

**AFPP – 4^e CONFÉRENCE SUR L'ENTRETIEN
DES JARDINS, ESPACES VÉGÉTALISÉS ET INFRASTRUCTURES
TOULOUSE – 19 et 20 OCTOBRE 2016**

**ETUDE DE LA GENERATION FILLE DES PARASITOÏDES (F1) DANS LA MISE EN PLACE D'UN PROGRAMME
DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LA PYRALE DU BUIS, *CYDALIMA PERSPECTALIS* (WALKER, 1859)
(LEPIDOPTERA : CRAMBIDAE)**

M. VENARD⁽¹⁾, T. ENRIQUEZ⁽¹⁾, E.-A. COLOMBEL⁽¹⁾, E. TABONE⁽¹⁾

⁽¹⁾ UEFM INRA PACA, Site Villa Thuret, 90 Chemin Gustave Raymond, 06160, Antibes, France
elisabeth.tabone@paca.inra.fr

RÉSUMÉ

La pyrale du buis, *Cydalima perspectalis*, est un ravageur, de l'est de l'Asie, invasif en Europe. Les chenilles de ce lépidoptère défolient entièrement les plants de buis ; ce qui les affaiblit et peut conduire à leur mort. Dans le cadre du programme ©SaveBuxus, l'équipe de l'INRA UEFM cherche des parasitoïdes efficaces des œufs de la pyrale. Après la mise en place de l'élevage de *Cydalima perspectalis* en laboratoire (25±1°C, 75±5%HR, 16L : 8D), des femelles *Trichogramma sp.* ont été mises en présence d'œufs de pyrale dans des tubes en plexiglas avec du miel. Sur 54 souches testées provenant de la collection de *Trichogramma* de l'INRA UEFM, 3 souches indigènes présentent un taux de parasitisme intéressant. Les descendants de la souche Y montrent une taille et une efficacité supérieure à celles de leurs parents. Une lutte à l'aide de ces parasitoïdes oophages semble tout à fait envisageable.

Mots-clés : *Cydalima perspectalis*, buis, parasitoïdes oophages, *Trichogramma spp.*, biocontrôle.

ABSTRACT

PARASITOIDS DAUGHTER GENERATION'S STUDY IN THE BIOLOGICAL CONTROL PROGRAM SETTING UP AGAINST THE BOX TREE MOTH, *CYDALIMA PERSPECTALIS* (WALKER, 1859) (LEPIDOPTERA : CRAMBIDAE), WITH OOPHAGOUS PARASITOIDS

The box tree moth, *Cydalima perspectalis* is an East Asian pest who is invasive in Europe. These lepidopteran moths defoliate totally box trees, which weakens them and can lead to death. As part of the ©SaveBuxus program, the INRA UEFM team researches efficient box tree moth eggs parasitoids. After the *Cydalima perspectalis* rearing setting up in laboratory ((25±1°C, 75±5%HR, 16L: 8D), *Trichogramma spp.* females were putting in presence of *C. perspectalis* eggs in Plexiglas tubes with honey. Among the 54 strains tested, from the INRA UEFM *Trichogramma* collection, 3 indigenous strains have an interesting parasitism rate. The second generation from strain Y shows a size an efficiency higher than those of their parents. So a biological control with these oophagous parasitoids seems to be possible.

Key words: *Cydalima perspectalis*, Box tree, oophagous parasitoids, *Trichogramma spp.*, biocontrol.

INTRODUCTION

La pyrale du buis *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) (Lepidoptera : Crambidae) est un papillon invasif originaire de l'Est de l'Asie (Mally et Nuss, 2010). Elle s'est largement répandue en Europe (Bella, 2013), colonisant la France en 2008 (Feldtrauer *et al.*, 2009). *C. perspectalis* est un ravageur spécifique du buis (Marumayama et Shinkaji, 1987) dont la femelle pond en moyenne 800 œufs (Tabone *et al.*, 2015a). Cette fécondité élevée donne naissance à un grand nombre de larves qui se nourrissent des feuilles du buis jusqu'à la défoliation totale du végétal voire sa mort. Outre les impacts financiers, visuels et culturels (Lopez-Vaamonde *et al.*, 2010), ce ravageur a un impact écologique non négligeable. En effet, l'absence de buis en forêt peut entraîner un changement dans la végétation de couverture du sol en raison de l'augmentation de l'exposition au soleil (Kenis *et al.*, 2013). Son absence perturbe également la biodiversité car cette strate arbustive est un des éléments clé de la recolonisation des forêts après une perturbation (feu, etc.).

Plusieurs stratégies de lutte biologique, à l'aide de nématodes (Göttig *et al.*, 2012) ou de parasitoïdes (Braconidae), visant les stades larvaires, ont été initiés (Zimmermann and Wührer, 2010). Actuellement, la méthode présentant les meilleurs taux de mortalité des larves reste le traitement au *Bacillus thuringiensis* var. *Kurstaki* (Brua, 2013 ; Lefort *et al.*, 2014). Un programme de recherche nommé ©Save Buxus est développé pour étudier, entre autres, *C. perspectalis* dans le but d'apporter une combinaison efficace de solutions de protection durables. Des méthodes de piégeage des papillons mâles avec des phéromones sont actuellement étudiées par l'équipe UEFM de l'INRA d'Avignon, partenaire du projet, et montrent des taux de capture intéressants (Martin *et al.*, 2015). Un brevet a d'ailleurs été déposé en 2015 quant à l'ossature du piège. De son côté, le laboratoire Biocontrôle (UEFM INRA Antibes) élabore une stratégie de contrôle de *C. perspectalis* à l'aide de trichogrammes. Ceux-ci, en parasitant un œuf de lépidoptère, vont stopper le développement de l'embryon (Tabone *et al.*, 2002 ; Pratioli *et al.*, 2005 ; Suckling et Brockhoff, 2010 ; Chailleux *et al.*, 2012 ; Do Thi Khanh *et al.*, 2012) et permettront ainsi le contrôle de la population du ravageur avant le stade « chenille » phytophage.

Zimmermann et son équipe (2009) ont établi que les œufs de *C. perspectalis* pouvaient être parasités par des trichogrammes. Un screening de 54 souches de la collection de trichogrammes du Laboratoire Biocontrôle a permis de faire ressortir 3 souches indigènes ayant un potentiel intéressant pour le parasitisme des œufs de pyrale (Enriquez *et al.*, 2015). Il a été observé qu'un nombre variable de nymphes de trichogrammes pouvait être présent dans les œufs de *C. perspectalis* parasités et que des trichogrammes adultes en émergeaient (Enriquez *et al.*, 2015). Ces individus issus des œufs de pyrale (F1) représentent un élément important à prendre en compte dans la stratégie de lutte. En effet, ils constituent un inoculum potentiellement apte à parasiter de nouveaux œufs (Honda and Luck, 2001).

L'œuf de la pyrale étant plus grand que l'œuf de l'hôte d'élevage (œuf d'*E. kuehniella*), un nombre variable de trichogrammes peut s'y développer. Il est connu que le nombre de nymphes se développant au sein d'un même œuf hôte influence les paramètres physiques et physiologiques des trichogrammes émergents (Waage et Sook Ming, 1984, Bai *et al.*, 1992). Il est aussi possible que les trichogrammes soient plus aptes à parasiter des œufs appartenant à la même espèce que l'hôte dont ils ont émergé (Pintureau, 2009).

Nous avons étudié la variation de la taille des femelles F1 et leur fécondité potentielle en fonction du nombre de nymphes présentes dans les œufs de *C. perspectalis*. Nous présentons ici les travaux d'évaluation de la qualité de la génération émergente des œufs de la pyrale (F1) en observant la taille des femelles, leur fécondité potentielle (sur des œufs d'*E. kuehniella*) et enfin leur efficacité pour parasiter les œufs de *C. perspectalis* comparativement à celle de la génération mère. La stratégie de lâcher des parasitoïdes prendra en compte les dates de présence des œufs de pyrale dans la nature et la survie de la génération F1 après émergence ainsi que son efficacité.

MATERIEL ET METHODE

Les élevages et les manipulations ont eu lieu sur le site INRA UEFM de la Villa Thuret à Antibes. Les mesures des tibias et des ovipositeurs des trichogrammes ont été réalisées à la plateforme de microscopie du site INRA à Sophia Antipolis.

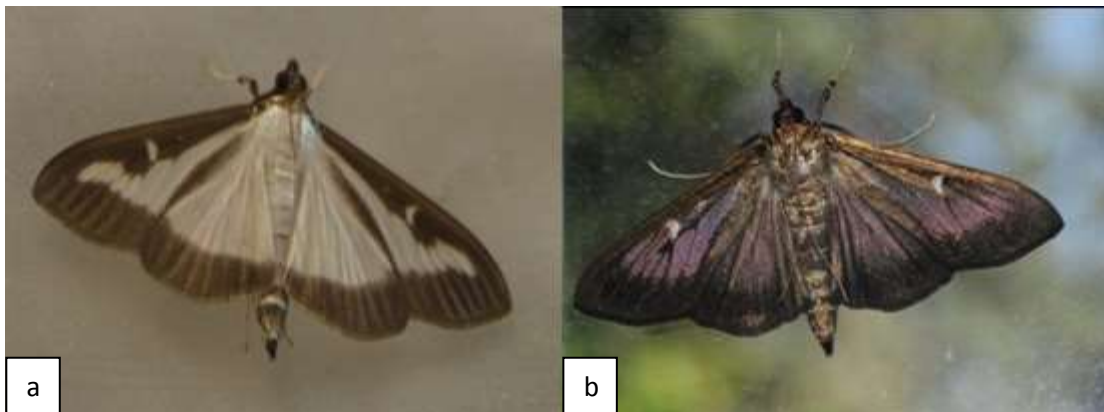
MATERIEL BIOLOGIQUE

Le buis utilisé pour les élevages et les expérimentations doit être non traité. Les horticulteurs de la région traitant tous leurs plants contre la pyrale avec des produits phytosanitaires, le buis était prélevé en milieu naturel dans les Alpes-Maritimes (06), à plus de 1000m d'altitude.

La pyrale du buis *C. perspectalis*

Il existe deux phénotypes de couleur chez *C. perspectalis*, une forme commune blanche et une forme mélanique (fig. 1). Uniquement des individus du phénotype blanc étaient utilisés pour nos expérimentations.

Figure 1 : Les deux phénotypes de la pyrale du buis *Cydalima perspectalis*. a : phénotype blanc commun; b : phénotype mélanique (The two box tree moth phenotypes. a : common white phenotype ; b : pigmented phenotype)



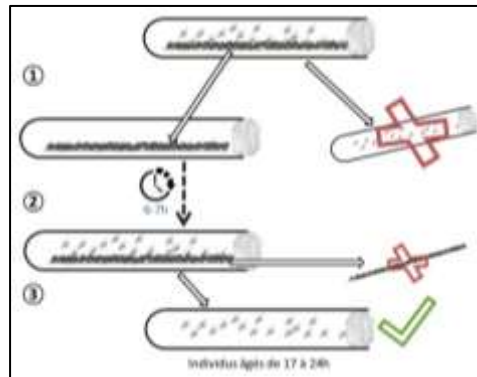
Les chenilles des premiers stades larvaires étaient alimentées en buis humidifié tous les jours pendant 3 semaines. Elles étaient ensuite placées dans des cages en mousseline (40x40x80cm) contenant plusieurs bouquets de buis denses. Dans ces cages, les chenilles continuaient à s'alimenter pendant une semaine, puis formaient leur chrysalide. Chez cette espèce, la nymphose dure en moyenne 10 jours (Tabone *et al.*, 2015a). Après ce délai, les imagos étaient collectés et placés dans des cages de pontes (40x40x80cm). Ces individus, alimentés avec des cotons imbibés d'eau et de miel, étaient remplacés à la fin de leur période de fertilité par des adultes nouvellement émergés. Quotidiennement, des brins de buis, d'environ 14 cm de longueur, étaient placés dans ces cages. Les brins contenant les œufs étaient récupérés le lendemain et avaient ainsi moins de 24h. Après comptage, une partie des œufs était intégrée dans l'élevage afin de garantir sa pérennité ; l'autre partie était utilisée pour les expérimentations.

Les trichogrammes

Les trichogrammes utilisés provenaient de la collection de souches (souchier) de l'INRA UEFM à Antibes. Pour des raisons de confidentialité, le nom des souches est codé. 54 souches de trichogrammes de 17 espèces différentes, majoritairement françaises, ont été étudiées. Les parasitoïdes sont élevés sur des œufs d'*Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera : Pyralidae) qui servent d'hôte de substitution. Par commodité, ces œufs sont achetés à la société Biotop® où ils sont préalablement irradiés aux UV afin

d'éviter l'éclosion de chenilles dans les tubes d'élevage. Les œufs d'*E. kuehniella* sont disposés sur des plaquettes en papier canson et collés, à l'aide d'une colle à l'eau, à raison de 1000 œufs environ par plaquette. Les œufs et les plaquettes sont conservés pendant 2 semaines à 2°C puis le stock est renouvelé avec des œufs frais commandés chaque semaine. Tous les tubes à hémolyse utilisés pour l'élevage sont miellés pour permettre aux trichogrammes de se nourrir dès leur émergence. Les souches sont gardées dans un environnement stable (T 25±1°C, HR 80±5%, 16L:8D).

Figure 2 : Protocole de gestion de l'âge des trichogrammes pour les expérimentations (Management protocol of *Trichogramma sp.* age for the experiments).



protocol of *Trichogramma sp.* age for the experiments).

Pour être certains que les trichogrammes utilisés pour les expérimentations étaient âgés de moins de 24 heures (figure 2), l'émergence des trichogrammes était surveillée quotidiennement. Lorsqu'une souche émergeait, la plaquette contenant les œufs d'*E. kuehniella* parasités était retirée du tube, brossée avec un pinceau pour enlever les imagos restant sur la plaquette et placée dans un nouveau tube miellé. Ce tube était ensuite placé dans les conditions de l'élevage pendant six à sept heures (T 25±1°C, HR 85±5%, 16L: 8D). Au bout de ce délai la plaquette était retirée du tube afin de sélectionner uniquement les individus émergés durant cet intervalle. Ainsi les individus présents dans le tube avaient tous entre 17 et 24h le lendemain.

ETUDE DE LA GENERATION F1 EMERGEANT DES ŒUFS DE *C. PERSPECTALIS* PARASITES

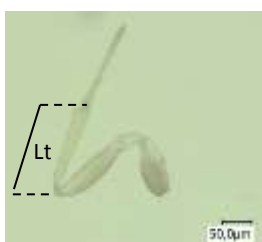
Figure 3: Œufs de pyrale du buis parasités par *Trichogramma sp.* (Box tree moth eggs parasitized by *Trichogramma sp.*)



Les femelles trichogrammes étant capables de pondre plusieurs œufs dans un œuf de pyrale (Enriquez *et al.*, 2015), les œufs de *C. perspectalis*, parasités par les meilleures souches et issus des différentes expérimentations ont été triés en fonction du nombre de nymphes de parasitoïde par œuf (figure 3). Ces œufs étaient placés dans des tubes en plexiglas miellés, dans une enceinte climatique (T 25±1°C, HR 85±5%, 16L : 8D) et leur émergence surveillée quotidiennement. Ainsi, pour chaque expérience nous avons testé, indépendamment, des femelles issues d'œufs parasités comprenant de 2 à 8 nymphes de trichogramme. Dans un premier temps, seule la souche Y a donné assez de F1 pour être étudiée.

Etude de la taille des tibias et des ovipositeurs de la génération F1

Figure 4: Mesure de tibia de *Trichogramma sp.* (Shinbone *Trichogramma sp.* size measurement)



La taille du tibia (figure 4) et de l'ovipositeur étant proportionnelles à la taille de l'individu (Mills and Kuhlmann, 2000 ; Grenier *et al.*, 2001), nous avons prélevé le tibia de la patte antérieure ainsi que l'ovipositeur des femelles trichogrammes de

la génération F0 et des femelles de la génération F1. Les dissections ont été réalisées sous loupe binoculaire (grossissement x60). Les tibias et les ovipositeurs ont ensuite été placés entre lame et lamelle avec une goutte de glycérol. Les mesures (μm) de la longueur du tibia et de la longueur de l'ovipositeur ont été réalisées à l'aide d'un microscope numérique VHX-2000 – Keyence (grossissement x1000). Au total, 20 femelles F0 et 71 femelles F1 ont été disséquées et mesurées.

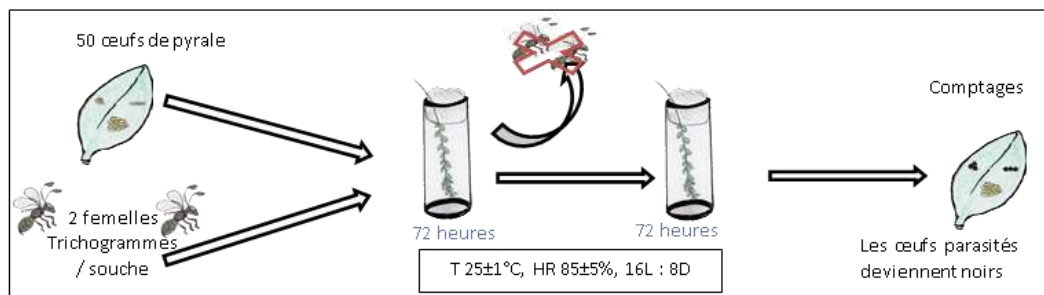
Fécondité potentielle de la génération F1 sur œufs d'*E. kuehniella*

Une femelle F1 a été placée dans un tube de plexiglas (14cm) en présence d'œufs d'*E. kuehniella* (œufs témoins), semblables à ceux de l'élevage, mais à hauteur de 200 œufs environ par plaquette. Après 24h, la femelle a été tuée, puis les résultats ont été observés 5 jours plus tard (loupe binoculaire x12). Le nombre d'œufs parasités (œufs noirs) a été relevé. Les œufs d'*E. kuehniella* étant irradiés, le nombre d'œufs avortés par les trichogrammes ne pouvait pas être comptabilisé. Le nombre d'œufs d'*E. kuehniella* parasités permet de mesurer la fécondité potentielle d'une femelle : le nombre d'œufs qu'elle peut pondre (Mills and Kuhlmann, 2000). Ces données ont été comparées aux résultats de la génération F0 obtenus selon le même protocole. Au total, 10 femelles F0 et 44 femelles F1 ont été testées.

Etude de l'efficacité de la génération F1 sur les œufs de *C. perspectalis*

Une femelle F1 était placée dans un tube en plexiglas (14cm) en présence d'œufs de *C. perspectalis*, préparés selon le protocole de screening suivant (figure 5). Le screening consiste en un test de choix des femelles parasitoïdes afin d'établir la capacité d'une souche de trichogramme à parasiter ou tuer les œufs de la pyrale du buis et de sélectionner la ou les souches montrant la plus grande efficacité pour contrôler le ravageur.

Figure 5 : Protocole de screening en tube (screening protocol in tubes)



Une répétition de screening correspond à un tube. Chaque tube de screening était composé de la manière suivante : une ou deux branches de buis contenant au total 50 œufs de *C. perspectalis* étaient placées dans un tube de plexiglas de 14cm de longueur. Deux femelles trichogrammes de la même souche étaient placées dans les tubes, qui étaient fermés avec un maillage très fin d'un côté et du coton de l'autre. Les tubes étaient laissés à incuber pendant 6 jours dans une enceinte climatique (T 25±1°C, HR 80±5%, 16L : 8D). Après 24h, les femelles étaient tuées, puis les résultats observés 5 jours plus tard. Le nombre d'œufs avortés et parasités était relevé (les œufs de pyrale avortés gardent leur aspect jaunâtre, tandis que les œufs parasités deviennent noirs (loupe binoculaire x12)). Le nombre de chenilles émergentes était déduit de ces variables. Au total, 50 femelles F1 ont été testées. Ces résultats ont été comparés aux résultats de screening de la génération F0 de la même souche.

En parallèle, afin de mesurer leur taux d'avortement naturel, des œufs de pyrale du buis sur des brins de buis ont été mis en tubes sans avoir été exposés aux parasitoïdes et laissés aux mêmes conditions abiotiques que les œufs soumis aux trichogrammes.

STATISTIQUES

Les données ont été traitées avec le logiciel Excel® et les tests statistiques ont été réalisés avec le logiciel R® (R Core Team, 2013).

Longueurs des tibias et des ovipositeurs

L'impact du nombre de nymphes par œuf sur la taille des tibias de la génération F1 et la comparaison avec les individus F0, a été étudié grâce à un GLM suivant une loi de type Poisson. Le même modèle a été appliqué pour étudier la longueur des ovipositeurs.

Relation entre la taille des femelles F0 et F1 et leur capacité sur *E. kuehniella* et sur *C. perspectalis*

Les corrélations entre la taille des femelles F0 et F1 et leur capacité sur œufs d'*E. kuehniella* et sur œufs de *C. perspectalis* ont été analysées grâce à des régressions linéaires.

RESULTATS

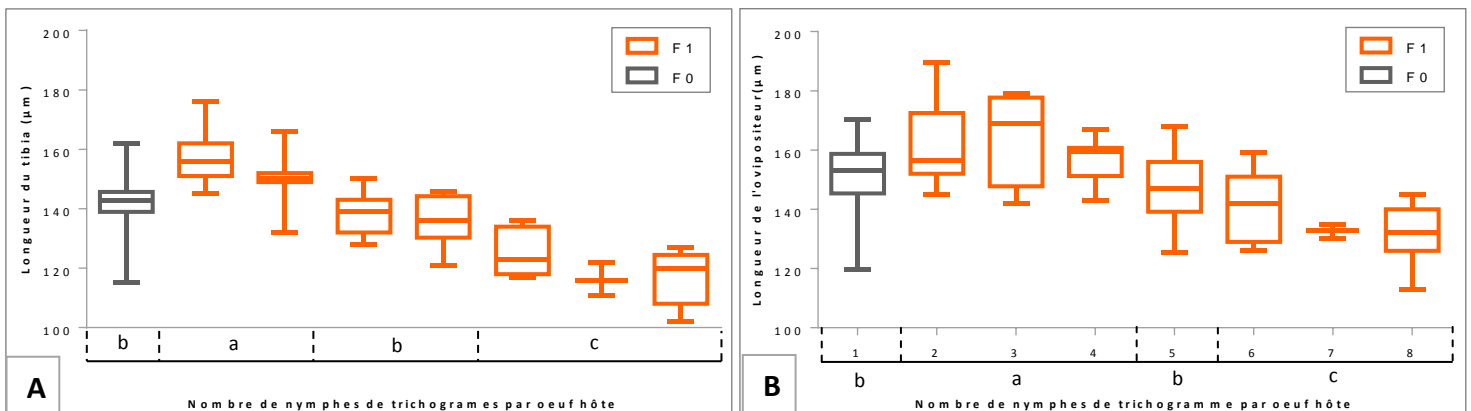
Sur les 3 souches françaises sélectionnées, Y, Qa et Qc, seule Y a engendré assez de descendants pour permettre les expérimentations. Les résultats de la génération F1 concernent donc uniquement la souche Y. Il a été relevé de 2 à 8 nymphes de trichogrammes dans un œuf de pyrale, pour une moyenne de 3,8 nymphes par œuf.

TAILLE DES FEMELLES F1

Longueur du tibia

La taille des tibias de la génération F0 a été comparée à celle de la génération F1 (figure 6A). Les F0 ont été élevées sur *E. kuehniella* et les F1 sur *C. perspectalis*. Après analyse, les trichogrammes semblent se diviser en 3 groupes statistiques : les femelles F0 et F1 s'étant développées dans des œufs de *C. perspectalis* de densité de 2 à 3 nymphes de trichogramme, font partie du groupe a ; les F1 s'étant développées dans des œufs de *C. perspectalis* de densité de 4 à 5 nymphes de trichogramme forment le groupe b ; et les F1 s'étant développées dans des œufs de *C. perspectalis* de densité de 6 à 8 nymphes de trichogramme forment le groupe c (GLM Poisson : différence entre a et b-c : p.value=0,001864; différence entre b et a-c : p.value=0,0002). Même si cela peut varier d'un œuf à l'autre, la longueur du tibia des F1 diminue avec l'augmentation de la densité en nymphes de leur œuf hôte. De plus, les tibias des F1 des catégories de 2 à 3 nymphes par œuf sont plus grands que les F0 et les F1 des catégories de 4 à 5 nymphes par œuf, qui sont eux-mêmes plus grands que les tibias des F1 des catégories de 6 à 8 nymphes par œuf.

Figure 6 : Longueur (µm) du tibia (A) et de l'ovipositeur (B), des femelles F0 et F1 de la souche Y, en fonction du nombre de nymphes dans les œufs-hôtes. Les catégories représentées par des lettres identiques ne sont pas significativement différentes entre elles (modèles : GLM poisson) (F0, N= 20 femelles et F1, N= 71 femelles). (Shinbone (A) and ovipositor (B) size (µm) of Y strain F0 and F1 females according to the nymphs number in host-eggs)



Longueur de l'ovipositeur

Après analyse de la génération F0 et des différentes catégories de la génération F1 (figure 6B), les individus semblent se diviser en trois groupes statistiques : les F0 et les F1 de la catégorie de 2 à 4 nymphes par œuf forment le groupe a; les F1 de la catégorie de 5 nymphes par œuf forment le groupe b; et les F1 des catégories de 6 à 8 nymphes par œuf forment le groupe c (GLM Poisson : différence entre a et b-c : p.value=0,00884; différence entre b et a-c : p.value=0,039). Ainsi la longueur de l'ovipositeur des F1 diminue avec la densité en nymphes de leur œuf hôte. De plus, les tibias des catégories 2 à 4 nymphes par œuf sont plus grands que les F0 et les F1 de la catégorie à 5 nymphes par œuf, qui sont eux-mêmes plus grands que les tibias des F1 des catégories de 6 à 8 nymphes par œuf.

RELATION ENTRE LA TAILLE DES F0 ET F1 ET LEUR CAPACITE A TUER LES ŒUFS D'*E. KUEHNIELLA* ET LES ŒUFS DE *C. PERSPECTALIS*

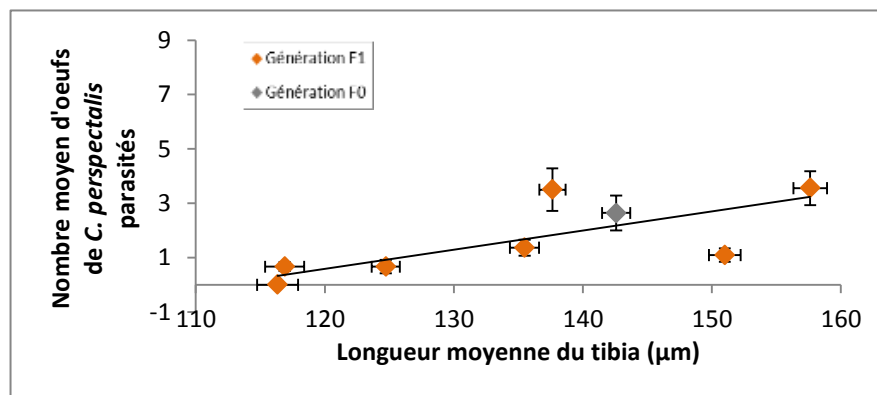
Fécondité sur œufs d'*E. kuehniella*

La relation entre la taille des individus F0 et F1 et leur fécondité sur *E. kuehniella* a été étudiée. Une corrélation positive entre la fécondité des femelles et la longueur du tibia a été observée. Ainsi la fécondité des femelles augmente avec leur taille ($F(1,6) = 85,1$; p.value=9,14.10⁻⁶ ; $r^2 = 0,93$).

Parasitisme sur œufs de *C. perspectalis*

La population F0 est constituée de 21 femelles contre 50 pour la population F1. Une corrélation positive entre la longueur du tibia des femelles et leur capacité à parasiter les œufs de pyrale a été observée (figure 7). Ainsi, le parasitisme sur œufs de *C. perspectalis* augmente avec la taille des femelles ($F(1,6) = 7,47$; p.value=0,03 ; $r^2 = 0,57$).

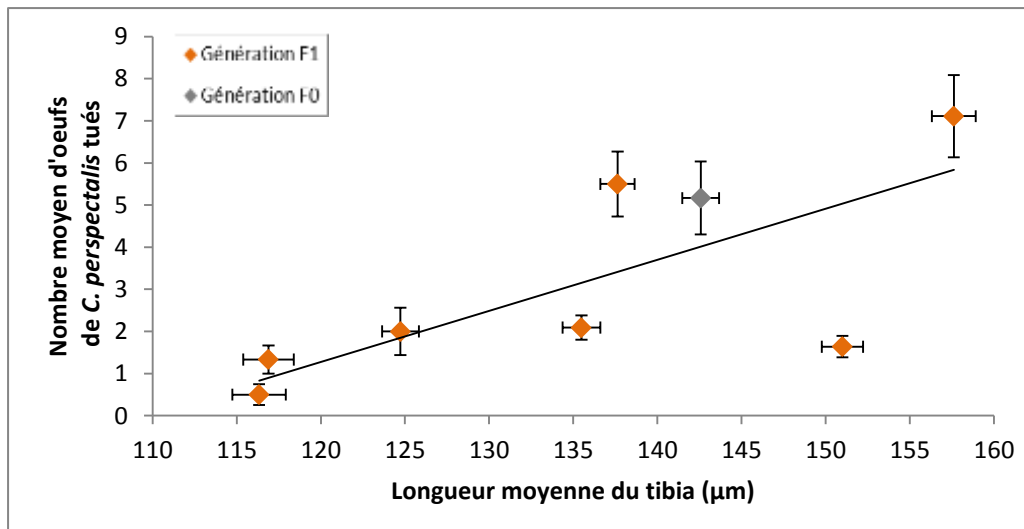
Figure 7 : Nombre d'œufs de *C. perspectalis* parasités (moyenne \pm SEM) en fonction de la longueur du tibia des femelles F0 et F1 de la souche Y (moyenne \pm SEM). Régression linéaire : $y=0,07x-7,89$. (Parasitized eggs number (mean \pm SEM) according to shinbone size of F0 and F1 females from strain Y (mean \pm SEM)).



Efficacité globale sur œufs de *C. perspectalis*

Enfin, une corrélation positive entre la longueur du tibia des femelles et leur efficacité globale sur les œufs de pyrale du buis a été observée (figure 8). La population F0 est constituée de 21 femelles pour 50 concernant la F1. L'efficacité globale des femelles sur les œufs de *C. perspectalis* montre une tendance à l'augmentation avec la taille des femelles ($F(1,6) = 7,23$; p.value=0,036 ; $r^2 = 0,54$).

Figure 8 : Nombre d'œufs de *C. perspectalis* tués (parasitisme et avortement) (moyenne \pm SEM) en fonction de la longueur du tibia des femelles F0 et F1 de la souche Y (moyenne \pm SEM). Régression linéaire : $y=0,12x-13,28$ (Killed *C. perspectalis* eggs number (parasitism and abortion) (mean \pm SEM) according to shinbone size of Y strain F0 and F1 females (mean \pm SEM)).



DISCUSSION

Les mesures des tibias et des ovipositeurs indiquent que la taille des individus dépend du type d'hôte (différence entre F0 et F1 élevées sur 2 hôtes différents), mais aussi de la densité de nymphes dans l'œuf-hôte. La taille des individus dépend donc de la quantité de ressources qui leur est allouée pendant leur développement (Bai *et al.*, 1992). En se basant sur la mesure du tibia dans la population F1, 45% des œufs donneront des individus plus grands que les parents (2 et 3 nymphes par œuf), 42% de taille similaire (4 et 5 nymphes par œuf) et 13% plus petits (6 à 8 nymphes par œuf). Si on pondère ces pourcentages avec le nombre de nymphes par œuf (sans tenir compte de la mortalité embryonnaire des trichogrammes), on obtient 30% d'individus F1 émergents qui seront plus grands que les parents, 46% de même taille et 24% de plus petite taille. Il est toutefois possible que les plus fortes densités de nymphes par œuf (6 à 8 nymphes) soient un artefact dû aux conditions de laboratoire (milieu confiné). Ainsi, suite aux lâchers, le pourcentage de descendants de plus grande taille pourrait être supérieur à celui obtenu lors des expérimentations.

Parallèlement, nous avons observé une corrélation positive entre la taille des trichogrammes (aussi bien pour les F1 que pour les F0) et leur fécondité potentielle sur œufs d'*E. kuehniella* (*i.e* le nombre d'œufs qu'une femelle est capable de pondre). Ainsi, en accord avec la littérature, la fécondité des femelles est positivement corrélée avec leur taille (Waage et Ng Sook Ming, 1984, Bai *et al.*, 1992). Dans son chapitre sur l'acceptation des œufs-hôtes et la ponte des trichogrammes, Pintureau (2009) suggère que les femelles trichogrammes parasitent préférentiellement le même type d'œufs dont elles sont issues. Nous avons émis l'hypothèse d'une augmentation globale du taux de parasitisme des œufs de *C. perspectalis* par les individus F1. Or, les régressions linéaires effectuées sur le nombre d'œufs de pyrale parasités par les femelles F0 et F1 montrent une corrélation positive entre le parasitisme et la taille des femelles, mais ce, indépendamment de la génération. La même tendance est observée pour l'efficacité globale. Dans la population F1, seuls les individus de plus grande taille seraient plus efficaces sur les œufs de *C. perspectalis* que les individus F0, tandis que les individus plus petits que les femelles de la génération mère seraient moins efficaces. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par Bai et son équipe qui ont démontré, en 1992, que les trichogrammes issus d'œufs prélevés sur le terrain plus gros que les

œufs d'*E. kuehniella*, étaient plus grands et plus performants. Parallèlement, il est à noter que nos résultats sont beaucoup plus nets sur les œufs d'*E. kuehniella* que sur les œufs de *C. perspectalis*, soulignant clairement le problème de la variabilité intraspécifique des femelles trichogrammes sur les œufs de la pyrale du buis.

Etudier l'impact des trichogrammes lâchés est un paramètre important dans l'évaluation de l'efficacité de la lutte biologique. En effet, *C. perspectalis* étant une espèce multivoltine (Maruyama et Shinkaji, 1993 ; Nacambo *et al.*, 2013 ; Tabone *et al.*, 2015) plusieurs pics de ponte ont lieu durant la saison chaude. En France, jusqu'à 3 pics ont été relevés (Martin *et al.*, 2015). Ainsi, dans le cas de futurs lâchers de parasitoïdes, après chaque début de ponte, les femelles F1 issues des œufs parasités de *C. perspectalis* seront déjà présentes sur le terrain, formant un inoculum prêt à parasiter de nouveaux œufs (Honda et Luck, 2001). De plus, les femelles lâchées ayant parasité pendant plusieurs jours, leurs descendants auront des émergences décalées et seront donc plus adaptés à l'étalement naturel des pontes de la pyrale. Ces femelles F1 sont de bonne qualité.

CONCLUSION

L'objectif de ce travail était d'évaluer la qualité des descendants des trichogrammes (génération F1). La génération F1 issue des œufs de pyrale parasités par la souche Y est de bonne qualité : 30% de ces femelles sont plus grandes, plus fécondes que leurs parents et semblent plus efficaces pour parasiter les œufs de *C. perspectalis*. Ces résultats nous confortent dans l'idée qu'une lutte biologique contre *C. perspectalis* à l'aide de trichogrammes est envisageable et nous encourage à continuer les recherches sur les 3 meilleures souches de trichogrammes.

Pour la suite du projet, des tests en mésocosme (reconstitution de buissons de buis en conditions contrôlées) sont en cours d'étude, afin d'évaluer avec plus de précision l'efficacité des souches, en prenant en compte d'autres paramètres comme leur dispersion dans un environnement plus complexe. Des études sur l'attractivité des œufs de *C. perspectalis* pour les trichogrammes sont prévues en laboratoire, en situation de choix avec d'autres œufs de lépidoptères. Ces expérimentations permettront de connaître la spécificité des trichogrammes testés, et leur attrait pour les œufs de *C. perspectalis* en comparaison directe avec des œufs d'autres espèces ; cela afin d'identifier la souche de trichogrammes présentant l'attraction maximale pour les œufs de *C. perspectalis*. Ainsi l'efficacité des trichogrammes sera optimisée et leur impact sur d'autres espèces de lépidoptères naturellement présentes lors des lâchers sera minimisé (Babendreier *et al.*, 2003 ; Roriz *et al.*, 2006). La densité de nymphes par œuf parasité obtenue en mésocosme est également relevée, afin de savoir si les fortes densités obtenues en laboratoire (6 à 8 nymphes par œuf) sont des artefacts, ou si elles sont bien à prendre en compte dans la population F1. Ces résultats permettront de déterminer la souche la plus efficace en prenant en compte d'autres paramètres que les taux de parasitisme et d'efficacité globale (dispersion, spécificité, efficacité de la génération F1) et serviront de base pour établir des protocoles de lâchers sur le terrain.

Cette étude a permis de préciser que la génération F1, aussi efficace voire un peu plus que les parents lâchés, est à prendre en compte puisqu'elle permet de limiter le nombre de lâchers dans le temps. Cela s'ajoute à l'efficacité initiale des trichogrammes, ce qui ouvre de nombreuses perspectives pour la suite du projet.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé dans le cadre d'Ecophyto par les organismes Val'hor, FranceAgriMer, l'Onema, la Fondation de France et Koppert France. Il a également été réalisé grâce au concours technique et financier de Plante&Cit  et de l'Astredhor.

BIBLIOGRAPHIE

Babendreier D., Kuske S., Bigler F., 2003. Parasitism of non-target butterflies by *Trichogramma brassicae* Bezdenko under field cage and field conditions. *Biol. Cont.*, 26, 139-145.

Bai B., Luck R.-F., Forster L., Stephens B., Janssen J.-A.-M., 1992. The effect of host size on quality attributes of the egg parasitoid, *Trichogramma pretiosum*. *Entomol. exp. appl.*, 64, 37-48.

Bella S., 2013. The box tree moth *Cydalima perspectalis* continues to spread in southern Europe: new records for Italy. *Redia*, XCVI, 51-55.

Brua C., 2013. La pyrale du buis, *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859), espèce exotique envahissante, caractéristiques de sa dynamique d'expansion en France et en Europe, des dégâts occasionnés sur les buis (*Buxus spp.*) et des stratégies de lutte. Société Alsacienne d'Entomologie. Annales AFPP. Presented at 3. AFPP. Conférence sur l'Entretien des Espaces Verts, Jardins, Gazons, Forêts, Zones Aquatiques et Autres Zones Non Agricoles, Toulouse, FRA (2013-10-15 - 2013-10-17).

Chailleux A., Desneux N., Seguret J., Khanh H.-D.-T., Maignet P., Tabone E., 2012. Assessing European Egg Parasitoids as a Mean of Controlling the Invasive South American Tomato Pinworm *Tuta absoluta*. *Plos One*, 7, 8pp.

Do Thi Khanh H., Chailleux A., Tiradon M., Desneux N., Colombel E., Tabone E., 2012. Using new egg parasitoids (*Trichogramma spp.*) to improve integrated management against *Tuta absoluta*. *EPPO Bulletin*, 42 (2), 249-254.

Enriquez T., Giorgi C., Venard M., Colombel E.-A., Gaglio F., Buradino M., Martin J.-C., Tabone E., 2015. Des souches de trichogrammes contre la pyrale du buis. *Phytoma*, 685, 21-24.

Feldtrauer J.-F., Feldtrauer J.-J., Brua C., 2009. Premiers signalements en France de la Pyrale du Buis *Diaphania perspectalis* (Walker, 1859), espèce exotique envahissante s'attaquant aux Buis (Lepidoptera, Crambidae). *Bulletin de la Société Entomologique de Mulhouse*, 65: 55-58.

G ttig S., Feiertag S., Herz A., 2012. First experiments to evaluate the efficacy of entomopathogenic nematodes for biocontrol of the box tree pyralid moth, *Cydalima perspectalis* (Walker 1859). *DGaaE-Nachrichten*, 26, 38-39.

Grenier S., Basso C., Pintureau B., 2001. Effects of the Host Species and the Number of Parasitoids per Host on the Size of Some *Trichogramma* Species. *Biocont. Sci. and Tech.*, 11, 21-26.

Honda J.-Y., Luck R.-F., 2001. Interactions between host attributes and wasp size: a laboratory evaluation of *Trichogramma platneri* as an augmentative biological control agent for two avocado pests. *Entom. Exp. Appl.*, 100, 1-13.

Kenis M., Nacambo S., Leuthardt F.-L.-G., Di Domenico F., Haye T., 2013. The box tree moth, *Cydalima perspectalis*, in Europe: horticultural pest or environmental disaster? *Aliens*, 33, 38-41

Lefort F., Bovigny P.-Y., Cochard B., Mac Gilly L., Pelleteret P., 2014. Ravageurs et maladies du buis: La lutte s'organise contre la pyrale. *La forêt*, 10, 12-15.

Lopez-Vaamonde C., Agassiz D., Augustin S., De Prins J., De Prins W., Gomboc S., Ivinskis P., Karsholt O., Koutroumpas A., Koutroumpa F., Lastuvka Z., Marabuto E., Olivella E., Przybylowicz L., Roques A., Ryrholm N., Šefrova H., Šima P., Sims I., Sinev S., Skulev B., Tomov R., Zilli A., Lees D., 2010. Lepidoptera, Chapter II. In : Roques *et al.* (Eds) Alien terrestrial arthropods of Europe. *Biorisk*, 4(2), 603-668.

Mally R., Nuss M., 2010. Phylogeny and nomenclature of the box tree moth, *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) comb. n., which was recently introduced into Europe. *Eur. J. Entomol.*, 107, 393-400.

Martin J.-C., Brinquin A.-S., Morel E., Tabone E., Gu erin M., 2015. Vers un outil de biocontr le innovant et performant contre la pyrale du buis. *Phytoma*, 680, 41-44.

Maruyama T., Shinkaji N., 1993. The life cycle of the box-tree pyralid, *Glyphodes perspectalis*. III. Photoperiodic induction of larval diapause. *Jap. J. App. Ent. Zool. And zool.*, 37, 45-51.

Mills N.-J., Kulhmann U., 2000. The relationship between egg load and fecundity among *Trichogramma* parasitoids. *Eco. Ent.*, 25, 315-324.

Nacambo S., Leuthardt F.-L.-G., Wan H., Li H., Haye T., Baur B., Weiss R.-M., Kenis M., 2013. Development characteristics of the box-tree moth *Cydalima perspectalis* and its potential distribution in Europe. *J. Appl. Entomol.*, 138, 14-26.

Pintureau B., 2009. La lutte biologique et les trichogrammes : Application au contrôle de la pyrale du ma s. Editions le Manuscrit, Paris (France). 258pp.

Pratissoli D., Thuler R.-T., Andrade G.-S., Zanotti L.-C.-M., Da Silva A.-F., 2005. Estimate of *Trichogramma pretiosum* to control *Tuta absoluta* in stalked tomato. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 40, 715–718.

Roriz V., Oliveira L., Garcia P., 2006. Host suitability and preference studies of *Trichogramma cordubensis*. *Biol. Cont.*, 36, 331-336.

Suckling D.-M., Brockerhoff E.-G., 2010. Invasion Biology, Ecology, and Management of the Light Brown Apple Moth. *Annu. Rev. Entomol.*, 55, 285-306.

Tabone E., Enriquez T., Giorgi C., Venard M., Colombel E.-A., Gaglio F., Buradino M., Martin J.-C., 2015a. Mieux connaitre la pyrale du buis *Cydalima perspectalis*. *Phytoma*, 685, 18-20.

Tabone E., Goebel R., Lezcano N., Fernandez E., 2002. Le foreur de la canne à sucre, mise en place d'une Lutte Biologique à l'aide de trichogrammes à la Réunion. *Phytoma*, 553, 32-35.

Waage J.-K., Ng Sook Ming, 1984. The reproductive strategy of a parasitic wasp. I. Optimal progeny and sex allocation in *Trichogramma evanescens*. *J. Anim. Ecol.*, 53, 401-415.

Zimmermann O., W hrer B., 2010. Initial investigations on the ability of the indigenous larval parasitoid *Bracon brevicornis* to control the Box Tree Pyralid *Diaphania perspectalis* in Germany. *J. Plant Dis. Protect.*, 117, 92-93.

Zimmermann O., Albert R., W hrer B., 2009. New pests – known control methods: First experience with *Trichogramma* releases against the box-tree pyralid *Diaphania perspectalis* and the banana moth *Opogona sacchari* in Germany. *J. Plant. Dis. Protect.*, 116, 90pp.