25 si Luzerne) (*Figure 7*).

Lignée Medicago co-infectée

Pour cette lignée co-infectée, la performance des parasitoïdes est globalement moins importante que sur la lignée *Medicago mono-infectée*. L'interaction entre les deux facteurs fixes a également un effet significatif sur les deux variables réponses (*Tableau 2*). Ainsi, les individus de l'espèce *A. ervi* échantillonnés sur la luzerne sont plus performants sur cette lignée que les individus prélevés sur le pois (e.g. probabilité d'avoir une momie 0.62 sur luzerne et 0.28 sur pois ; probabilité d'avoir un descendant : 0.59 sur luzerne contre 0.27 sur pois). Le modèle statistique révèle également que les individus d'*A. eadyi* sont plus performants lorsqu'ils ont été collectés dans le pois (e.g. probabilité d'avoir une momie : 0.3 sur luzerne et 0.43 sur pois ; probabilité d'avoir un descendant : 0.2 sur luzerne et 0.43 sur pois) (*Figure 7*). Enfin, le modèle montre que les individus parasitoïdes échantillonnés dans les parcelles de luzerne sont globalement plus performants (*Tableau 2*).

Tableau 1 : Résultats des modèles statistiques sur les deux variables réponses analysées pour chaque lignée aphidienne étudiée : (1) la probabilité de momification d'un puceron après une exposition à un parasitoïde et (2) la probabilité pour le parasitoïde d'avoir un descendant.

	Taux de momification		Taux d'émergence	
Lignée Apo. Luzerne <u>Effectif</u> luzerne pois eadyi 10 10 ervi 103 29	Interaction	$\chi^2= 1.3683$ pvalue= 0.2421	Interaction	$\chi^2= 0.62478$ pvalue= 0.4293
	Espèce	$\chi^2= 0.064803$ pvalue= 0.7991	Espèce	$\chi^2= 0.82188$ pvalue= 0.3646
	Biotype	$\chi^2= 0.24618$ pvalue= 0.6198	Biotype	$\chi^2= 0.15472$ pvalue= 0.4731
Lignée Mono.Luzerne <u>Effectif</u> luzerne pois eadyi 8 13 ervi 96 30	Interaction	$\chi^2= 4.9808$ pvalue= 0.02563 *	Interaction	$\chi^2= 6.7421$ pvalue= 0.009416 **
	Biotype	$\chi^2= 0.07579$ pvalue= 0.7831	Biotype	$\chi^2= 0.27123$ pvalue= 0.60251
	Espèce	$\chi^2= 1.9159$ pvalue= 0.1663	Espèce	$\chi^2= 2.8351$ pvalue= 0.09223 .
Lignée Co.Luzerne <u>Effectif</u> luzerne pois eadyi 10 14 ervi 108 39	Interaction	$\chi^2= 4.9711$ pvalue= 0.02577 *	Interaction	$\chi^2= 6.8802$ pvalue= 0.008716**
	Espèce	$\chi^2= 0.1408$ pvalue= 0.70751	Espèce	$\chi^2= 0.6566$ pvalue= 0.41777
	Biotype	$\chi^2= 5.3377$ pvalue= 0.02087 *	Biotype	$\chi^2= 6.2973$ pvalue= 0.01209 *
Lignée Mono. Genista <u>Effectif</u> Luzerne pois Eadyi 11 14 ervi 113 41	Interaction	$\chi^2= 0.1223$ pvalue= 0.7266	Interaction	$\chi^2= 0.039263$ pvalue= 0.8429
	Biotype	$\chi^2= 1.2221$ pvalue= 0.26894	Biotype	$\chi^2= 0.5111$ pvalue= 0.47465
	Espèce	$\chi^2= 4.5121$ pvalue= 0.03366*	Espèce	$\chi^2= 3.169$ pvalue= 0.07505 .

Lignée *Genista mono-infectée*

Sur cette lignée mono-infectée, la performance des parasitoïdes est globalement la moins importante. (La probabilité de momification est de 0.42 pour les *A. ervi* sur luzerne et de 0.63 pour les *A. eadyi* sur luzerne, celle des *A. ervi* sur pois est de 0.29 et celle des *A. eadyi* sur pois est de 0.43 ; la probabilité d'obtenir un descendant est de 0.31 pour les *A. ervi* sur luzerne et de 0.54 pour *A. eadyi* luzerne, celle pour *A. ervi* sur pois est de 0.27 et celle pour *A. eadyi* sur pois est de 0.43). Les modèles statistiques révèlent que seul le facteur 'Espèce de parasitoïde' a un effet significatif sur la probabilité de momification. Concernant la probabilité d'obtenir un descendant, la probabilité du test est proche de seuil de significativité : un nombre plus important d'*A. eadyi* testés aurait pu permettre de confirmer sa plus grande performance sur cette lignée aphidienne (*Tableau 2*).

3. Effet de l'espèce et de la culture sur la fréquence des profils de virulence

3.1 Diversité des profils de virulence

On observe une diversité des profils de virulence des différents parasitoïdes testés puisqu'il existe des individus possédants chacun des 8 profils de virulence possibles (*Figure 8*).

La différence de répartition des profils entre les parasitoïdes des deux espèces (*A. ervi* et *A. eadyi*) est significative pour les parasitoïdes échantillonnés sur pois ($\chi^2 = 24.571$, $df = 8$, $p = 0.002^*$) mais pas pour ceux échantillonnés sur luzerne ($\chi^2 = 4.666$, $df = 7$, $p = 0.700$) (*Figure 8*).

La différence de répartition des profils entre les parasitoïdes des deux biotypes (luzerne et pois) est significative pour les parasitoïdes de l'espèce *A. ervi* ($\chi^2 = 44.579$, $df = 7$, $p = 1.651e-07^*$) mais pas pour ceux de l'espèce *A. eadyi* ($\chi^2 = 5.571$, $df = 7$, $p = 0.590$). On remarque que les parasitoïdes *A. ervi* sur luzerne sont ceux qui présentent la plus grande diversité de profils de virulence tandis que les parasitoïdes *A. ervi* sur pois sont principalement virulents sur la lignée aposymbiotique et la lignée mono-infectée luzerne. Pour les parasitoïdes *A. eadyi*, la répartition des profils sur pois et sur luzerne sont ressemblant avec cependant une absence de virulence de la lignée de puceron luzerne mono-infectée pour les parasitoïdes retrouvés sur luzerne (*Figure 8*).

3.2 Probabilité d'avoir un parasitoïde virulent généraliste

Le modèle linéaire généralisé mixte montre que la probabilité d'obtenir un parasitoïde virulent généraliste ne dépend pas de l'espèce de parasitoïde ni de sa culture d'origine (*Figure 9, Tableau 2*).

3.3 Probabilité d'avoir un parasitoïde avirulent

Le modèle linéaire généralisé mixte montre que l'interaction entre les deux facteurs fixes a un effet significatif sur la probabilité d'obtenir un parasitoïde avirulent. Si on a obtenu seulement 14% de parasitoïdes avirulents dans notre étude, cette proportion est très importante dans les populations d'*A. ervi* inféodées aux cultures de pois (*Figure 9, Tableau 2*). Ainsi, dans ces populations de parasitoïdes, nous avons obtenu plus de 50 % d'individus avirulents.

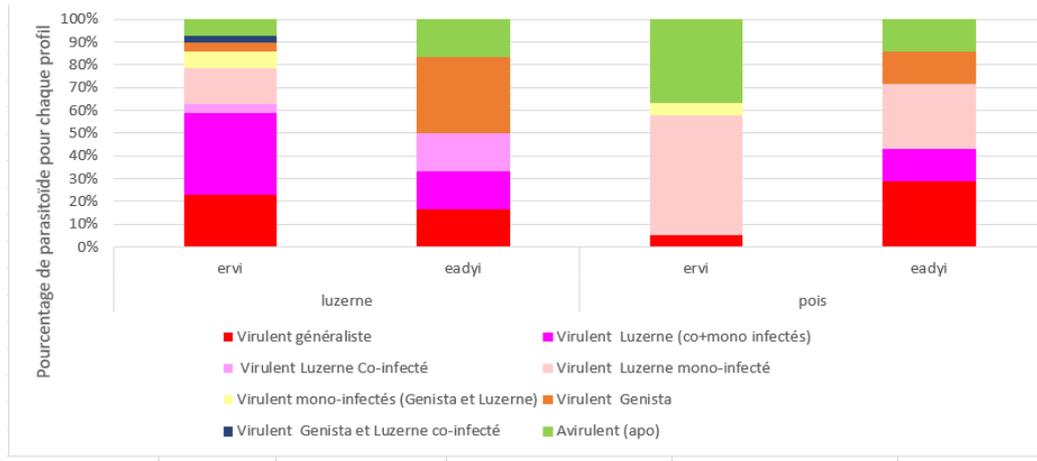


Figure 8, Répartition des profils de virulence en fonction de l'espèce et du biotype du parasitoïde testé

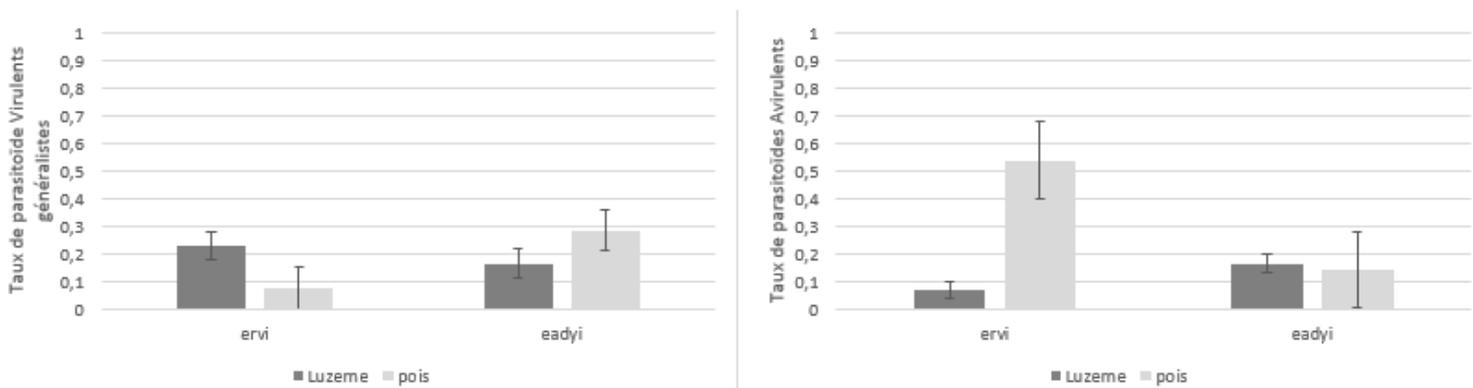


Figure 9, Graphiques représentant l'effet de l'espèce et du biotype du parasitoïde sur la probabilité d'être virulent généraliste (virulent sur les 4 lignées de puceron) ou d'être avirulent (virulent seulement sur la lignée témoin aposymbiotique luzerne)

Tableau 2, Résultats des modèles statistiques réalisés sur R, sur la probabilité d'obtenir des parasitoïdes virulents généralistes ou avirulents parmi les parasitoïdes testés

Facteurs Testés	Variables réponses	
	Probabilité d'obtenir un parasitoïde virulent généraliste	Probabilité d'obtenir un parasitoïde avirulent
Interaction	$\chi^2= 2.0249$ pvalue= 0.1547	$\chi^2= 4.6509$ pvalue= 0.03104 *
Espèce	$\chi^2= 0.39457$ pvalue= 0.5299	$\chi^2= 0.018$ pvalue= 0.89322
Biotype	$\chi^2= 1.6098$ pvalue= 0.2045	$\chi^2= 4.133$ pvalue= 0.04205 *

4. Effet de la date sur la fréquence des profils de virulences

Le nombre d'individus testés ne permettant pas de faire des statistiques pour toutes les dates et pour toutes les espèces, nous avons choisi de regrouper les profils de virulences des parasitoïdes *A. ervi* échantillonnés sur luzerne lors des 3 premières sessions en avril (45 individus) et de les comparer à ceux des *A. ervi* échantillonnées sur luzerne lors des dernières sessions de mi-juin à fin juillet (18 individus).

Nous n'obtenons pas de différences significatives entre la répartition des profils de virulence obtenus en début et fin de saison ($\chi^2 = 2.844$, $df = 5$, $p = 0.724$) (Figure 10).

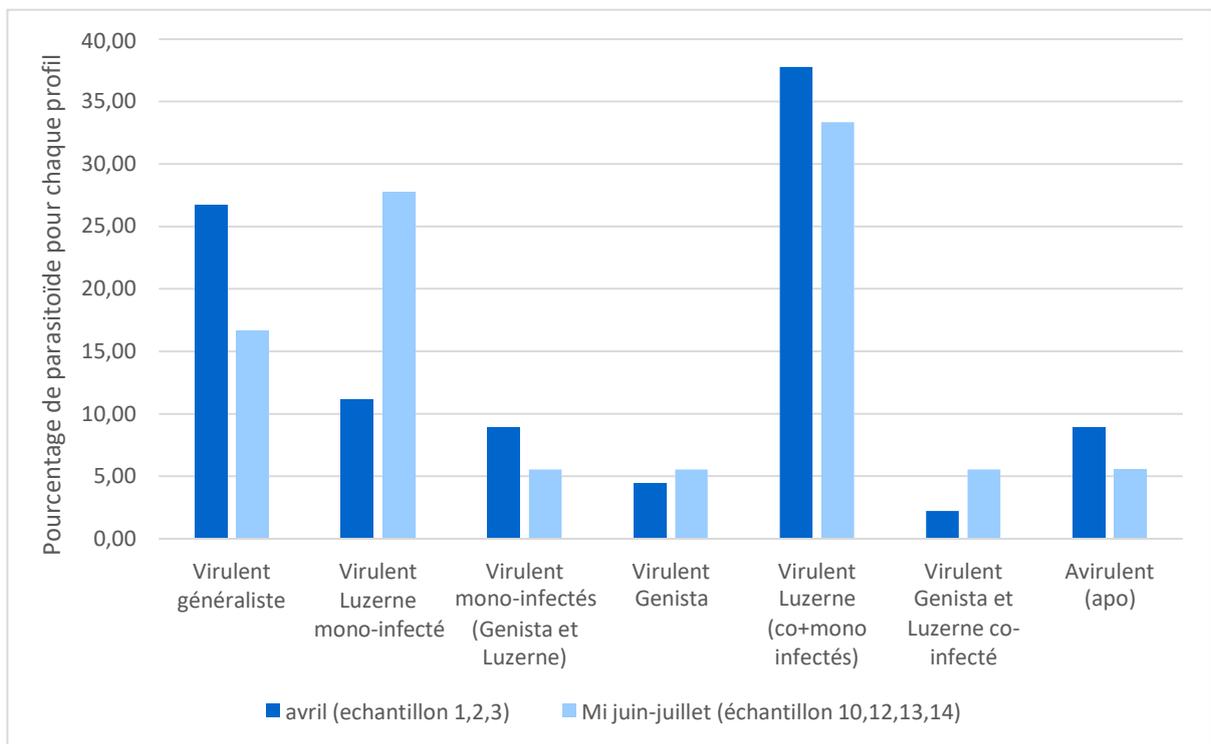


Figure 10, Répartition des profils de virulence des femelles A. ervi récoltées sur luzerne en début et fin de saison.

Discussion

L'objectif principal du stage était de tester l'existence de parasitoïdes virulents face à la protection symbiotique des pucerons dans le milieu naturel. Il s'agissait ensuite de quantifier et de caractériser cette virulence. Nos questionnements concernaient d'abord la fréquence de cette virulence dans les communautés naturelles de parasitoïdes. Puis, nous cherchions à définir si les parasitoïdes virulents pouvaient contourner une diversité de types de résistance (virulents généralistes) ou seulement certaines résistances du puceron (virulents spécialistes). Nous voulions aussi évaluer la différence de virulence entre les parasitoïdes évoluant dans un milieu dans lequel ils sont confrontés à des résistances symbiotiques et les parasitoïdes évoluant dans un milieu peu susceptible de présenter des résistances. Enfin, nous cherchions des différences interspécifiques ou temporelles dans l'évolution de la virulence des parasitoïdes.

Nos hypothèses étaient que l'on trouverait une diversité de profils de parasitoïdes, avec plus de parasitoïdes virulents dans les communautés exposées à des pucerons résistants. Aussi, nous nous attendions à ce que les parasitoïdes des espèces spécialistes du puceron du pois soient plus virulents que les espèces généralistes. Enfin, nous supposions que la virulence des parasitoïdes évoluerait au cours de la saison et que l'on trouverait plus de parasitoïdes virulents en fin de saison.

1. Communautés de parasitoïdes associées à *A. pisum*

La première étape de l'étude consistait à évaluer la présence des différentes espèces de parasitoïdes retrouvées dans les populations du puceron du pois, inféodées aux cultures de pois et de luzerne. Si l'espèce *A. ervi* domine largement les communautés, notre échantillonnage tout au long de la saison nous a permis de montrer que l'espèce *A. eadyi* était plus abondante sur les cultures de pois. Leclair et al., (2021) montrent également que cette espèce spécialiste peut supplanter les autres espèces dans les cultures du pois en fin de saison de culture. Malgré un nombre important de momies prélevées sur le terrain, les autres espèces retrouvées sont en nombre très limité (e.g. *Praon sp.*, *A. banksae*). Ces espèces mineures n'ont donc pas pu être étudiées durant le stage.

Nos relevés montrent que le taux d'émergence de parasitoïdes diminue significativement en fin de saison de culture. Cela s'explique par la présence d'hyper-parasitoïdes, des hyménoptères parasitant les larves parasitoïdes [1]. Sur le puceron du pois, on retrouve par exemple les genres *Asasphes* et *Dendrocerus*. Leur présence affecte donc la dynamique des populations de parasitoïdes. La présence de ces hyper-parasitoïdes peut alors représenter un frein à une utilisation des parasitoïdes en lutte biologique, réduisant les populations lâchées dans les cultures en fin de saison.

2. Parasitoïdes virulents face à différentes résistances dans le milieu naturel

A la question existe-t-il des parasitoïdes virulents face aux protections symbiotiques d'*A. pisum* dans le milieu naturel, notre étude répond que oui. Nos expérimentations montrent qu'effectivement, parmi les parasitoïdes que nous avons échantillonnés nous retrouvons très peu d'individus complètement avirulents (14%) face aux résistances symbiotiques testées.

Nos résultats indiquent que de très nombreux parasitoïdes parviennent à contourner la résistance de la lignée de puceron du biotype Medicago mono-infectée testée. La littérature nous indique que la résistance conférée par *H. defensa* sur les pucerons du biotype Medicago est très variable (Olivier et al., 2003). Dans notre étude, la souche de *H. defensa* testée et son phage associé ne fait donc à priori pas partie des souches très résistantes.

Globalement, la performance des parasitoïdes testés sur la lignée co-infectée du biotype Medicago est moindre que sur la lignée mono-infectée du biotype Medicago. Dans les études réalisées précédemment en laboratoire avec une seule souche de parasitoïde, cette résistance des lignées co-infectées conférait une protection totale contre le parasitisme (Dion et al., 2011, Leclair et al., 2021, Sochard, 2020).

Pour ce qui est de la lignée de puceron du biotype Genista, on retrouve une performance équivalente à la lignée co-infectée. En laboratoire, les pucerons mono-infectés *H. defensa* de ce biotype présentaient jusqu'alors une résistance totale face aux parasitoïdes testés (Leclair, 2016).

Les performances parasitaires mesurées dans notre étude sont donc très importantes par rapport aux résultats des travaux précédents effectués au sein de l'IGEPP (Dion et al., 2011, Leclair et al., 2021, Sochard, 2020). Les lignées de pucerons Medicago co-infectée et Genista mono-infectée que nous avons testées présentent une résistance plus élevée vis-à-vis des parasitoïdes d'élevage des études précédentes que par rapport aux parasitoïdes issus du milieu naturel de notre étude. Les niveaux de protections symbiotiques de ces pucerons ont donc été surestimés par rapport à ce qui se passe en milieu naturel.

3. Fréquence des profils de virulence

Notre étude permet aussi de caractériser les profils de virulence de chaque parasitoïde testé afin de mieux comprendre l'évolution de la virulence des parasitoïdes face à la protection symbiotique de leur hôte. Nous avons pu mettre en évidence qu'il existait bien des parasitoïdes virulents généralistes, capables de contourner les trois types de résistance proposés et des parasitoïdes avirulents, incapables d'exploiter ces trois lignées aphidiennes. Enfin, notre étude révèle des profils de virulence intermédiaires et donc une diversité de profils de virulence.

Pour ce qui est de la fréquence des profils avirulents, bien que l'on ait obtenu seulement 14 % de parasitoïdes avirulents dans notre étude, on remarque que pour les parasitoïdes de l'espèce *A. ervi* inféodés à la culture de pois, la part de parasitoïdes avirulents est très importante (54 %).

En revanche, la probabilité d'obtenir un parasitoïde virulent généraliste ne dépend pas de l'espèce de parasitoïde ni de sa culture d'origine. La fréquence du profil de virulent généraliste parmi l'ensemble des parasitoïdes testés est aussi assez faible (20 %).

Enfin, de nombreux parasitoïdes présentent des profils de virulences intermédiaires entre les virulents généralistes et les avirulents. Les parasitoïdes de l'espèce *A. ervi* retrouvés sur la luzerne surtout présentent des profils de virulence variés avec les 8 configurations possibles.

Pour faire une analogie avec les modèles d'interaction caractérisant les relations hôtes-parasites, nous pouvons comparer cette configuration au modèle de matching allele. En effet, pour différents

types de résistance d'*A. pisum* on obtient une majorité de parasitoïdes spécialistes qui ne parviennent à contourner que certains types de résistance.

On peut donc supposer que les différentes résistances des lignées testées impliquent différents processus puisqu'il existe des parasitoïdes parvenant à contourner seulement certaines de ces résistances.

4. Différences de virulence entre parasitoïdes de différents milieux

Une autre de nos hypothèses était que les parasitoïdes échantillonnés dans les cultures de luzerne présenteraient une virulence plus élevée que ceux échantillonnés dans les cultures de pois. Le pois étant une plante hôte accueillant des pucerons dépourvus de symbiotes protecteurs, les parasitoïdes inféodés au pois sont à priori moins exposés à la protection symbiotique (Leclair et al., 2016).

Nos résultats valident cette hypothèse pour le parasitoïde *A. ervi* mais pas pour *A. eadyi*. Pour certaines lignées aphidiennes testées, les populations d'*A. eadyi* inféodées aux parcelles de pois sont plus performantes. Nos données et des études antérieures (Leclair et al., 2021) montrent qu'*A. eadyi* peut être particulièrement fréquente dans les cultures de pois. On peut supposer que pour les *A. eadyi*, les individus présents sur pois étant plus nombreux donc possédant plus de variabilité génétique que ceux présents sur la luzerne, il existe plus d'individus dont la virulence est adaptée pour les parasitoïdes du pois que pour ceux de la luzerne.

En ce qui concerne les tests effectués sur les pucerons du biotype Genista, nous ne remarquons pas de différence entre les parasitoïdes des deux cultures. On peut émettre l'hypothèse qu'il existe un effet du biotype du puceron sur la probabilité de virulence des parasitoïdes. Les *A. ervi*/luzerne étant habitués à parasiter des pucerons du biotype luzerne contrairement aux *A. ervi*/ pois. La différence entre les parasitoïdes échantillonnés sur les cultures de luzerne et pois ne s'exprimant pas sur des pucerons d'un biotype différent (biotype Genista).

Cependant, ces hypothèses sont à nuancer puisque les effectifs des *A. eadyi* testés sont faibles (entre 8 et 14 individus selon la lignée de puceron et le biotype du parasitoïdes).

5. Différences de virulence interspécifiques

Dans notre étude, nous avons pu comparer l'évolution de la virulence chez deux espèces parasitoïdes exploitant les mêmes populations du puceron du pois : *A. ervi* et *A. eadyi*. Ces deux espèces se différencient par leur niveau de spécialisation parasitaire, l'espèce *A. eadyi* étant très spécialiste. Notre hypothèse d'une virulence plus importante chez cette espèce spécialiste par rapport à *A. ervi* généraliste, a été partiellement confirmée notamment dans les populations issues des cultures de pois. Ainsi, si le spécialiste est capable de contourner des formes de protection symbiotique, l'espèce généraliste ne le serait que dans certains environnements (i.e culture de luzerne). D'ailleurs, en étudiant plus précisément la performance des parasitoïdes vis-à-vis des trois lignées porteuses de symbiotes protecteurs, on note un effet spécifique avec des performances : si *A. ervi* est meilleure sur les lignées de Medicago, les performances de *A. eadyi* sont meilleures sur la lignée Genista.

La relation entre degré de spécialisation et niveau de virulence n'est donc que partiellement identifiée suggérant que d'autres facteurs puissent influencer l'évolution de la virulence chez les parasitoïdes comme les compromis évolutifs.

Nous avons donc montré des différences interspécifiques dans l'évolution de la virulence entre les espèces de parasitoïdes *A. ervi* et *A. eadyi*. Pour ce qui est des autres espèces, très peu d'individus ont été testés. Le seul *A. avenae* testé possédait un profil avirulent tandis que les 5 parasitoïdes du genre *Praon* testés possédaient des profils de virulence variés. Pour *A. banksae*, une étude menée en 2022 avait testé deux individus présentant deux profils différents (Dago, 2022) et dans le cadre de ce stage, les trois femelles testées ont présenté des profils différents.

6. Variation temporelle des profils de virulence

Enfin, notre dernière hypothèse était que la virulence des parasitoïdes augmente en fin de saison après que ces derniers aient été confrontés à des pucerons présentant des résistances. Cependant, nos résultats n'indiquent pas d'évolution de la virulence des parasitoïdes échantillonnés entre le début et la fin de saison. Cela peut s'expliquer par le fait que le temps de la saison est trop court pour permettre une sélection des parasitoïdes plus virulents. Une autre hypothèse est que peu de pucerons présents dans les parcelles ayant servi à l'échantillonnage, présentent des bactéries *H. defensa* et que les parasitoïdes échantillonnés n'ont donc pas été sélectionnés selon l'adaptation de leur virulence.

L'étude de l'année dernière avait cependant montré que sur les parcelles de luzernes utilisées, les taux de pucerons parasités par *H. defensa* et *F. symbiotica* étaient importants (sur 49 pucerons testés 75% infectés par les 2 bactéries et 11% non infectés) (Dago, 2022). Aussi, le nombre d'individu utilisé dans les résultats est faible surtout en fin de saison (18 individus) par rapport au nombre d'individu en début de saison (45 individus). De plus, nous n'avons pu présenter qu'un résultat pour les parasitoïdes de l'espèce *A. ervi* échantillonnés sur la luzerne. D'autres recherches restent encore à effectuer pour caractériser l'effet de la date sur l'évolution de la virulence des parasitoïdes en milieu naturel.

7. Perspectives et améliorations

Approfondissement et améliorations des expérimentations

Nos résultats restent cependant encore à approfondir. Nous pourrions tester la virulence des parasitoïdes, en adoptant une approche quantitative permettant de connaître plus précisément la capacité de chaque individu testé à parasiter une lignée de puceron donnée. En effet, dans nos expériences nous estimons qu'un parasitoïde est virulent à partir du moment où un descendant émerge sur cinq pucerons piqués. Lors de nos manipulations, nous avons effectivement compté le nombre de momie et le nombre de descendant sur chacune des lignées de pucerons pour chaque parasitoïdes testés. Toutefois, le nombre de piqure réalisée par la femelle parasitoïde sur une lignée de puceron donnée n'étant pas toujours égale à 5 mais parfois à 4 ou moins, nous n'avons pas effectué de test statistique correspondant à des variables quantitatives.

Ces nombres de pique inégaux s'expliquent par le fait que certains parasitoïdes femelles étaient réticents pour piquer les pucerons. Nous avons notamment remarqué que plusieurs parasitoïdes ne semblaient pas motivés pour parasiter les pucerons de la lignée du biotype *Medicago* mono-infecté *H. defensa*. Ces femelles se comportaient comme s'il n'y avait pas de pucerons dans la boîte de Petri. Les pucerons de cette lignée étant de couleur rose contrairement aux pucerons des autres lignées qui sont verts, nous pouvons nous demander s'il n'y a pas un impact de la couleur sur les taux d'oviposition des parasitoïdes. Plusieurs études indiquent en effet, que les parasitoïdes *A. ervi* préféreraient parasiter les pucerons verts par rapports aux pucerons roses (Bilodeau, 2010 ; Libbrecht et al., 2007 ; Losey, 1997 ; Langley et al., 2006 ; Powell et al., 1998). Nous pouvons noter que lors de nos manipulations, cette préférence des pucerons verts était surtout visible chez les espèces *A. eadyi* et *A. banksae* (pour les quelques individus qui ont pu être testés).

Aussi, il faut signaler que plusieurs résultats de nos expériences n'ont pas pu être pris en compte puisque 15 jours après les manipulations, nous avons retrouvé des pucerons morts et nous n'avons alors pas pu comptabiliser le nombre de momies. Nous ne savons pas à quoi est due cette mortalité. Bien que les pucerons parasités soient conservés dans des chambres climatiques, les manipulations étaient réalisées à température ambiante. Des températures plus élevées pourraient être la cause de ces mortalités. Aussi, certains parasitoïdes pouvant piquer plusieurs fois le même puceron, la virulence du venin injecté pourrait expliquer cette mortalité. Cette mortalité des pucerons a surtout touché les lignées aposymbiotiques et mono-infectée *H. defensa* des pucerons du biotype *Medicago*, ce qui ne correspond pas à un coût des bactéries protectrices, affaiblissant les pucerons infectés.

Coûts de la virulence et lutte biologique

Dans la littérature, il a été identifié que les pucerons porteurs de bactéries symbiotiques sont souvent plus faibles que ceux n'étant pas infectés, puisqu'une partie de l'énergie de ces pucerons est consacrée aux bactéries symbiotiques protectrices. Il existe des coûts directs pour le puceron, correspondant à un compromis dans l'allocation des ressources pour la symbiose ou pour d'autres fonctions comme la croissance ou la reproduction (Polin et al., 2014). D'autres coûts pour le puceron sont des coûts écologiques. Par exemple, une étude a mis en évidence que les pucerons possédant des symbiontes protecteurs réagissaient moins à la présence de prédateurs comme les coccinelles et étaient alors plus susceptibles d'être prédatés (Polin et al., 2014). Ainsi, si les pucerons ne sont pas confrontés à des parasitoïdes, la présence de bactéries protectrices comme *H. defensa* représente un frein dans leur survie et leur développement. On peut se demander si des populations de pucerons n'étant pas confrontés aux parasitoïdes pourraient alors perdre leurs bactéries protectrices et être donc de nouveaux susceptibles au parasitisme. Vorburger, (2018) propose dans son étude d'effectuer des estimations de la dynamique temporelle de la présence des bactéries protectrices dans les populations naturelles de puceron. De même, on peut se poser la question de savoir si la virulence des parasitoïdes représente un coût pour ces derniers, même si dans ce cas, le fait de parasiter les pucerons est obligatoire pour assurer la survie de l'espèce. Des études ont montré que les parasitoïdes virulents face aux lignées protégées présentaient une réduction de leur taille et notamment une réduction de la taille de leur tibia (Dion et al., 2011). Il serait ainsi intéressant de mesurer la taille des parasitoïdes testés lors de notre étude. D'autres études ont indiqué que les parasitoïdes contre-adaptés présentaient un développement retardé et des taux d'émergence plus faibles (Nyabuga et al., 2010 ; Schmid et al., 2012). Aussi, des parasitoïdes d'élevages n'étant pas confrontés à des pucerons résistants pourraient perdre leur adaptation et être de nouveaux incapables de parasiter des pucerons

résistants. Cela peut être à approfondir pour une optimisation de la production d'auxiliaires de masse. Vorburger, (2018) suggère d'ailleurs dans le cadre d'une utilisation des parasitoïdes en lutte biologique, de veiller à maintenir la diversité génétique des parasitoïdes dans les élevages et à élever les parasitoïdes sur des pucerons possédant les symbiotes protecteurs.

Mécanismes de résistance et de virulence

Aussi, un autre point à noter est que nous ne connaissons pas exactement les mécanismes qui entraînent la résistance des lignées testées. En effet, nous ne connaissons pas les phages APSE contenus dans les bactéries des différentes lignées testées. Plusieurs études indiquent que ce sont ces phages qui confèrent une résistance au puceron contre les parasitoïdes et qu'il existe chez le puceron du pois au moins 4 souches distinctes connues à ce jour conférant différents niveaux de résistances (Rouil et al., 2020). Ils seraient ainsi intéressants de réaliser des études de biologie moléculaire pour mieux connaître l'origine de la résistance des pucerons testés dans nos expériences. On peut supposer que les pucerons que nous avons utilisés, possèdent des phages induisant une résistance puisque les taux de virulence de nos parasitoïdes sur ces pucerons sont moins élevés que ceux du témoin. Il a aussi été démontré que certains pucerons du pois ne contenant pas *H. defensa* peuvent tout de même présenter une résistance face aux parasitoïdes, bien que l'on ne connaisse pas les mécanismes impliqués (Guay et al., 2009). Cela n'est pourtant pas le cas de la lignée aposymbiotique testée qui présente de hauts taux de parasitismes et qui avait déjà été évaluée l'année précédente (Dago, 2022). Pourtant, l'étude des phages APSE contenus dans les bactéries des lignées infectées testées apporterait la confirmation que la résistance de ces pucerons est bien due au cortège symbiotique.

Du côté des parasitoïdes, il serait intéressant de comprendre quelles molécules sont impliquées dans la virulence des parasitoïdes face aux pucerons résistants. En effet, les protéines contenues dans le venin des parasitoïdes injecté durant l'oviposition, sont en partie responsables de la virulence du parasitoïde. On parle de facteur de virulence (Dion et al., 2011). On retrouve notamment les γ -glutamyl transpeptidase (γ GT) chez *A. ervi* et des protéines (extracellular fatty acid 18 binding protein (FABP) et enolase (ENO)) produites par les tératocytes, ces cellules se détachant de la membrane séreuse de l'œuf du parasitoïde au moment de l'éclosion et continuant à se développer durant toute la période larvaire du parasitoïde (Falabella et al, 2009). L'étude de ces protéines et du génome des parasitoïdes virulents et avirulents permettrait de mettre en évidence les différences entre ces deux types de parasitoïdes et de savoir par exemple s'il existe un isolement reproducteur entre parasitoïdes virulents et avirulents.

Conclusion

Nous avons donc mis en évidence l'existence, dans le milieu naturel, de parasitoïdes virulents face à plusieurs types de résistantes portées par le puceron du pois *A. pisum*. Les différents parasitoïdes testés présentent des profils de virulence variés car la plupart d'entre eux ne sont virulents que face à certaines lignées de pucerons et très peu sont virulents généralistes ou avirulents. Aussi, en ce qui concerne les effets sur la virulence du parasitoïde, de la culture du parasitoïde, de son espèce et de la date à laquelle il a été échantillonné, nous avons montré que nos hypothèses de départ étaient souvent à nuancer et qu'il existe sûrement d'autres facteurs impliqués dans l'évolution de cette virulence.

Dans le cadre de la lutte biologique, notre étude apporte cependant des éléments intéressants. Ainsi, les parasitoïdes d'élevage utilisés dans les études précédentes sont moins virulents face aux lignées de pucerons testées que les parasitoïdes du milieu naturel que nous avons pu échantillonner lors de ce stage. Les parasitoïdes du milieu naturel étant sans doute confrontés à une plus grande quantité de pucerons résistants, les populations présentent une virulence accrue face à ces résistances. Aussi, dans les élevages d'auxiliaire de masse il serait donc important d'introduire régulièrement des parasitoïdes provenant du milieu naturel. Cependant, il est à noter que si de nombreux parasitoïdes de milieux naturels peuvent contourner la résistance des pucerons, il se peut que les populations de pucerons finissent par ne plus contenir d'individus résistants, la résistance représentant un coût et n'étant plus un bénéfice pour la survie de ces pucerons. Ainsi, comme le suggère Vorburger (-2018), il serait utile de faire des suivis de la présence de bactéries protectrices dans les populations aphidiennes en milieux naturels.

Afin d'approfondir les recherches effectuées durant ce stage, et pour mieux comprendre l'évolution de la virulence des parasitoïdes face au puceron, il serait intéressant de tester plus d'individus parasitoïdes face aux mêmes lignées de pucerons résistants notamment de l'espèce *A. eadyi* et des autres espèces échantillonnées en faibles quantités. De plus, des études quantitatives caractérisant le niveau de virulence de chaque individu testé permettraient de mieux définir le niveau de virulence des parasitoïdes face aux pucerons résistants. Enfin, pour mieux comprendre les mécanismes de virulence ayant lieu au niveau moléculaire, les descendants des parasitoïdes virulents généralistes et avirulents issus de nos manipulations seront analysés lors d'études protéomiques en collaboration avec l'INRAe de Sophia Antipolis.

Bibliographie

Ao et al., 2007. *Drosophila* C-type lectins enhance cellular encapsulation. *Molecular Immunology* Volume 44, Issue 10, April 2007, Pages 2541-2548. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2006.12.024>

Benhamou, 2022. Influence des symbiotes secondaires sur l'utilisation et la sélection de la plante hôte chez l'aleurode du tabac, *Bemisia tabaci*. *Biologie végétale*. Université de Lyon, 2022. Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive. UMR 5558.

Bensadia, 2005. Effet de la température sur la symbiose bactérienne et la résistance de *Acyrtosiphon pisum* Harris (Hemiptera : Aphididae) au parasitisme de *Aphidius ervi* Haliday (hymenoptera : Braconidae). Mémoire présenté à la faculté des études supérieures de l'Université de Laval, département de biologie, faculté des Sciences et génie. pp1-4

Bilodeau, 2010. Aspects génétiques et écologiques de la coévolution plante-puceron du pois-guêpe parasitoïde. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval. Département de biologie faculté des science et génie université laval Québec

Boivin, 2001. Parasitoïdes et lutte biologique : paradigme ou panacée ? *Vertigo*. La revue électronique en science de l'environnement. Volume 2 numero 2 La lutte biologique. Dossier : Le lutte biologique. <https://doi.org/10.4000/vertigo.4096>

Burnell, 2001. Heterorhabditis, Steinernema and their bacterial symbionts — lethal pathogens of insects. Department of Biology, National University of Ireland Maynooth, Maynooth, Co. Kildare, Ireland. Department of Nematology, University of California Davis, CA 95616-8668, USA. Presented at the symposium 'Biodiversity in the phylum Nematoda', Gent, Belgium, 17 September 1999

Chen et al., 2012. Identification and biological role of the endosymbionts *Wolbachia* in Rice Water Weevil (Coleoptera : Curculionidae). *Environmental Entomology*, Volume 41, Issue 3, 1 June 2012, pages 469-477, doi: <https://doi.org/10.1603/EN11195>.

Cheyppe-Buchmann, 2006. Comportement d'exploitation de colonies de pucerons par un insecte parasitoïde. Estimation bayésienne de l'environnement basée sur le temps de trajet entre les colonies. Master 2 Recherche Science de la Vie et de la Santé U.M.R.1112 Institut National de la Recherche Agronomique – Université Nice Sophia Antipolis

Clay, Keith & Kover, Paula (1996). The Red Queen Hypothesis and plant/pathogen interactions. *Annual review of phytopathology*. 34.29-50. [10.1146/annurev.phyto.34.1.29](https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.34.1.29)

Corbin et al., 2021. Thermal sensitivity of the *Spiroplasma–Drosophila hydei* protective symbiosis: The best of climes, the worst of climes. *Molecular ecology*. Volume 30, Issue 5, March 2021. Pages 1336-1344. <https://doi.org/10.1111/mec.15799>

Dago, 2022. Evolution de la virulence des parasitoïdes face à la protection symbiotique de leur hôte. Mémoire de master 2 Ecologie Evolution et comportement. IGEPP. Université de Tours. Document interne.

Degnan & Moran, 2008. Diverse phage-encoded toxins in a protective insect endosymbiont. *Applied and Environmental Microbiology* 74: 6782-6791.

Dion et al., 2011. Effet de l'écologie d'un hôte sur l'évolution de son principal parasitoïde. Thèse présentée à Agrocampus Ouest. Préparée au sein de l'équipe 'Biologie et génétique des populations d'insectes' UMR 1099 INRA-Agrocampus-Ouest-Université de Rennes1 Bio3P

Douglas, 1998. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria Buchnera. *Annual review of entomology*, 43(1), 17-37.

Falabella et al., 2000. Host regulation by the aphid parasitoid *Aphidius ervi*: the role of teratocytes. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 97: 1-9.

Feldhaar, 2011. Bacterial symbionts as mediators of ecologically important traits of insect hosts. *Ecological Entomology*, 36(5), 533–543. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2011.01318.x>

Ferrari et al., 2004. Linking the bacterial community in pea aphids with host-plant use and natural enemy resistance. *Ecological Entomology* 29: 60-65.

Fievet et al., 2009. Live with the dead: when the body count rises, prey stick around. *Behavioral Ecology*, 20: 251-257.

Gelman et al., 2005. Host-parasitoid interactions relating to penetration of the whitefly, *Bermisia tabaci*, by the parasitoid wasp, *Eretmocerus mundus*. *Journal of Insect Science* 5.

Gerardo et al., 2010. Immunity and other defenses in pea aphids, *Acyrtosiphon pisum*. *Genome Biology* 11.

Godfray, 1994. *Parasitoid, Behavioural and Evolutionary Ecology*. Princeton University Press, Chichester, UK, 478 pages.

Guay et al., 2009. Impact of environmental stress on aphid clonal resistance to parasitoids : Role of *Hamiltonella defensa* bacterial symbiosis in association with a new facultative symbiont of the pea aphid. *Journal of Insect Physiology*. Volume 55, Issue10, October 2009, Pages 919-926.

Guyomar, 2018. Développement et applications d'outils d'analyse métagénomique des communautés microbiennes associées aux insectes. Thèse présentée à Rennes le 07/12/2018. Unité de recherche IGEPP et IRISA.

Harry et al., 1994. La coévolution plantes-insecte : l'engrenage de deux enjeux génétiques. *Biologies des espèces*. *Insectes* n°94-1994 (3).

Huot, 2019. Analyse moléculaire de la réponse immunitaire du lépidoptère *Spodoptera frugiperda* au complexe nématobactérien entomopathogène *Steinernema carpocapsae*-*Xenorhabdus nematophila*. DGIMI - Diversité, Génomes & Interactions Microorganismes - Insectes [Montpellier]. tel-02861890 , version 1 (09-06-2020)

Jaenike et al., 2010. Adaptation via symbiosis: recent spread of a *Drosophila* defensive symbiont. *Science* 329, 212–215. doi: 10.1126/science.1188235

Jourdheuil et al., 1991. La lutte biologique : un aperçu historique. *Courrier de la cellule environnement INRA*, 1991 15 (15), pp.37-60. (hal-01207929)

- Kumm & Moritz, 2008. First Detection of Wolbachia in Arrhenotokous Populations of Thrips Species (thysanoptera : Thripidae and Phlaeothripidae) and its role in reproduction. Environmental Entomology, Volume 37, Issue 6, 1 December 2008, Pages 1422-1428, doi: <https://doi.org/10.1603/0046-225X-37.6.1422>
- Langley et al., 2006. Learning by the parasitoid wasp, *Aphidius ervi* (Hymenoptera : Braconidae), alters individual fixed preferences for pea aphid color morphs. *Oecologia* 150:172-179.
- Leclair, 2016. Dynamique évolutive des symbioses protectrices chez les insectes. Thèse préparée à l'unité de recherche mixte 1349 IGEPP Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes et soutenue à Agrocampus Ouest Rennes le 15-12-2016. Thèse sous la direction de Yannick Outreman et Jean-Christophe Simon. pp13-14
- Leclair et al., 2021. A link between communities of protective symbionts and parasitoids through their common pea aphid hosts revealed in unmanipulated agricultural systems. *Frontiers in Ecology and Evolution*, DOI: 10.3389/fevo.2021.618331
- Li, 2002. Pea aphid clonal resistance to the endophagous parasitoid *Aphidius ervi*. *Journal of Insect Physiology* 48 (2002) 971–980 2002 Elsevier Science Ltd.
- Libbrecht et al., 2007. *Aphidius ervi* preferentially attacks the green morph of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Behavior* 20:25-32
- Losey, 1997. A polymorphism maintained by opposite patterns of parasitism and predation. *Nature* 388:269-272.
- Luijckx et al., 2013. A matching-allele model explains host resistance to parasites. *Current biology*. CellPress. Volume 23, Issue 12, 17 June 2013, pages 1085-1088
- Luquet, 2019. Relation entre diversité et exploitation de ressources : exemple des parasitoïdes *Aphidius* dans des associations de cultures. Thèse soutenue le 17-12-19 à Rennes, Agrocampus ouest dans le cadre de l'école doctorale Ecologie Géosciences Agronomie Alimentation (Rennes), en partenariat avec Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes. Thèse sous la direction de Sylvia Anton et de Anne-Marie Cortesero.
- Martinez et al., 2014. Effects of parasitism on aphid nutritional and protective symbiose. *Molecular Ecology* (2014) 23,1594-1607 Department of Entomology, University of Georgia, Athens, GA 30602, USA doi: 10.1111/mec.12550
- Moran et al., 2005. The players in a mutualistic symbiosis: insects, bacteria, viruses, and virulence genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 Nov 22;102 (47):16919-26. doi: 10.1073/pnas.0507029102.Epub 2005 Sep 29.
- Mauricio & Bower, 1990. Do caterpillars disperse their damages –Larval foraging behavior of two specialist herbivores, *Euphydryas phaeton* (Nymphalidae) and *Pieris rapae* (Pieridae). *Ecological Entomology* 15: 153-161.
- Navasse, 2016. Spécialisation parasitaire chez les Aphidiinae : existe-t-il des parasitoïdes de pucerons généralistes ? Thèse sous la direction de Anne Le Ralec et de Manuel Plantegenest. Soutenue le 07-12-2016 à Rennes 1 , dans le cadre de École doctorale Vie-Agro-Santé (Rennes) , en partenariat avec Université Bretagne Loire (2016-2019) (ComuE) et de Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes (laboratoire)

- Nyabuga et al., 2010. Effects of pea aphid secondary endosymbionts on aphid resistance and development of the aphid parasitoid *Aphidius ervi*: a correlative study. *Entomol. Exp. Appl.*, 136, 243–253.
- Olivier et al., 2003. Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasp. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 1803-1807
- Oliver et al., 2005. Variation in resistance to parasitism in aphids is due to symbionts not host genotype. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 102, 12795–12800. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506131102>
- Olivier et al., 2014. Defensive symbiosis in the real world-advancing ecological studies of heritable protective bacteria in aphids and beyond. *Functional Ecology*, 2014. 28(2): pp 341-355. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12133>
- Peacor, 2003. Phenotypic modifications to conspecific density arising from predation risk assessment. *Oikos*, Vol.100, No. 2 (feb., 2003), pp. 409-415. Doi: <https://www.jstor.org/stable/3548202>
- Peccoud et al., 2009. A continuum of genetic divergence from sympatric host races to species in the pea aphid complex. *Proc Natl Acad Sci* 106:7495–7500. <https://doi.org/10.1073/pnas.0811117106>
- Polin et al., 2014. An ecological cost associated with protective symbionts of aphids. *Ecology and Evolution* 2014 ; 4(6) : 836-840 doi :10.1002/ece3.991
- Postic, 2017. Caractérisation de pucerons et efficacité des parasitoïdes dans le cadre d'un programme de lutte biologique en culture de fraisier sous abri. Mémoire de stage réalisé à Savéol Nature, Brest et UMR IGEPP, Rennes sous la direction de R.Souriau, A. Le Ralec, Y. Outreman.
- Powell et al., 1998. Strategies involved in the location of hosts by the parasitoid *Aphidius ervi* (Haliday) (Hymenoptera : Braconidae :Aphidiinea). *Biological Control* 11 :104-112.
- Renz, 2017. Evolution of bacterial mutualism in insects : the case of *Serratia symbiotica* in aphids. DIAL (digital access to libraries).
- Ridley, 1997. Evolution biologique traduction française de la 2 ème édition anglaise par Raymond Rasmont. DeBoeck Université. CH 22 La Coévolution. pp 610 à 638
- Rouchet & Vorburger, 2012. Strong specificity in the interaction between parasitoids and symbiont-protected hosts. *J Evol Biol.* 2012 Nov;25(11):2369-75. doi: 10.1111/j.1420-9101.2012.02608.x. Epub 2012 Sep 21. PMID: 22998667.
- Rouil et al., 2020. The Protector within: Comparative Genomics of APSE Phages across Aphids Reveals Rampant Recombination and Diverse Toxin Arsenals. *GBE*.
- Schmid et al., 2012. Development, specificity and sublethal effects of symbiont-conferred resistance to parasitoids in aphids. *Funct. Ecol.*, 26, 207–215.
- Sochard, 2020. Improving the success rate of secondary symbiont manipulation in the pea aphid system. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 168: 174-183. <https://doi.org/10.1111/eea.12878>
- St-Onge, 2016. Optimisation de l'élevage de masse du parasitoïde *Trichogramma Ostrinia*. Thèse présentée comme exigence partielle du doctorat en biologie. Université du Québec à Montréal.

Streito et al., 2018. Explorer les relations trophiques des punaises du genre *Macrolophus* : optimiser la régulation naturelle des ravageurs en cultures maraîchères sous abri. Communication dans un congrès. UMR CBGP (Centre de biologie pour la gestion des populations) et Domaine expérimental de l'Alénya-Roussillon. hal-02789009 , version 1 (05-06-2020)

Tsuchida et al., 2004. Host plant specialization governed by facultative symbiont. *Science* 303: 1989-1989.

Van Driesche & Bellows, 1996. *Biological control*. Chapman et Hall, New York, 539p.

Vorburger, 2017. Symbiont-conferred resistance to parasitoids in aphids – Challenges for biological control. *Biological control* 116(2018) 1-26.

Vorburger & Perlman, 2018. The role of defensive symbionts in host – parasite coevolution. *Biological Review*. Cambridge philosophical society. (2018),93, pp. 1747 – 1764.1747doi: 10.1111/brv.12417

Sitographie

[1] INRAe, 2023. Encyclop'Aphid/Hyper-parasitoïdes de puceron. [en ligne] .
<https://www6.inrae.fr/encyclopedie-pucerons/Pucerons-et-milieu/Antagonistes/Hyper-parasitoïdes>.
(Consulté le 27/07/2023)

Annexes

Annexe I : Clé d'identification des principales espèces d'Aphidius parasitoïdes du puceron du pois,
Auteur Christelle Buchard

Clé pour l'identification des femelles d'Aphidius sur Acyrthosiphon pisum (Harris)
en Europe

1 - Zone antérolatérale du pétiole rugosé *Aphidius ervi* Haliday

- Zone antérolatérale du pétiole costulate (striée)..... 2

2 - Zone antérolatérale du pétiole avec 2 à 6 stries épaisses*Aphidius avenae* Haliday

- Zone antérolatérale du pétiole avec plusieurs stries fines..... 3

3 - Zone antérolatérale du pétiole avec 4-6 stries presque droites.....*Aphidius smithi*
Sharma & Subba Rao

- Zone antérolatérale du pétiole avec 7-14 stries incurvées irrégulières..... 4

4 - Stigma de l'aile antérieure 1,5 à 2,2 fois plus longtemp que la veine R1 de l'aile antérieure, propodeum avec aréole pentagonale étroite ; corps généralement brun foncé.....*Aphidius eadyi* Starý, Gonzales & Hall

- Stigma de l'aile antérieure 1,1 à 1,35 fois plus longue que la veine R1 de l'aile antérieure, propodeum avec aréole pentagonale large; corps généralement jaune.....*Aphidius banksae* Kittel

Annexe II : Photographies des parasitoïdes femelles *Aphidius*



Aphidius ervi femelle

Source : Nawelle Malinge



Tergite rugosé



Tergite strié (7 à 14 stries)
d'*A. eadyi* ou d'*A. banksae*



Aphidius avenae femelle

Source : Nawelle Malinge



Tergite avec 2 à 6 stries
épaisses

Annexe III : Photographies des parasitoïdes femelles *Aphidius eadyi* et *Aphidius banksae*



Aphidius eadyi femelle

(7 à 14 stries fines sur le tergite)

Source : Nawelle Malinge



Propodeum d'*Aphidius eadyi*

(aréole pentagonale étroite (en forme de croix))

Source : Nawelle Malinge



Aphidius banksae femelle

(7 à 14 stries sur le tergite, corps souvent jaune)

Source : Nawelle Malinge

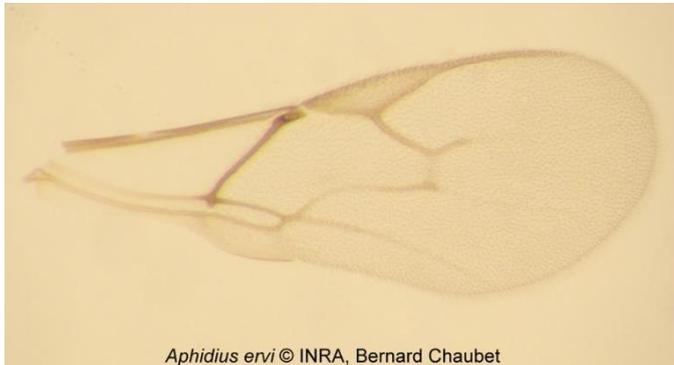


Propodeum d'*Aphidius banksae*

(aréole pentagonale large)

Source : Nawelle Malinge

Annexe IV : Différences entre les genres *Aphidius* et *Praon*



Aphidius ervi © INRA, Bernard Chaubet



Praon volucre © INRA, Bernard Chaubet

Photographies comparant les ailes des genres *Aphidius* et *Praon*

Source : Bernard Chaubet, Inrae



Aphidius ervi © INRA, Bernard Chaubet

Momie de puceron infecté par *Aphidius*

Source : Bernard Chauvet, Inrae



Momie de puceron infecté par *Praon*

Source : Nawelle Malinge

Annexe V : Script R des modèles mixtes généralisés des probabilités de momification et de la probabilité d'obtenir un descendant (exemple de la lignée de puceron du biotype Medicago aposymbiotique)

```
```${r init, include=FALSE}
#Configuration de la session et chargement des packages R
rm(list=ls()) # Properly clear workspace
library(knitr)
opts_chunk$set(echo = FALSE, comment = "", cache = TRUE, fig.align = "center")
library(ggplot2) # graph package
library(tinytex) # Pour la sortie pdf
library(corrplot)# Correlation matrix calculus
library(plot3D)# For 3D plot
library(MASS)# Perform NB GLM
library(DHARMA)# Model diagnosis
library(rcompanion)# Model pseudo R²
library(lattice)# multipanel graphics
library(lme4)# For GLMM
library(predictmeans)#Cook distance in mixed models
library(rsq)# Deviance decomposition
```
```

```
~`{r global data, include=TRUE,echo=TRUE}
# Dataset import
donneeapo <- read_excel("C:/Users/NAWELLE/Desktop/donneeapo.xlsx")
View(donneeapo)
# Reduce name and change categorical variables as factor
donneeapo$Date<-as.factor(donneeapo$Date)
donneeapo$Parcelle<-as.factor(donneeapo$Parcelle)
donneeapo$Biotype<-as.factor(donneeapo$Biotype)
donneeapo$Espece<-as.factor(donneeapo$Espece)

# Check for presence of missing values
colSums(is.na(donneeapo))

# There is no missing value.
...

## EXPLORATION DU JEU DE DONNEES

~`{r datacov, include=TRUE, fig.height=8, fig.width=8}

### Outliers in $Y$ and distribution of $Y$
# Number of 0 and 1 in Y
table(donneeapo$Momie)
...

### Pour chaque $X$ qualitative : analyser le nombre de modalités et le nombre d'individus par modalité

~`{r datafact, include=TRUE}
# Factor Espece
summary(donneeapo$Espece)
# Factor Biotype
summary(donneeapo$Biotype)
# Factor Date
summary(donneeapo$Date)
# Factor parcelle
summary(donneeapo$Parcelle)
...

```

```
### Analyser la relation potentielle entre Y vs Xs
```

```
~`{r datagraph, include=TRUE, fig.height=5, fig.width=10}
par(mfrow=c(1,3))
# Espece
plot(donneeapo$Momie~donneeapo$Espece,pch=16,col="blue",xlab='Espece',ylab='Momie')
# Biotype
plot(donneeapo$Momie~donneeapo$Biotype,pch=16,col="blue",xlab='Biotype',ylab='Momie')
...

```

```
### Vérifier une éventuelle colinéarité entre les Xs.
```

```
~`{r datacolin, include=TRUE, fig.height=5, fig.width=5}

# Checking collinearity between categorical independent variables
# Checking collinearity between both categorical independent variables
table(donneeapo$Espece,donneeapo$Biotype)
```

#Modèle de la probabilité de momification lignée aposymbiotique Médicago

```
## ANALYSE STATISTIQUE
```

```
```{r fullmodelGLMM,include=TRUE, warning=FALSE}
Model formulation
install.packages(lme4)
mod1<-glmer(Momie~Espece
 + Biotype
 + Espece:Biotype
 + (1|Parcelle)
 + (1|Date)
 ,data=donneeapo
 ,family=binomial)
Then we check for significance
drop1(mod1,test="Chi")
|``
```

```
boundary (singular) fit: see help('issingular')
Single term deletions
```

```
Model:
Momie ~ Espece + Biotype + Espece:Biotype + (1 | Parcelle) +
(1 | Date)

```

	npars	AIC	LRT	Pr(>Chi)
<none>		138.78		
Espece:Biotype	1	138.14	1.3683	0.2421

```
```{r fullmodelGLMM,include=TRUE, warning=FALSE}
# Model formulation finale
mod2<-glmer(Momie~Espece
            + Biotype
            + (1|Parcelle)
            + (1|Date)
            ,data=donneeapo
            ,family=binomial)
# Then we check for significance
drop1(mod2,test="Chi")
|``
```

```
Single term deletions
```

```
Model:
Momie ~ Espece + Biotype + (1 | Parcelle) + (1 | Date)

```

	npars	AIC	LRT	Pr(>Chi)
<none>		138.14		
Espece	1	136.21	0.064803	0.7991
Biotype	1	136.34	0.198811	0.6557

```
```{r fullmodelGLMM,include=TRUE, warning=FALSE}
Model formulation finale
mod3<-glmer(Momie~Biotype
 + (1|Parcelle)
 + (1|Date)
 ,data=donneeapo
 ,family=binomial)
Then we check for significance
drop1(mod3,test="Chi")
|``
```

```
boundary (singular) fit: see help('issingular')
Single term deletions
```

```
Model:
Momie ~ Biotype + (1 | Parcelle) + (1 | Date)

```

	npars	AIC	LRT	Pr(>Chi)
<none>		136.21		
Biotype	1	134.46	0.24618	0.6198

```

Analyse des coefficients du modèle
```{r coeffmGLMM, include=TRUE}
# Coefficients of the model
summary(mod2)
```

Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace Approximation) ['glmerMod']
Family: binomial (logit)
Formula: Momie ~ Espece + Biotype + (1 | Parcelle) + (1 | Date)
Data: donneeapo

 AIC BIC logLik deviance df.resid
 138.1 153.3 -64.1 128.1 147

Scaled residuals:
 Min 1Q Median 3Q Max
-2.7796 0.3335 0.3623 0.4128 0.5184

Random effects:
 Groups Name Variance Std.Dev.
 Date (Intercept) 2.949e-01 5.43e-01
 Parcelle (Intercept) 3.003e-09 5.48e-05
Number of obs: 152, groups: Date, 15; Parcelle, 6

Fixed effects:
 Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept) 1.9433 0.8071 2.408 0.016 *
Especeervi -0.1900 0.7511 -0.253 0.800
Biotypepois 0.2820 0.6387 0.441 0.659

signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Correlation of Fixed Effects:
 (Intr) Esprcv
Especeervi -0.899
Biotypepois -0.309 0.136
optimizer (Nelder_Mead) convergence code: 0 (OK)
boundary (singular) fit: see help('issingular')

```

```

Pouvoir explicatif du modèle
```{r devianceGLMM, include=TRUE}
# Estimates of deviance explained (library 'rsq')
rsq(mod2)
```

$model
[1] 0.06514594

$fixed
[1] 0.001419368

$random
[1] 0.06372658

```

```

Des simulations pour estimer la qualité d'ajustement du modèle
```{r simul, include=TRUE, fig.height=4, fig.width=4}

# We could do a simulation
N <- nrow(donneeapo)
Pi <- fitted(mod2)
donneeapo$Ysim <- rbinom(N, size = 1, Pi)
# Classification table
Z <- table(donneeapo$Momie, donneeapo$Ysim) / N
rownames(Z) <- c("observed 0", "observed 1")
colnames(Z) <- c("Predicted 0", "Predicted 1")
Z
#Correctly classified:
sum(diag(Z))

# And repeat this 1000 times, store the results and calculate an average classification table

Pi <- fitted(mod2)
N <- nrow(donneeapo)
NSim <- 1000
diagZ<- matrix(nrow = N, ncol = NSim)
for (i in 1:NSim) {
  Ysim <- rbinom(N, size = 1, Pi)
  Z<- table(donneeapo$Momie, Ysim) / N
  diagZ[,i]<-sum(diag(Z))
}
#Average rate of individuals well-classified by the model
boxplot(diagZ[,2], col='blue',ylab='#taux de momie well-classified')
mean(diagZ[,2])
```

```

```
[1] 0.7894737
```

## #Modèle de la probabilité d'obtenir un descendant sur la lignée aposymbiotique Médicago

```
#ANALYSE STATISTIQUE TAUX D'EMERGENCE |
```{r fullmodelGLMM,include=TRUE, warning=FALSE}
# Model formulation
install.packages(lme4)
mod1<-glmer(Emergent~Espece
            + Biotype
            + Espece:Biotype
            + (1|Parcelle)
            + (1|Date)
            ,data=donneeapo
            ,family=binomial)
# Then we check for significance
drop1(mod1,test="Chi")
````
```

Single term deletions

```
Model:
Emergent ~ Espece + Biotype + Espece:Biotype + (1 | Parcelle) +
(1 | Date)

```

|                | npars | AIC    | LRT     | Pr(Chi) |
|----------------|-------|--------|---------|---------|
| <none>         |       | 149.32 |         |         |
| Espece:Biotype | 1     | 147.95 | 0.62478 | 0.4293  |

```
#Modèle 2
mod2<-glmer(Emergent~Espece
 + Biotype
 + (1|Parcelle)
 + (1|Date)
 ,data=donneeapo
 ,family=binomial)
#Then we check for significance
drop1(mod2,test="Chi")
```

boundary (singular) fit: see help('issingular')  
Single term deletions

```
Model:
Emergent ~ Espece + Biotype + (1 | Parcelle) + (1 | Date)

```

|         | npars | AIC    | LRT     | Pr(Chi) |
|---------|-------|--------|---------|---------|
| <none>  |       | 147.95 |         |         |
| Espece  | 1     | 146.97 | 1.02298 | 0.3118  |
| Biotype | 1     | 146.46 | 0.51472 | 0.4731  |

```
```{r fullmodelGLMM,include=TRUE, warning=FALSE}
mod3<-glmer(Emergent~Espece
            + (1|Parcelle)
            + (1|Date)
            ,data=donneeapo
            ,family=binomial)
#Then we check for significance
drop1(mod3,test="Chi")
````
```

boundary (singular) fit: see help('issingular')  
single term deletions

```
Model:
Emergent ~ Espece + (1 | Parcelle) + (1 | Date)

```

|        | npars | AIC    | LRT     | Pr(Chi) |
|--------|-------|--------|---------|---------|
| <none> |       | 146.46 |         |         |
| Espece | 1     | 145.28 | 0.82188 | 0.3646  |

```
Pouvoir explicatif du modèle
```

```
```{r devianceGLMM, include=TRUE}  
# Estimates of deviance explained (library 'rsq')  
rsq(mod2)  
```
```

```
$model
[1] 0.1051243

$fixed
[1] 0.01922373

$random
[1] 0.08590061
```

```
VALIDATION DE LA MODELISATION
```

```
Des simulations pour estimer la qualité d'ajustement du modèle
```

```
```{r Simul, include=TRUE, fig.height=4, fig.width=4}  
  
# We could do a simulation  
N <- nrow(donneeapo)  
Pi <- fitted(mod2)  
donneeapo$Ysim <- rbinom(N, size = 1, Pi)  
# classification table  
Z <- table(donneeapo$Momie, donneeapo$Ysim) / N  
rownames(Z) <- c("Observed 0", "Observed 1")  
colnames(Z) <- c("Predicted 0", "Predicted 1")  
Z  
#Correctly classified:  
sum(diag(Z))  
  
# And repeat this 1000 times, store the results and calculate an average classification table  
  
Pi <- fitted(mod2)  
N <- nrow(donneeapo)  
NSim <- 1000  
diagZ <- matrix(nrow = N, ncol = NSim)  
for (i in 1:NSim) {  
  Ysim <- rbinom(N, size = 1, Pi)  
  Z <- table(data$Momie, Ysim) / N  
  diagZ[,i] <- sum(diag(Z))  
}  
#Average rate of individuals well-classified by the model  
boxplot(diagZ[2,], col='blue', ylab='#taux de momie well-classified')  
mean(diagZ[2,])  
```
```

```
[1] 0.6315789
```

## Annexe VI : Script R des modèles mixtes généralisés de la probabilité d'obtenir des parasitoïdes d'un profil de virulence donné toute lignée confondues (exemple des parasitoïdes virulents)

#Probabilité du parasitoïde d'être virulent généraliste

```
```{r fullmodelGLMM,include=TRUE, warning=FALSE}
# Model formulation
install.packages(lme4)
mod1<-glmer(Virulent~Espece
            + Biotype
            + Espece:Biotype
            + (1|Parcelle)
            + (1|Date)
            ,data=data
            ,family=binomial)
# Then we check for significance
drop1(mod1,test="Chi")
```
```

boundary (singular) fit: see help('issingular')  
Single term deletions

Model:  
Virulent ~ Espece + Biotype + Espece:Biotype + (1 | Parcelle) +  
(1 | Date)

|                | npar | AIC    | LRT    | Pr(Chi) |
|----------------|------|--------|--------|---------|
| <none>         |      | 108.84 |        |         |
| Espece:Biotype | 1    | 108.86 | 2.0249 | 0.1547  |

```
```{r fullmodelGLMM,include=TRUE, warning=FALSE}
# Model formulation
install.packages(lme4)
mod2<-glmer(Virulent~Espece
            + Biotype
            + (1|Parcelle)
            + (1|Date)
            ,data=data
            ,family=binomial)
# Then we check for significance
drop1(mod2,test="Chi")
```
```

boundary (singular) fit: see help('issingular')  
boundary (singular) fit: see help('issingular')  
Single term deletions

Model:  
Virulent ~ Espece + Biotype + (1 | Parcelle) + (1 | Date)

|         | npar | AIC    | LRT     | Pr(Chi) |
|---------|------|--------|---------|---------|
| <none>  |      | 108.86 |         |         |
| Espece  | 1    | 107.26 | 0.39457 | 0.5299  |
| Biotype | 1    | 108.77 | 1.90935 | 0.1670  |

```
```{r fullmodelGLMM,include=TRUE, warning=FALSE}
# Model formulation
install.packages(lme4)
mod2<-glmer(Virulent~Biotype
            + (1|Parcelle)
            + (1|Date)
            ,data=data
            ,family=binomial)
# Then we check for significance
drop1(mod2,test="Chi")
```
```

boundary (singular) fit: see help('issingular')  
Single term deletions

Model:  
Virulent ~ Biotype + (1 | Parcelle) + (1 | Date)

|         | npar | AIC    | LRT    | Pr(Chi) |
|---------|------|--------|--------|---------|
| <none>  |      | 107.26 |        |         |
| Biotype | 1    | 106.87 | 1.6098 | 0.2045  |

```
Coefficients of the model
summary(mod2)

[[
Generalized linear mixed model fit by maximum likelihood (Laplace Approximation) ['glmerMod']
Family: binomial (logit)
Formula: virulent ~ Biotype + (1 | Parcelle) + (1 | Date)
Data: data

 AIC BIC logLik deviance df.resid
 107.3 117.8 -49.6 99.3 98

Scaled residuals:
 Min 1Q Median 3Q Max
-0.6072 -0.5318 -0.5020 -0.3339 2.6787

Random effects:
 Groups Name Variance Std.Dev.
 Date (Intercept) 1.308e-10 1.144e-05
 Parcelle (Intercept) 9.328e-02 3.054e-01
Number of obs: 102, groups: Date, 13; Parcelle, 6

Fixed effects:
 Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept) -1.2058 0.3418 -3.527 0.00042 ***
Biotypepois -0.8850 0.7730 -1.145 0.25222

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Correlation of Fixed Effects:
 (Intr)
Biotypepois -0.493
optimizer (Nelder_Mead) convergence code: 0 (OK)
boundary (singular) fit: see help('issingular')
```

```
Pouvoir explicatif du modèle
```

```
```{r devianceGLMM, include=TRUE}
# Estimates of deviance explained (library 'rsg')
rsg(mod2)
```
```

```
$model
[1] 0.03932119

$fixed
[1] 0.01435921

$random
[1] 0.02496199
□
```

```
VALIDATION DE LA MODELISATION
```

```
Des simulations pour estimer la qualité d'ajustement du modèle
```

```
[1] 0.6764706
```

**Annexe VII : Script R des modèles du chi 2 sur l'effet de l'espèce et du biotype sur la fréquence des profils de virulence des parasitoïdes, sur l'effet du biotype sur la fréquence des espèces de parasitoïdes échantillonnés et sur l'effet de la date sur la fréquence des profils de virulence**

```
#profil de virulence pour la luzerne
library(readxl)
profilvirulence <- read_excel("C:/Users/NAWELLE/Desktop/profilvirulenceluzerne.xlsx")
view(profilvirulence)
yates_test_result <- chisq.test(profilvirulence, correct = TRUE)
print(yates_test_result)

#profil de virulence pour le pois
library(readxl)
profilvirulencepois <- read_excel("profilvirulencepois.xlsx")
view(profilvirulencepois)
yates_test_result <- chisq.test(profilvirulencepois, correct = TRUE)
print(yates_test_result)

#profil de virulence pour ervi
library(readxl)
profilvirulenceervi <- read_excel("profilvirulenceervi.xlsx")
view(profilvirulenceervi)
yates_test_result <- chisq.test(profilvirulenceervi, correct = TRUE)
print(yates_test_result)

#profil de virulence pour eadyi
library(readxl)
profilvirulenceeadyi <- read_excel("profilvirulenceeadyi.xlsx")
view(profilvirulenceeadyi)
yates_test_result <- chisq.test(profilvirulenceeadyi, correct = TRUE)
print(yates_test_result)

|

#Pour l'écologie des communautés
library(readxl)
ecologie<- read_excel("C:/Users/NAWELLE/Desktop/écologie des communautés.xlsx")
view(ecologie)
chisq.test(ecologie, correct = TRUE)

#pour les dates
library(readxl)
date <- read_excel("C:/Users/NAWELLE/Desktop/date.xlsx")
view(date)
chisq.test(date, correct = TRUE)
```



|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                 |                      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <b>Diplôme</b> : Ingénieur en horticulture<br><b>Spécialité</b> : Protection des plantes et environnement en horticulture PPEH<br><b>Spécialisation / option</b> :<br><b>Enseignant référent</b> : Bruno Jaloux |                      |
| <b>Auteur(s)</b> : Nawelle Malinge<br><b>Date de naissance*</b> : 05 /04/2000                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>Organisme d'accueil</b> : UMR IGEPP (institut de génétique, Environnement et protection des plantes). Institut agro Rennes                                                                                   |                      |
| <b>Nb pages</b> : 25                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <b>Adresse</b> : 65 rue de Saint-Brieuc, 35 000 Rennes                                                                                                                                                          | <b>Annexe(s)</b> : 7 |
| <b>Année de soutenance</b> : 2023                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | <b>Maître de stage</b> : Yannick Outreman, Jean-Christophe Simon                                                                                                                                                |                      |
| <b>Titre français</b> : Etude de l'évolution de la virulence des parasitoïdes d' <i>Acyrtosiphon pisum</i> face à la protection symbiotique de leur hôte.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                 |                      |
| <b>Titre anglais</b> : Study of the evolution of the virulence of <i>Acyrtosiphon pisum</i> parasitoids in response to the symbiotic protection of their host                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                 |                      |
| <b>Résumé</b> :<br><br>Depuis une quinzaine d'années, l'étude du rôle des symbiotes bactériens présents chez certains insectes passionne les scientifiques. Chez le puceron, il a été clairement établi que des bactéries symbiotiques conféraient à leur hôte une protection contre un important ennemi naturel utilisé en lutte biologique : les parasitoïdes. Cependant, l'évolution des hôtes et de leur parasitoïdes étant étroitement liées, certains parasitoïdes ont développé des contre-adaptations face à cette résistance. Dans cette étude, nous nous appuyons sur l'exemple du puceron du pois <i>Acyrtosiphon pisum</i> infesté par les bactéries <i>Hamiltonella defensa</i> et <i>Fukatsuia symbiotica</i> et principalement parasité par <i>Aphidius ervi</i> . Notre but est de confirmer la présence de parasitoïdes virulents, parvenant à contourner la résistance symbiotique de leur hôte dans le milieu naturel. Nous cherchons également à caractériser cette virulence. Nous avons pu mettre en évidence que si certains parasitoïdes du milieu naturel parviennent à contourner tous les types de résistance endosymbiotique testés, ce n'est pas le cas pour d'autres, qui ne parviennent à contourner que certains types de résistance. Aussi, nous avons identifié des différences interspécifiques dans l'évolution de la virulence du parasitoïde généraliste <i>Aphidius ervi</i> et du parasitoïde spécialiste <i>Aphidius eadyi</i> . Des variations entre parasitoïdes échantillonnés sur culture de luzerne et culture de pois ont également pu être remarqués. En revanche, aucune variation temporelle de la virulence au cours de la saison d'avril à août n'a été identifiée. Ces recherches, qui sont le deuxième volet d'un projet de deux ans, seront poursuivies par une étude de plus grande ampleur. |                                                                                                                                                                                                                 |                      |
| <b>Abstract</b> :<br><br>For the last fifteen years, scientists have been studying the role of bacterial symbionts in certain insects. In aphids, it has been clearly established that symbiotic bacteria provide their host with protection against an important natural enemy used in biological control: parasitoids. However, as the evolution of hosts and their parasitoids is closely linked, some parasitoids have developed adjustment to this resistance. In this study, we will use the example of the pea aphid <i>Acyrtosiphon pisum</i> infested by the bacteria <i>Hamiltonella defensa</i> and <i>Fukatsuia symbiotica</i> and mainly parasitized by <i>Aphidius ervi</i> . Our aim is to confirm the presence of virulent parasitoids that are able to overcome the symbiotic resistance of their host in the natural environment. We are also seeking to characterise this virulence. We have been able to show that while some parasitoids in the natural environment are able to bypass all tested types of endosymbiotic resistance, this is not the case for the majority of them, which are only able to bypass certain types of tested resistance. We also identified interspecific differences in the evolution of the virulence of the generalist parasitoid <i>Aphidius ervi</i> and the specialist parasitoid <i>Aphidius eadyi</i> . Variations between parasitoids sampled on alfalfa and pea crops were also observed. However, no temporal variation in virulence over the April to August season was identified. This research, which is the second part of a two-year project, will be followed up by a larger-scale study.                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                 |                      |
| <b>Mots-clés</b> : Bactéries symbiotiques, symbiotes protecteurs, capacité d'adaptation, parasitoïdes, pucerons, coévolution, lutte biologique                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                 |                      |
| <b>Key Words</b> : Symbiotic bacteria, protective symbionts, adaptability, parasitoids, aphids, coevolution, biological control.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                 |                      |