



MAJ : 13/04/2018

 <p>Liberté • Égalité • Fraternité RÉPUBLIQUE FRANÇAISE</p> <p>MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION</p>	<p>Appel à projets de recherche « Pour et Sur le Plan Ecophyto » Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2</p>	 <p>ÉCOPHYTO RÉDUIRE ET AMÉLIORER L'UTILISATION DES PHYTOS</p>
---	--	--

**Programme « BIOCCYD : Luttés biologiques contre le carpocapse de la pomme,
Cydia pomonella (BIOControl of CYDia pomonella) »**

Rapport scientifique final (14/10/2018)

Nicolas RIS
Ingénieur de Recherche INRA

1. FICHE DE SYNTHÈSE

Consigne : document à diffusion publique modèle « Ecophyto » (Cf colloque Ecophyto Recherche) jointe au mail.

Nom du projet : BIOCCYD

Titre du projet : BIOCCYD : Luttés biologiques contre le carpocapse de la pomme, *Cydia pomonella* (BIOControl of *CYD*ia *pomonella*)

Année de démarrage : 2014

Année de fin : 2018

Responsable scientifique : RIS Nicolas

Partenaires : Institut Sophia Agrobiotech
BIOLINE Agrosiences

Financements : ECOPHYTO-PSPE2 « BIOCCYD » (Resp : RIS Nicolas)
FP7-IRSES « BIOMODICS » (Resp : MALAUSA Thibaut)
EC-C-IPM « API-Tree » (Resp : ALAPHILIPPE Aude)
INRA (Salaires des permanents & auto-financements)

Mot clés : Acclimatation ; Augmentation ; *Cydia pomonella* ; Lutte Biologique ; Parasitoïde

En quelques mots :

Consigne : 700 caractères espaces compris - Il s'agit d'une accroche permettant d'avoir une approche rapide sur le déroulé de votre projet. Elle sera utilisée également sur des sites internet pour décrire votre projet. Nous vous demandons donc de la rédiger de manière la plus communicante possible.

BIOCCYD se proposait d'évaluer la pertinence de deux stratégies de lutte biologique contre le carpocapse de la pomme, *Cydia pomonella* :

- une stratégie par augmentation basée sur l'utilisation de parasitoïdes oophages du genre *Trichogramma*, une stratégie abandonnée à mi-parcours faute d'originalité et de perspectives de développement,
- une stratégie par acclimatation reposant sur l'introduction d'un parasitoïde exotique, *Mastrus ridens*.

Les études sur *M. ridens* ont permis d'obtenir une autorisation officielle pour son introduction en France et des premiers lâchers ont ainsi eu lieu durant l'été 2018 sur un site du Vaucluse.

Des ressources financières complémentaires pour généraliser les lâchers de *M. ridens* et évaluer ses capacités d'établissement ont été activement recherchées, malheureusement sans succès.

Contexte et objectifs :

Consigne : 1150 caractères espaces compris - Vous pouvez expliciter notamment les cultures et les utilisations actuelles de produits phytopharmaceutiques abordées, les problèmes ou risques existants, les approches économiques le cas échéant, les verrous scientifiques restant pour trouver des solutions... Dans les objectifs, pour les projets concernés, une explicitation de la réduction de produits phytopharmaceutiques escomptée serait un plus.

Le carpocapse de la pomme, *Cydia pomonella* (Lepidoptera : Tortricidae) est, parmi les macro-organismes, le bioagresseur majeur en vergers de pommes en France et dans le monde du fait (i) de sa large répartition géographique, (ii) de l'impact économique des dégâts causés, (iii) de l'utilisation excessive en insecticides qu'il provoque et (iv) des limites des méthodes de contrôle disponibles

actuellement. Parmi les méthodes de biocontrôle disponibles, de nombreux espoirs ont été placés jusqu'à présent dans la confusion sexuelle et l'utilisation de carpovirus, deux méthodes qui présentent toutefois des limites notables. Des méthodes d'éradication basées sur les lâchers d'insectes stériles ont également été déployées localement mais leur évaluation reste préliminaire. Enfin, les capacités de contrôler le carpocapse en favorisant la biodiversité fonctionnelle locale (lutte biologique par conservation) semble également limitée. Une diversification des méthodes de biocontrôle est donc nécessaire pour compléter les méthodes de gestion déjà existantes et, éventuellement, limiter les possibilités de leur contournement par le bioagresseur. Dans ce contexte, le projet BIOCCYD vise à évaluer deux méthodes de biocontrôle basées sur deux types de macro-organismes entomophages : des parasitoïdes oophages du genre *Trichogramma* (Hymenoptera : Trichogrammatidae) et un parasitoïde pré-pupal *Mastrus ridens* (Hymenoptera : Ichneumonidae).

Principaux résultats et intérêts en lien avec le plan Écophyto :

Consigne : 3500 caractères espaces compris - Partie principale de la fiche. Il est attendu que soient présentés les résultats majeurs obtenus en précisant de manière explicite leur périmètre de validité (généralisable à d'autres territoires, types de cultures ...) ainsi que leurs limites et plus particulièrement celles liés à vos choix méthodologiques, plan d'expérience par exemple. Attention, il ne s'agit pas de présenter entièrement la méthodologie que vous avez suivie, uniquement les points qui permettent d'éclairer la lecture des résultats et de les comprendre.

Concernant le volet « Lutte biologique par augmentation à l'aide de trichogrammes », des échantillonnages de trichogrammes ont été menés entre 2014 et 2016 sur une grande moitié Sud de la France de façon coordonnée entre ce projet « BIOCCYD », le projet PSPE1 2013-2015 « INDREGARB » et le projet ANR 2014-2019 « TRIPTIC ». Concernant les espèces végétales hôtes potentiels de *Cydia pomonella*, le taux de collecte de trichogrammes s'est avéré en moyenne faible. La diversité des espèces obtenues a été estimée par des approches moléculaires (« barcoding » sur une portion COI) et comparée à celles observées sur d'autres catégories de plantes : (i) des Rosacées non-hôtes de *C. pomonella* et sympatriques d'hôtes de *C. pomonella* ; (ii) d'autres plantes non-hôtes de *C. pomonella* et sympatriques d'hôtes de *C. pomonella* ; (iii) des Rosacées non-hôtes de *C. pomonella* et allopatriques des hôtes de *C. pomonella*. A l'exception du taxon moléculaire appelé « misG » (retrouvés uniquement sur pommiers cultivés), les principales espèces retrouvées sur les hôtes de *C. pomonella* s'avèrent communes et peu spécialisées. Concernant « misG », des études sont actuellement en cours pour préciser son statut taxonomique. Compte-tenu, d'une part, de ces résultats sur la diversité des trichogrammes et, d'autre part, de la stratégie de la société BIOLINE Agrosiences, les investigations concernant ce volet ont été arrêtées d'un commun accord !

Concernant le volet « Lutte biologique par acclimatation à l'aide de *Mastrus ridens* », plusieurs souches de *M. ridens* ont été introduites avec succès dans nos locaux (depuis la Nouvelle-Zélande : LOA n°FR15PA00001 du 22/05/2015 ; depuis le Chili : LOA n°FR16PA00001 du 19/01/2016 et LOA n°FR16PA00002 du 01/03/2016) suite à l'autorisation obtenue (19/05/2015). L'élevage de *M. ridens* s'est avéré relativement aisé pour du maintien de base mais beaucoup plus problématique pour des productions massives. Sur la base (i) des demandes d'introductions réalisées dans d'autres pays, (ii) de la littérature sur le sujet et (iii) d'expérimentations menées par nous-mêmes sur des hôtes non-cibles, une demande d'introduction dans l'environnement a été soumise à la DGAL et l'ANSES le 4/03/2016. Ce dossier de 37 pages synthétise les connaissances acquises sur la biologie de *M. ridens*, décrit les communautés d'ennemis naturels de *C. pomonella* en France et dans le monde, et expose les bénéfices et les éventuels risques associés à son introduction dans l'environnement. Sur cette base et le recours à des experts indépendants, l'ANSES a émis un avis favorable le 04/01/2017 et un Arrêté co-signé par le Ministère de l'Agriculture et par le Ministère de l'Environnement a été officiellement émis le 09/05/2017. Comme pour d'autres primo-introductions d'auxiliaires exotiques, l'objectif est désormais de profiter de ces occasions originales de mettre en place un suivi post-lâcher multi-sites et pluriannuel afin d'évaluer précisément les performances de *M. ridens* au champ et greffer des questionnements de biologie des populations. Compte tenu des ressources financières et

logistiques disponibles, seul un site situé en Vaucluse a fait l'objet de lâchers de *M. ridens* au second semestre 2018. Les tentatives pour lever des fonds supplémentaires (candidatures FranceAgriMer 2016 et 2017) se sont révélées infructueuses.

Lien avec le plan Ecophyto :

L'objectif initial du projet BIOCCYD était évidemment la réduction de l'usage des produits phytosanitaires contre le carpocapse de la pomme *C. pomonella*, en combinaison avec d'autres méthodes de biocontrôle (confusion sexuelle, carpovirusine, lutte biologique par conservation). Compte tenu des résultats obtenus, une perspective particulièrement intéressante qui s'est dégagée de nos travaux est la possibilité d'introduction de *Mastrus ridens* en France et son éventuel établissement. En cas de réussite, cela se traduirait en effet par la création d'un nouveau service écosystémique de régulation du carpocapse, gratuit pour les agriculteurs concernés.

Perspective de transfert :

Consigne : 700 caractères espaces compris

La lutte biologique par acclimatation relève en général de missions de service publique. (i) L'évaluation « amont » des auxiliaires candidats, (ii) l'introduction sur le territoire de tout ou partie de ceux-ci et (iii) leurs évaluations post-lâcher sont en effet généralement assurées par des organismes de recherche et des acteurs technico-agronomiques (Instituts techniques, Stations expérimentales, Réseaux d'agriculteurs, etc). L'implication de partenaires privés (biofabriques) est possible (cf cas d'étude « cynips du châtaignier ») mais en général limité dans le temps.

Perspective de recherche :

Consigne : 700 caractères espaces compris - Ces deux paragraphes aborderont les suites utiles pour Écophyto qui pourraient découler de votre projet, d'un point de vue opérationnel (en précisant l'état d'avancement et les éléments de blocage actuel ou potentiel) et en sujets de recherche (questions soulevées par vos résultats, suite du projet...).

La perspective de recherche la plus évidente est évidemment l'évaluation pluri-annuelle et multi-sites de *Mastrus ridens* que ce soit en termes de dynamique locale (établissement et démographie locales), de dispersion spatiale, et de niches écologiques réalisées (exploitation effective de *C. pomonella* sur les différentes plantes-hôtes ; impact éventuel sur espèces non-cibles). A bien des égards, cette évaluation post-lâcher répond à la fois à des attentes scientifiques (biologie des populations de introduites) et des attentes agronomiques (évaluation du service rendu par *M. ridens* et impact sur les autres méthodes de contrôle du carpocapse).

Au travers de l'introduction de *Mastrus ridens* réalisée en 2018 dans le Vaucluse et peut-être d'autres opérations « miroirs », **l'influence de l'hétérogénéité environnementale** autour du site lâcher (<1km) sur les dynamique et dispersion locales est actuellement en cours d'étude (Thèse de David MURU, Institut Sophia Agrobiotech).

Une autre question particulièrement intéressante est **l'évaluation du mode de déterminisme du sexe (sl-CSD) de *M. ridens* sur sa dynamique des populations**. Le manque de variabilité génétique au locus sl-CSD induit en effet la production de mâles diploïdes reproductivement non fonctionnels qui entrent en compétition avec les mâles normaux (haploïdes) pour l'accouplement aux femelles. Le monitoring de la fréquence des mâles diploïdes *in natura* voire la restauration de diversité génétique au locus sl-CSD sont deux aspects qui mériteraient des investigations spécifiques.

Publications scientifiques et autres valorisations du projet :

Lien internet vers le projet le cas échéant

Références bibliographiques principales des documents valorisés (4 maximum)

- Borowiec N, Malausa T., Ris N. 2015. Document technique relatif à l'introduction en milieu confiné de l'hyménoptère parasitoïde exotique, *Mastrus ridens*. 18pp.
- Borowiec N, Muru D., Malausa T., Ris N. 2016. Document technique relatif à l'introduction dans l'environnement de l'hyménoptère parasitoïde exotique, *Mastrus ridens*. 37pp.
- Marchand A, Sellier N, Warot S, Ion-Scotta M, Ris N, Groussier-Bout G. 2017. Formalisation d'un Centre de ressources biologiques dédié aux parastoïdes oophages : CRB EP-Coll. Cahier des Techniques de l'INRA.
- Muru D, Auguste A, Fauvergue X, Malausa T, Ris N, Thaon M, Vercken E, Borowiec N. 2018. Un parasitoïde exotique pour lutter contre le carpocapse. *Phytoma, la Défense des Végétaux*. 710 : 37-41.
- Muru D, Marchand A, Calcagno V, Cruaud A, Rasplus J-Y, Ris N, Vercken E, Warot S, Groussier G. in prep. Survey of the diversity of *Trichogramma* species in France and neighbouring areas with information related to their host plants and habitats
- Warot S, Cruaud A, Groussier G, Malausa T, Martinez-Rodriguez P, Pintureau B, Seguret J, Ris N. Insights into the molecular diversity and species delineation in the genus *Trichogramma* with a focus on West Palearctic

2. RAPPORT D'ACTIVITE :

Cette partie doit permettre de juger

- de l'exécution du projet (par tâche, par partenaire),
- des moyens (humains et techniques) effectivement mis en œuvre,
- de la réalisation des jalons et de la production des livrables annoncés,
- de la collaboration effective à l'intérieur du projet et, éventuellement, entre projets,
- des liens établis avec les acteurs du plan Ecophyto, en particulier du ou des dispositifs concernés,
- des différents produits du projet (à lister)

a. Structuration par Tâche

Nous reprenons ci-dessous la structuration telle que mentionnée initialement dans la proposition et dressons un bilan synthétique pour chaque tâche

i. Volet « Coordination »

Les actions réalisées dans le cadre de ce volet ont été :

- Implication dans le conventionnement

Ceci a été un processus plus long prévu puisque la signature officielle n'est intervenue qu'en juillet 2015. **Ce retard dans le démarrage officiel n'a pas été anodin puisque les recherches ont débuté antérieurement à cette date par nécessité de continuité avec la mission en Nouvelle Zélande réalisée en mai 2015 dans le cadre du projet connexe BIOMODICS (FP7-People-IRSES) qui a permis l'importation des premières souches de *Mastrus ridens* (cf Tâche 2). Nous avons formellement demandé auprès des responsables de l'appel à projets que les dépenses réalisées entre Mai 2015 et Juillet 2015 puissent être considérées comme des auto- ou co- financements à BIOCCYD comme c'était envisagé initialement.**

- Implication dans l'accord de consortium

Ceci a été un processus encore plus long puisque celui n'a été signé qu'en août 2018. Ce délai, qui s'explique notamment par le changement d'entité multiple de du partenaire 2 (Invivo AgroSolutions → BIOTOP → BIOLINE Agrosiences), a toutefois eu peu d'impact dans la mesure où la perspective de développement d'un produit « Trichogrammes contre le carpocapse » a été abandonnée.

- Recrutement et gestion des non permanents

Une part importante du financement BIOCCYD a été dédiée au salaire de David MURU (CDD Ingénieur d'Etude) sur la période Aout 2015 – Mars 2017. Durant cette période, David MURU s'est investi sur les deux volets agronomiques de BIOCCYD, « *Mastrus ridens* » et « *Trichogrammes* ». Au-delà du CDD, David MURU est resté impliqué sur la thématique « *Mastrus ridens* » avec le démarrage en octobre 2017 d'une thèse co-financée par le Département SPE de l'INRA et l'Université Côte d'Azur. Dans le cadre de sa thèse, David MURU a notamment supervisé la première introduction de *M. ridens* sur le territoire français à partir de juillet 2018.

Un autre agent CDD a été mobilisé sur le projet BIOCCYD, Camille DURAJ sur la période juillet – octobre 2018. Camille DURAJ a été recrutée sur fonds propre et s'est principalement investie dans les élevages de *C. pomonella* et *M. ridens* ainsi que sur l'introduction de cette dernière espèce sur le site du Vaucluse.

- Animation interne

L'animation interne a principalement consisté à organiser les activités sur les deux volets, les articuler et leur allouer les ressources humaines et financières.

Une étape importante a été la réunion organisée en avril 2017 entre l'INRA et BIOLINE puisqu'elle a entériné l'arrêt des investigations sur le volet « Trichogrammes ».

- Communication-Valorisation du projet

Les principales actions de communication ou valorisation autour du projet BIOCCYD ont été :

- la participation au séminaire « PSPE2 – Pesticides_2014 » organisés à Paris en décembre 2017
- la parution en janvier 2018 d'un article dans la Revue « Phytoma, la Défense des Végétaux » exposant les résultats obtenus et les perspectives d'introduction de *Mastrus ridens* sur le terrain.
- la participation au Kick-off meeting du projet C-IPM API-Tree en septembre 2017.

- Rédaction des rapports intermédiaire et final

2 rapports ont été rédigés à l'occasion de ce projet, le rapport intermédiaire en juin 2017 et le rapport final en octobre 2018.

- Recherche de financements complémentaires

Le financement obtenu sur BIOCCYD étant, dès le départ, insuffisant pour mener à terme (i.e. jusqu'à l'évaluation au champ) l'une et/ou l'autre des méthodes de lutte biologique envisagées (acclimatation de *M. ridens* ou lâchers augmentatifs de trichogrammes), la recherche de financements complémentaires a été une priorité. Dans ce cadre, 3 initiatives sont à noter :

- La présentation lors de 3 années successives (septembre 2016, novembre 2017, octobre 2018) d'une demande de financement (Resp : N. Borowiec) auprès de FranceAgriMer ;
- La participation au projet API-Tree (Unité PSH – Resp : A. Alaphilippe), finalement lauréat d'un Appel à Projets C-IPM
- Le soutien exceptionnel accordé en août 2018 par le GR-CETA de Basse-Durance.

ii. Volet « Lutte biologique par acclimatation avec *Mastrus ridens* »

Tâche 0 : Demande d'introduction de *Mastrus ridens* en milieu confiné

Comme nous nous y étions engagés lors du dépôt du projet, la demande d'introduction de *Mastrus ridens* dans notre quarantaine « Entomopolis » a été réalisée très précocement (05/01/2015) auprès de la DGAL et de l'ANSES. Après émission de l'avis favorable par l'ANSES (Saisine n°LSV-ERB-2015-002 du 27/04/2015), l'accord formel de la DGAL a été obtenu le 19/05/2015.

Tâche 1 : Synthèse des introductions en Nouvelle-Zélande, Argentine et Chili.

Au travers de programmes connexes impliquant l'ISA (FP7-People-IRSES « BIOMODICS » ; projet chilien « FONDECYT »), le bilan des introductions de *M. ridens* dans d'autres pays a été réalisé. Une attention particulière a été portée sur l'histoire génétique des différentes souches maintenues au laboratoire ou introduites dans la nature (Retamal *et al.* 2016) (Figure 1), ce point est d'autant plus important que la capacité à produire des filles et à éviter la production de mâles diploïdes (déterminisme du sexe *via* CSD) est une composante essentielle du rendement des élevages au laboratoire et, vraisemblablement, de l'établissement et de l'efficacité au champ de *M. ridens* (cf Tâche 4).

Tâche 2 : Importation, élevage et évaluation de *Mastrus ridens* en France

Suite à l'autorisation obtenue (cf. Tâche 0), plusieurs souches de *M. ridens* ont été introduites avec succès dans nos locaux (depuis la Nouvelle-Zélande : LOA n°FR15PA00001 du 22/05/2015 ; depuis le Chili : LOA n°FR16PA00001 du 19/01/2016 et LOA n°FR16PA00002 du 1/03/2016 ; depuis le Kazakhstan : LOA n°FR18PA00005 du 03/09/2018). Avec le recul désormais acquis, l'élevage de *M. ridens* s'avère relativement aisé pour du maintien de base mais beaucoup plus problématique pour des productions massives. Les deux raisons principales sont, d'une part, une forte mortalité pré-imaginale de l'hôte *C. pomonella* (virus latent) et, d'autre part, le biais de sex-ratio en défaveur des femelles (probablement en lien avec les effets fondateurs et le déterminisme particulier du sexe, le CSD).

Tâche 3 : Demande d'introduction du parasitoïde exotique sur le territoire français

Sur la base (i) des demandes d'introductions réalisées dans d'autres pays, (ii) de la littérature sur le sujet et (iii) d'expérimentations menées à ISA sur des hôtes non-cibles, une demande d'introduction dans l'environnement a été soumise à la DGAL et l'ANSES le 4/03/2016. Ce dossier de 37 pages synthétise les connaissances acquises sur la biologie de *M. ridens*, décrit les communautés d'ennemis naturels de *C. pomonella* en France et dans le monde, et expose les bénéfices et les éventuels risques associés à son introduction dans l'environnement (Figure 1). Sur la base de ce dossier, l'ANSES a émis un avis favorable le 4/01/2017 et un Arrêté co-signé par le Ministère de l'Agriculture et par le Ministère de l'Environnement a été officiellement émis le 09/05/2017.

Tâche 4 : Introductions de *Mastrus ridens* en vergers

Suite à l'autorisation officielle obtenue en faveur de l'introduction de *M. ridens* sur le territoire français, **des premiers lâchers ont été réalisés par notamment D. Muru (ex CDD recruté BIOCCYD et actuel Doctorant au sein de l'Institut Sophia Agrobiotech) sur une parcelle de pommiers située dans la Vaucluse.** Plusieurs milliers de *M. ridens* ont été introduits en deux vagues successives entre mi juillet et mi octobre 2018. Des tentatives de recapture des premiers descendants des *M. ridens* introduits sont actuellement en cours.

iii. Volet « Lutte biologique par lâchers de *Trichogramma* »

Tâche 5 : Echantillonnage et caractérisation de la biodiversité des *Trichogramma*

De façon coordonnée entre ce projet « BIOCCYD », le projet PSPE1 2013-2015 « INDREGARB » et le projet ANR 2014-2019 « TRIPTIC », des échantillonnages de trichogrammes ont été menés entre 2014 et 2016 sur une grande moitié Sud de la France (cf Figure 2). Concernant les espèces végétales hôtes potentiels de *Cydia pomonella*, le taux de collecte de trichogrammes s'est avéré en moyenne faible. La diversité des espèces obtenues a été estimée par des approches moléculaires (« barcoding » sur une portion COI) et comparée à celles observées sur d'autres catégories de plantes : (i) des Rosacées non-hôtes de *C. pomonella* et sympatriques d'hôtes de *C. pomonella* ; (ii) d'autres plantes non-hôtes de *C. pomonella* et sympatriques d'hôtes de *C. pomonella* ; (iii) des Rosacées non-hôtes de *C. pomonella* et allopatriques des hôtes de *C. pomonella*. A l'exception du taxon moléculaire appelé « misG » (retrouvés uniquement sur pommiers cultivés), les principales espèces retrouvées sur les hôtes de *C. pomonella* s'avèrent communes et peu spécialisées. Concernant « misG », des études sont actuellement en cours pour préciser son statut (souche appartenant à *T. cacoeciae* ou espèce proche).

Tâche 6 : Etude des communautés de *Trichogramma* en zone native

A partir des études de génétique des populations menées sur les pommiers cultivés et de l'hypothèse d'une association ancestrale entre *Cydia pomonella* et des ancêtres du pommier cultivé, l'origine géographique de *Cydia pomonella* est supposée être l'Asie Centrale (voir par exemple Mills et al. 2005). Malgré quelques contacts notamment au Kazakhstan, aucune prospection n'a pu être réalisée dans ces régions, en particulier par manque de moyens financiers.

Dans le cadre du programme « INTEGPAR » (EGIDE « Brancusi » 2017-2018), des prospections de trichogrammes sur des hôtes de *C. pomonella* ont également été initiées en Roumanie. Cette collaboration offre l'opportunité d'étudier la diversité des trichogrammes dans un contexte climatique, écologique et agronomique (pression phytosanitaire *a priori* plus faible) très contrasté. L'analyse de ces résultats est en cours.

Tâche 7 : Développement d'une nouvelle souche de trichogrammes

Compte-tenu, d'une part, des résultats obtenus sur la diversité des trichogrammes récoltés sur les espèces hôtes et non-hôtes de *C. pomonella* en France (cf Tâche 5) et, d'autre part, de la stratégie

de la société BIOTOP-BIOLINE, le développement d'une nouvelle souche de trichogrammes ne semble en l'état pas opportune à court et moyen termes !

Sur le plus long terme, ce positionnement pourra être éventuellement révisé en fonction notamment d'une connaissance plus précise des communautés de trichogrammes dans d'autres contextes climatiques et écologiques (Europe de l'Est, Asie Centrale voire Asie Orientale).

b. Moyens (humains et techniques) effectivement mis en œuvre

Les rôles des 2 partenaires - l'Institut Sophia Agrobiotech (Equipes « Recherche et Développement en Lutte Biologique » et Biologie des Populations Introduites ») et la société anciennement appelée IAS-BIOTOP et désormais BIOLINE Agrosociences - discutés initialement ont été scrupuleusement respectés.

L'Institut Sophia Agrobiotech s'est ainsi investie dans la plupart des Tâches des trois Volets à savoir :
Volet « Coordination » : toutes les tâches précédemment décrites

Volet « *Mastrus ridens* »

- Synthèse de l'état de l'art et veille bibliographique [Tâche 0 et Tâche 1]
- Rédaction des demandes réglementaires concernant *M. ridens* (2015-2016) [Tâche 0 et Tâche 3]
- Elevages de *C. pomonella* et de *M. ridens* (dès début 2015 à maintenant) [Tâche 2 et Tâche 4]
- Expérimentation en zones confinées sur *M. ridens* (mai 2015 – mars 2016) [Tâche 2]
- Primo-introduction de *M. ridens* en Vaucluse (d'avril 2018 jusqu'à maintenant) [Tâche 4]
- Action de communication-valorisation (de juin 2017 à maintenant)
- Recherche de financements complémentaires concernant *M. ridens* (2016-2018)

Volet « Trichogrammes » : toutes les tâches précédemment décrites (juillet 2015 – avril 2017)

Les moyens logistiques et techniques mobilisés par l'Institut Sophia Agrobiotech pour ce projet inclut notamment : (i) des pièces climatiques pour les élevages de *C. pomonella* et de *M. ridens* ainsi que les expérimentations sur *M. ridens* ; (ii) le parc de véhicules de service (échantillonnages de trichogramme et introduction de *M. ridens*) ; (iii) l'équipement moléculaire (caractérisation de trichogrammes) ; (iv) des bureaux et la logistique afférente pour les permanents comme les non permanents.

La société privée **BIOLINE Agrosociences** s'est quant à elle investie dans les activités suivantes :

Volet « Coordination » :

- Implication dans le conventionnement
- Implication dans l'accord de consortium
- Animation interne

Volet « *Mastrus* » : Fourniture d'œufs/larves de *Cydia pomonella* (juillet 2015 juin 2017)

Volet « Trichogrammes » : Tâche 7 (juillet 2015 avril 2017)

Les moyens logistiques et techniques mobilisés par BIOLINE Agrosociences pour ce projet incluent notamment des pièces climatiques pour les élevages de *C. pomonella* ainsi que les équipements et petit matériel nécessaire.

En plus de ces deux partenaires officiels, il convient de souligner la contribution du **laboratoire PSH** (Centre INRA PACA) :

- d'une part, dans l'approvisionnement d'appoint (janvier-juin 2018) puis renforcé (depuis juillet 2018) en œufs de *C. pomonella* que PSH a assuré face à nos difficultés d'élevage.
- d'autre part, pour leur projet API-TREE, finalement lauréat d'un Appel à projets C-IPM dans lequel l'Institut Sophia Agrobiotech est impliqué (co-financement du volet « *Mastrus ridens* »).

c. Réalisation des jalons et production des livrables annoncés

Sur le plan réglementaire, les deux livrables annoncés ont été produits à savoir la demande d'introduction des souches de *Mastrus ridens* en milieu confiné (janvier 2015) puis la demande d'introduction sur le territoire (mars 2016)

Sur un plan scientifique :

- L'ensemble du projet a fait l'objet d'une communication à l'occasion du séminaire « PSPE2 – Pesticides_2014 »
- Concernant le volet « *Mastrus ridens* », un article en français a été publié dans la revue Phytoma (Muru *et al.* 2018) et une communication orale a été faite à l'occasion du Kick-off meeting du projet API-TREE. L'article scientifique et la communication dans un colloque international initialement prévu ont été différés du fait du retard dans l'introduction de *M. ridens* au champ, faute de financement.
- Concernant le volet « Trichogrammes », la contribution du projet BIOCCYD au Centre de Ressources Biologiques « EP-Coll » est mentionnée dans Marchand *et al.* 2017. un article sous forme de « Data Paper » (1^{er} auteur : Muru D) et un article de synthèse sur la caractérisation moléculaire des trichogrammes (1^{er} auteur : Wartot S) sont en préparation et incluront les résultats obtenus dans le cadre BIOCCYD.

d. Collaboration effective à l'intérieur du projet et, éventuellement, entre projets

Le partenariat et le montage du projet BIOCCYD étant très simple, la collaboration à l'intérieur du projet n'a pas posé de problèmes (cf § « Structuration par Tâche »)

Vis-à-vis d'autres projets :

- Concernant le volet « *Mastrus ridens* » : (i) Des liens forts existent avec la Thèse actuellement en cours de D. MURU (Co-financement INRA – UCA, Co-encadrement E. Vercken – N. Ris), D. MURU étant le principal acteur de la primo-introduction de *M. ridens* dans le Vaucluse en 2018 ; (ii) des liens forts existent également avec le projet C-IPM « API_TREE » qui soutient financièrement les travaux sur *Mastrus ridens* depuis 2017 ; (iii) des liens techniques et méthodologiques existent également avec le projet « *Mastrus* » piloté par X. Fauvergue (Financement INRA) qui étudie plus spécifiquement les conséquences individuels et populationnels du si-CSD chez *M. ridens*.
- Concernant le volet « Trichogrammes », les travaux d'échantillonnages et de caractérisation moléculaire s'inscrivent dans un cadre plus global mobilisant également le projet PSPE1 « INDREGARB » (2013-2016 – Resp. : Y. Capowiez, PSH) et le projet ANR TRIPTIC (2014-2019 – Resp. : J-Y Raplus, CBGP).

e. Liens établis avec les acteurs du plan Ecophyto, en particulier du ou des dispositifs concernés

L'essentiel des travaux du projet BIOCCYD se sont déroulés en amont de toute évaluation au champ et n'ont de ce fait pas mobilisé le réseau DEPHY EXPE. Concernant la primo-introduction de *M. ridens* en Vaucluse (été 2018) et les futures autres introductions, les sites retenus/envisagés répondent à un cahier des charges incluant uniquement des sites en AB voire des vergers abandonnés et représentatifs de différent(e)s régions, climats et/ou systèmes de culture. D'une façon générale, l'évaluation des services rendus par *M. ridens* au sein d'un itinéraire technique (quel qu'il soit) ne pourra probablement se faire qu'après que l'auxiliaire ait atteint une large distribution géographique et que sa dynamique se soit localement « stabilisée ».

f. Différents produits du projet

Avec l'arrêt du volet « Trichogramme » au profit du seul volet « *Mastrus ridens* », **l'innovation que le projet BIOCCYD propose à l'arboriculture française est la mise en place d'un service de régulation basé sur l'introduction pérenne d'un auxiliaire exotique (lutte biologique par acclimatation)**. Potentiellement, les bénéfices peuvent principalement concerner les filières « Pommes », « Poires » et « Noix ».

Les difficultés à mobiliser des ressources financières complémentaires au projet BIOCCYD ont non seulement différé d'un an la primo-introduction de *M. ridens* par rapport à ce qu'il aurait été possible mais ont également limité le nombre de sites d'introduction.

g. Actions d'animation et de coordination interne/externe

Les actions d'animation et de coordination intra-projet ont essentiellement reposé sur des interactions quotidiennes impliquant, à chaque fois, seulement les personnes en charge de la problématique concernée. Cette absence de « cadre formel » s'explique par plusieurs raisons incluant : (i) la simplicité du montage (2 partenaires : l'Institut Sophia-Agrobiotech et la société privée BIOLINE, distante de quelques kilomètres) ; (ii) le consensus initial concernant les objectifs, méthodes et livrables à atteindre ; (iii) le long historique de collaborations entre les 2 équipes ISA impliquées (RDLB et BPI) ; (iv) la confiance et la fluidité des échanges entre agents ISA et BIOLINE. **Un point formel impliquant les collègues ISA et BIOLINE a toutefois été fait le 24/04/2017 (site BIOLINE de Valbone) pour, d'une part, partager l'ensemble des résultats et expériences et, d'autre part, entériner l'arrêt de la fourniture de larves de *C. pomonella* par IAS-BIOTOP (fin juin 2017) et du volet « trichogrammes ».**

Les actions d'animation et de coordination extra-projet ont été délibérément limitées compte-tenu, initialement, du côté « exploratoire » voire incertain du projet puis des difficultés à mobiliser de nouvelles ressources financières pour l'évaluation au champ de *M. ridens*. Il faut noter tout de même notre convergence avec la réflexion « système de cultures »-centrées menées dans le cadre du projet C-IPM « API-Tree » (2017-2020 – Resp : A. Alaphilippe, INRA-UERI). Une large extension du partenariat a été également proposée à l'occasion de la réponse à l'appel à projets 2018 de FranceAgriMer qui vise à multiplier les sites d'introduction de *M. ridens*. Ce partenariat impliquerait en effet 3 laboratoires INRA (Institut Sophia Agrobiotech, Laboratoire « Plantes et Systèmes de cultures Horticoles, UE Horticole), le CTIFL, SudExpé, l'IFPC, la Station « La Pugère », le GR-CETA de Basse-Durance.

h. Liste des faits et résultats marquants

Les faits/résultats les plus marquants à nos yeux sont indiqués en gras

en bleu : « volet « Coordination »

en rouge : volet « *Mastrus ridens* »

En vert : volet « Trichogrammes »

Mai 2014 :	Soumission du projet BIOCCYD
Septembre 2014 :	Acceptation du projet BIOCCYD
Janvier 2015 :	Dépôt de la demande d'introduction au laboratoire de <i>M. ridens</i>
Janvier 2015 :	Date prévisionnelle de début des travaux
Janvier 2015 :	Recrutement de David MURU sur le projet FP7-PEOPLE-IRSES « BIOMODICS »
Mai 2015 :	Démarrage effectif des travaux (volet « <i>Mastrus ridens</i> » - continuité avec mission BIOMODICS en Nouvelle-Zélande)
Mai 2015 :	Autorisation pour l'introduction au laboratoire de <i>M. ridens</i>
Mai 2015 :	Introduction au laboratoire d'une souche de <i>M. ridens</i> depuis la Nouvelle-Zélande
Juin 2015 :	Prolongation du CDD de David MURU sur fonds propres
Juillet 2015 :	Signature de la convention BIOCCYD
Juillet 2015 :	Changement d'entité du partenaire privé (IAS → BIOTOP-BIOLINE)
Août 2015 :	Recrutement de David MURU sur le projet BIOCCYD
Août-Novembre 2015 :	Echantillonnages « trichogrammes » et caractérisation moléculaire associée
Janvier 2016 :	Introduction au laboratoire d'une souche de <i>M. ridens</i> depuis le Chili
Mars 2016 :	Introduction au laboratoire d'une souche récente de <i>M. ridens</i> (collectée en 2015 au Kazakhstan) depuis le Chili
Mars 2016 :	Dépôt de la demande d'introduction au champ de <i>M. ridens</i>
Avril-Novembre 2016 :	Echantillonnages « trichogrammes » et caractérisation moléculaire associée
Septembre 2016 :	Dépôt de la demande de financement FranceAgriMer
Janvier 2017 :	Avis favorable de l'ANSES pour l'introduction au champ de <i>M. ridens</i>
Mars 2017 :	Fin du CDD de David MURU
Avril 2017 :	Non sélection de la demande FranceAgriMer
Avril 2017 :	Point formel entre ISA et IAS-BIOTOP-BIOLINE → Arrêt du volet « Trichogrammes »
Mai 2017 :	Emission de l'Arrêté d'autorisation d'introduction dans l'environnement de <i>M. ridens</i>
Juin 2017 :	Envoi du Rapport intermédiaire
Juin 2017 :	Fin de l'approvisionnement en <i>C. pomonella</i> par IAS-BIOTOP-BIOLINE
Septembre 2017 :	Kick-off meeting du C-IPM API-TREE
Octobre 2017 :	Démarrage de la thèse de D. MURU (50% INRA SPE – 50% UCA JEDI)
Novembre 2017 :	Dépôt d'une nouvelle demande FranceAgriMer
Décembre 2017 :	Participation au Séminaire « PSPE2 – Pesticides 2014 » à Paris
Janvier 2018 :	Parution d'un article dédié « <i>Mastrus ridens</i> » dans la revue Phytoma
Janvier 2018 :	Démarrage d'un soutien de PSH (sur fonds propres) pour fourniture de carpocapse
Avril 2018 :	2 ^{ème} échec demande de financement FranceAgriMer
Juin 2018 :	Démarrage d'un soutien renforcé de PSH (sur fonds propres) pour fourniture de carpocapse
Juillet 2018 :	Recrutement CDD (3 voire 4 mois) Camille Duraj (MAD)
Juillet 2018 :	Primo-introduction de <i>Mastrus ridens</i> (Paluds de nove)
Aout 2018 :	Signature de l'Accord de Consortium
Aout 2018 :	Arbitrage positif par GR CETA d'un soutien financier exceptionnel (4k€)
Septembre 2018 :	Mission Kazakhstan (projet SPE – Fauvergue X + API-TREE)
Octobre 2018 :	Dépôt d'une nouvelle demande FranceAgriMer
Octobre 2018 :	Envoi rapport scientifique Final

3. RAPPORT SCIENTIFIQUE :

10 à 15 pages en format à peu près libre

En repartant des objectifs et hypothèses initiaux, il s'agit de montrer en quoi le projet a fait avancer la connaissance, évoluer les concepts, fourni des réponses, des méthodes ou des outils et posé de nouvelles questions.

Plan classique suggéré :

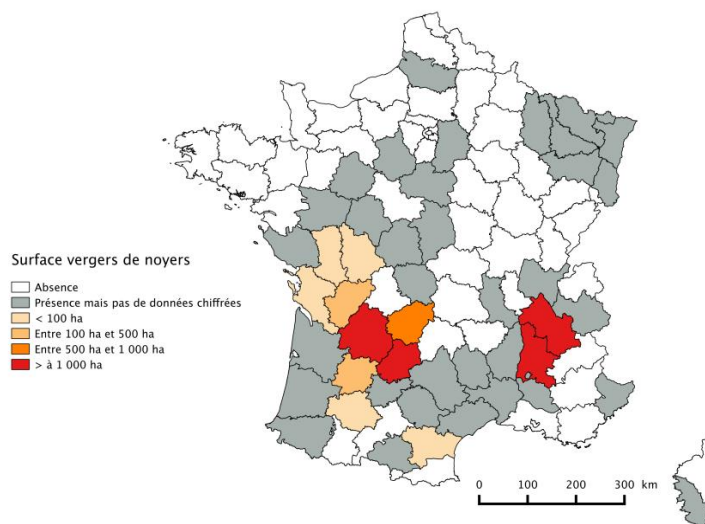
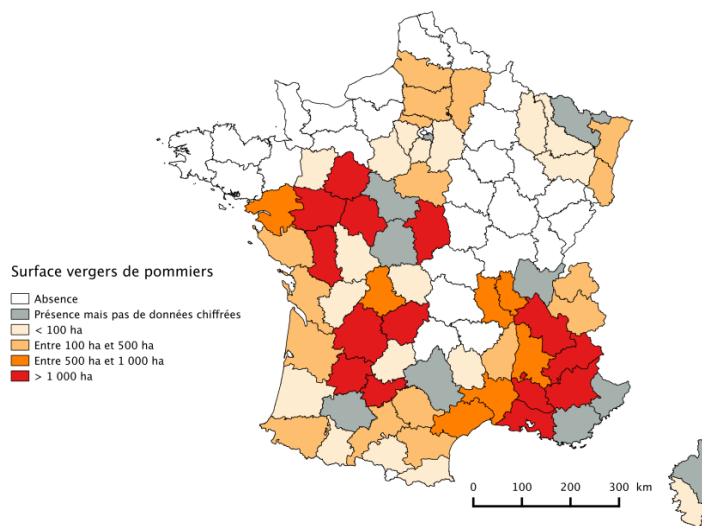
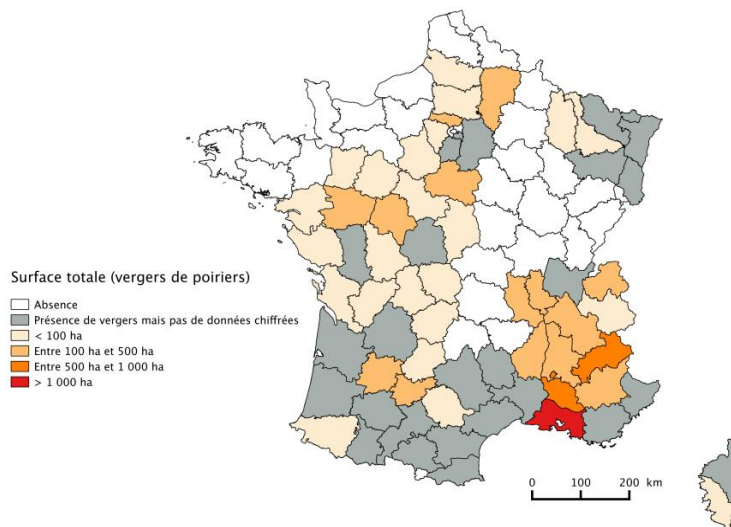
- Introduction rappelant la problématique, les enjeux et l'état de l'art
- Les approches scientifiques et techniques utilisées
- Résultats obtenus
- Discussion et conclusion

Ce rapport scientifique se concentre uniquement sur le volet « lutte biologique par acclimatation de *Mastrus ridens* » du projet BIOCCYD puisque c'est la stratégie qui a été finalement retenue. Les résultats présentés ici sont extraits des deux rapports techniques (Borowiec *et al.* 2015 et 2016) qui ont permis l'introduction en zone confinée puis au champ de *M. ridens* ainsi que d'informations plus récentes communiquées par David Muru (Doctorant, Institut Sophia Agrobiotech). Après avoir présenté quelques rappels concernant *Cydia pomonella*, nous résumerons les informations disponibles dans la littérature concernant *M. ridens* au démarrage du projet et présenterons ensuite le cadre de réflexion concernant le rôle de différents facteurs susceptibles d'influencer la dynamique des populations de *M. ridens*. Nous détaillerons ensuite les résultats expérimentaux obtenus sur la spécificité d'hôtes de *M. ridens*. Nous présenterons enfin quelques éléments illustrant la primo-introduction de *M. ridens* dans le Vaucluse en 2018.

a. Éléments de contexte concernant *Cydia pomonella*

Cydia pomonella appartient à la famille des Tortricidae, regroupant environ 10 000 espèces décrites dans le monde (Gilligan *et al.* 2014) et est subdivisée en 3 sous-familles : Chlidanotinae (env. 300 espèces), Olethreutinae (env. 4 400 espèces) et Tortricinae (env. 4 200 espèces ; Regier *et al.* 2012). Phytophages à l'état larvaire, de très nombreuses espèces sont connues pour être d'importants ravageurs agronomiques (Brown *et al.* 2008) mais la biologie et l'écologie de la majorité des espèces reste cependant très mal connue. *C. pomonella* appartient à la sous-famille des Olethreutinae et à la tribu des Grapholitini. Vraisemblablement originaire d'Asie Centrale (Mills 2005), ce ravageur est maintenant présent dans la plupart des zones tempérées de production de pomme, notamment l'Europe, la Chine, l'Australie, la Nouvelle-Zélande, l'Amérique du Nord et du Sud (Willett *et al.* 2009). Ce ravageur se rencontre principalement sur Rosaceae (principalement *Malus*, *Prunus*, *Pyrus*) et peut également se développer sur *Juglans* (Juglandaceae) où il occasionne des dégâts et, plus anecdotiquement sur *Castanea* (Fagaceae). Les derniers stades larvaires de *C. pomonella* tissent un cocon dans lequel les pré-pupes hiverneront avant de se nymphoser au printemps suivant (Brown *et al.* 2008; Gilligan and Epstein 2012). Autant que l'on puisse en juger, les cocons se situent essentiellement sur l'arbre et plus rarement au sol. Hormis *C. pomonella*, le genre *Cydia* est représenté en France par 31 espèces (De Jong *et al.* 2014) parmi lesquelles de nombreuses espèces se développent sur des plantes-hôtes particulières, ce qui rend *a priori* leur probabilité de rencontre avec *M. ridens* très faible.

En France, *C. pomonella* est susceptible d'être présent dans divers habitats : zones cultivées hébergeant des pommiers, poiriers et noyers ; JEVI, friches et habitats naturels. S'il est possible de cartographier plutôt précisément les bassins de productions agricoles concernées (cf. ci-dessous), il est plus difficile de cartographier la répartition et l'abondance des plantes-hôtes de *C. pomonella* dans les zones naturelles (cf. par exemple, distribution du pommier sauvage *Malus sylvestris* : <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-40755-repartition>) ou dans certaines zones anthropisées (jardins privés, espaces verts ou friches).



Répartition des principaux bassins de production (vergers de poiriers, vergers de pommiers, vergers de noyers) en France.

Source : Voir le site du MAAF (<https://stats.agriculture.gouv.fr/disar/>), rubrique « culture et production végétale », sous-rubrique « structure des vergers », données « Ver013 Utilisation des sols – Départements et régions »

b. Synthèse bibliographique concernant *M. ridens*

i. Taxonomie

La taxonomie de *Mastrus ridens* est la suivante : Insecta / Hymenoptera / Ichneumonidae / Cryptinae / *Mastrus ridens* (Horstmann 2009).

Appartenant à la sous famille des Cryptinae (la plus vaste en nombre d'espèces parmi les Ichneumonidae), le genre *Mastrus* comprend 50 espèces décrites, dont environ 30 sont distribuées dans la région Paléarctique (Yu, van Achterberg C. et al. 2005). **L'espèce *M. ridens* a été initialement confondue avec *Mastrus ridibundus*. Suite aux travaux de Horstmann (2009), les 2 espèces ont été clairement différenciées sur la base de caractères morphologiques. Elles présentent *a posteriori* des spectres d'hôtes contrastées (Charles and Dugdale 2011).**

Comme la plupart des insectes parasitoïdes, les stades pré-imaginaux de *M. ridens* ne présentent pas de caractères morphologiques distinctifs. L'adulte mesure environ 5mm, d'allure sombre, sans caractère distinctif évident. Les femelles sont légèrement plus grandes que les mâles et présentent un ovipositeur externe visible (Charles and Dugdale, 2011). Les caractères morphologiques permettant de distinguer *M. ridens* d'autres espèces du genre *Mastrus* sont décrits dans Horstmann (2009). Leur utilisation relève toutefois plutôt d'un travail de spécialiste.

iv. Distribution géographique

***M. ridens* semble originaire de l'Asie Centrale, en particulier le Sud du Kazakhstan et le Nord-Ouest de la Chine (Horstmann 2009; Charles and Dugdale 2011).** Il a été ensuite introduit délibérément à des fins de lutte biologique en Californie en 1998, puis de la Californie à la côte nord-ouest des USA, en Argentine en 2003 puis au Chili en 2006 (Devotto et al. 2010). Une souche du Kazakhstan a ensuite été importée via l'Argentine et introduite dans l'environnement en Nouvelle-Zélande ces dernières années. Dans tous les cas, cette introduction s'est traduite par l'établissement pérenne de l'espèce, son aire de répartition couvrant désormais quatre continents (Asie, Amérique du Nord, Amérique du Sud, Océanie).

v. Biologie

***M. ridens* est un ectoparasitoïde idiobionte (= avec une interaction limitée dans le temps avec son hôte vivant) et grégaire (plusieurs parasitoïdes peuvent se développer sur un même hôte).** La femelle parasitoïde pond ses œufs sur la cuticule du dernier stade larvaire ou sur les pré-pupes (Charles and Dugdale 2011). Des comportements d'hyperparasitisme ont été décrits au sein du genre *Mastrus* mais pas chez *M. ridens* (Hennessey et al. 1995; Charles and Dugdale 2011). *M. ridens* est également décrit comme une espèce synovigénique (= avec une maturation principale de ses œufs durant la phase adulte) ne pratiquant pas le « host-feeding » (alimentation sur l'hôte).

Dans son aire native, *M. ridens* est uniquement décrit comme associé à *Cydia pomonella* (cf. ci-dessous). Dans les zones où *M. ridens* a été introduit, aucun impact sur des espèces non-cibles n'a été documenté. Plusieurs tests de spécificité ont été menés indépendamment ((Hennessey et al. 1995; Charles and Dugdale 2011) cité par (Anonymous 2013), (Butcher 2011), (Charles et al. 2013)) et l'ensemble de ces résultats montre une spécificité d'hôtes

c. Utilisation de *M. ridens* en lutte biologique

i. Lutte biologique par acclimatation

L'utilisation principale attendue est une lutte biologique par acclimatation visant à l'installation pérenne de *M. ridens*, sa dispersion progressive et le contrôle durable de la cible. Le niveau de régulation attendu est évidemment difficilement prévisible mais Mills (2005) a observé, dans l'aire native, des taux de parasitisme supérieurs à 40% et, en Californie, des taux de parasitisme sur cocons hivernants pouvant atteindre 70%. Les premières introductions de *M. ridens* ont été réalisées aux Etats-Unis en 1995 à la suite de prospections menées au Kazakhstan (Kuhlmann and Mills 1999) et ont donné lieu à plusieurs articles concernant la biologie de *M. ridens* (Bezemer and Mills 2001; Bezemer and Mills 2003; Bezemer *et al.* 2005; Hougardy *et al.* 2005; Hougardy and Mills 2006; Hougardy and Mills 2007; Jumeau *et al.* 2005). Sur des aspects « terrain », plus de 300 000 *M. ridens* ont été introduits entre 1995 et 2000 sur 130 sites de Californie (vergers de pommier, poirier et noyer). Sur ce dispositif, et sachant que les échantillonnages post-lâchers n'ont pas pu être réalisés sur tous les sites, la proportion de vergers avec des recaptures de *M. ridens* varie, selon les années, de 43% (en 1998) à 100% (en 1996 et 1999), tandis que le taux maximal de parasitisme observé est de 56% (Mills *et al.* 1999; Mills 2007). Les données acquises en Argentine sont similaires avec environ 180 000 *M. ridens* introduits sur 58 sites (province de Mendoza) entre 2005 et 2009 (vergers de pommier, poirier, noyer et cognassier) et des suivis post-lâchers indiquant un taux d'établissement de 47% et un taux de parasitisme moyen de 10% pouvant aller jusqu'à 45% (Tortosa *et al.* 2014). Au Chili, très peu de données sont encore disponibles concernant les premières introductions réalisées à partir de 2006 si ce n'est que *M. ridens* s'est établi dans la région d'Aisen (Chile Chico) à la suite de l'introduction d'environ 3 000 individus sur une quinzaine de sites (T. Zaviedo, comm. pers.). Aucune donnée n'est cependant disponible concernant les taux d'établissement de l'auxiliaire. En Nouvelle-Zélande, les campagnes d'introduction ont démarré en 2013 dans différentes régions de l'île du Nord (Hawke's Bay, Wairarapa, Gisborne, Waikato, Auckland) et de l'île du Sud (Nelson, Central Otago). En 2015, 8 000 *M. ridens* ont été introduits. En Australie, suite à la validation du dossier de demande d'introduction déposé en 2013 (Anonymous 2013), les introductions de *M. ridens* ont démarré en 2015. A ce jour, il n'y a pas encore de données disponibles concernant l'établissement de *M. ridens* dans ce pays.

ii. Lutte biologique par augmentation

Sous réserves d'intérêt, de faisabilité et de rentabilité suffisantes, des lâchers augmentatifs de *M. ridens* pourraient être envisagés à des moments-clés de la dynamique saisonnière ou dans des environnements particuliers (ex : vergers sous filets).

d. Réflexions sur les facteurs susceptibles d'influencer la dynamique de *M. ridens*

i. Facteurs intrinsèques

Différents facteurs intrinsèques sont connus pour affecter l'établissement des petites populations introduites (voir Fauvergue *et al.* 2012 pour une revue). Une trop faible « pression de propagule » (Simberloff 2009) terme qui regroupe deux composantes - la taille de propagule (le nombre d'individus introduits) et le nombre de propagule (le nombre d'évènements d'introduction) - peut entraîner l'extinction locale des populations ou des difficultés d'expansion de ces populations (Fauvergue *et al.* 2012; Roques *et al.* 2012). En particulier, la difficulté à trouver des partenaires sexuels suite au très petit nombre d'individus fondateurs peut entraîner une chute de la croissance des populations et une difficulté de ces populations à s'établir (Hopper and Roush 1993; Grevstad 1999). Au niveau génétique, les goulots d'étranglement subis par les petites populations introduites

augmentent la dérive génétique et peuvent provoquer un échec de leur établissement en diminuant les capacités d'adaptation. Une autre conséquence du faible nombre d'individus fondateurs peut être la dépression de consanguinité et la fixation d'allèles délétères (Fauvergue *et al.* 2012). Une forme originale de cette dépression de consanguinité est celle qui concerne le mode de détermination du sexe appelé « sl-CSD » pour « single locus - Complementary Sex Determination »). Chez les espèces qui pratiquent le sl-CSD, les individus diploïdes et hétérozygotes au locus CSD se développent en femelles tandis que ceux qui sont diploïdes et homozygotes au locus CSD donnent naissance à des mâles généralement non-viables ou stériles (Vayssade *et al.* 2014). Des analyses récentes effectuées chez *M. ridens* montrent un déterminisme du sexe de type CSD chez cette espèce (Retamal *et al.* 2016). Dans de tels cas, la diversité allélique au locus unique qui détermine le sexe peut conduire les populations ayant subi un goulot d'étranglement démographique dans un vortex d'extinction. Le scénario attendu est : diminution d'effectif → baisse de variabilité génétique → augmentation de la proportion d'individus homozygotes se développant en mâles diploïdes non-viables ou stériles (aux dépens des femelles) → diminution du taux d'accroissement → diminution d'effectif → etc. → extinction. Il s'agit du « diploid male vortex ». **Malgré l'importance de ce scénario pour les introductions de parasitoïdes, souvent contraintes par de faibles effectifs, le risque de « vortex d'extinction » n'a jamais été évalué dans le cadre de la lutte biologique. Dans ce contexte, la primo-introduction de *M. ridens* en France permettra d'aborder les rétroactions démographie-génétique en populations introduites, et de tester la réalité du « diploid male vortex » sur le terrain.**

ii. Facteurs climatiques

Bien que le Kazakhstan (origine des souches de *M. ridens* disponibles) connaisse en moyenne un climat continental (hivers rigoureux et étés chauds), les zones de vergers de pommier où a été retrouvé *M. ridens* (région d'Almaty) se situent à l'extrême Sud-Est du pays et sont donc plus « tempérées » avec des températures moyennes de l'ordre de -5°C en hiver et de 22°C en été (source : Internet). Dans les zones où il a été introduit intentionnellement, l'établissement de *M. ridens* est avéré dans des régions géographiques présentant des conditions climatiques variées: climat tempéré en Argentine (province de Mendoza), au Chili (région de Chile Chico) et en Nouvelle-Zélande ; climat méditerranéen en Californie (Kottek *et al.* 2006). Au vu de ces résultats, nous pensons que la France (climats tempéré à méditerranéen) présente une adéquation climatique suffisante pour permettre l'établissement de *M. ridens*. Evidemment, il ne peut être exclu que des phénomènes météorologiques exceptionnels (sécheresse, gelées intenses, etc.) se produisent. Toutefois, compte tenu de la dispersion attendue de *M. ridens* en France (cf. § 3.2), il est peu probable que cette stochasticité environnementale remette en cause l'établissement global de l'auxiliaire à l'échelle du pays. Concernant la résistance au froid, les températures de Décembre à Février à Almaty (Kazakhstan) suggèrent que *M. ridens* possède des capacités d'overwintering, ce qui est d'ailleurs suggéré par Tortosa *et al.* (2014) qui indiquent qu'en Argentine, *M. ridens* passe l'hiver à l'état de pré-pupe.

iii. Facteurs biotiques

▪ *Cydia pomonella*

Compte tenu de la spécificité de *M. ridens*, sa démographie sur le terrain est probablement largement conditionnée par celle de *Cydia pomonella*, elle-même conditionnée par les conditions environnementales locales. Selon nos estimations, au moins deux générations / an de *M. ridens* sont attendues. A notre connaissance, aucune étude ne documente le taux d'accroissement inter-annuel des populations de *M. ridens* dans des conditions similaires à celles rencontrées en France.

La biologie de *Mastrus ridens* (alors encore décrit sous le nom de *M. ridibundus*) a été abondamment étudiée à l'occasion de son évaluation aux USA (Bezemer and Mills 2001; Bezemer and Mills 2003;

Bezemer *et al.* 2005; Hougardy *et al.* 2005; Hougardy and Mills 2006; Hougardy and Mills 2007). Il ressort notamment de ces études l'importance de la disponibilité en hôtes sur le taux de grégarisme, l'activité de recherche de l'hôte et sa dispersion au champ (de 2 à 80 m²/h).

- Ennemis naturels

Aucune donnée ne suggère l'existence de freins à l'établissement de *M. ridens* liés à la présence d'antagonistes (parasitoïdes compétiteurs, hyperparasitoïdes, autres) et, ce, malgré la présence sur *C. pomonella* de cortèges diversifiés d'hyménoptères parasitoïdes indigènes dans les pays où l'auxiliaire a été introduit (Mills 2005). Dans la zone d'origine de *M. ridens*, le cortège de parasitoïdes associés à *C. pomonella* est représenté principalement par *Ascogaster quadridentata* Wesmæl, *Bassus rufipes* (Nees) (Braconidae), *Liotryphon caudatus* (Ratzeburg) et *Pristomerus vulnerator* (Panzer) (Ichneumonidae) (Kuhlmann and Mills 1999). Tous ces parasitoïdes sont également présents en France (De Jong *et al.* 2014; Maalouly *et al.* 2015) (cf. § 3.5). Le risque que ces espèces puissent empêcher l'établissement de *M. ridens* est donc considéré comme faible.

Concernant les hyperparasitoïdes connus pour se développer sur *M. ridens* et donc susceptibles de limiter son établissement, les deux espèces signalées pour être associées au cortège d'hyménoptères parasitoïdes de *C. pomonella* au Kazakhstan sont *Dibrachys microgastri* (Bouché) (= *cavus* (Walker)) (Pteromalidae) et *Perilampus tristis* Mayr (Perilampidae) (Mills 2007). Ces deux espèces, très polyphages et capables de se développer comme parasitoïde primaire ou comme hyperparasitoïde (Noyes 2015), sont également présentes en France (De Jong *et al.* 2014). Hormis *D. microgastri*, les autres hyperparasitoïdes signalés pour se développer au dépend d'espèces du genre *Mastrus* (cf. § 3.6) sont en France : *Pediobius crassicornis* Thomson (Eulophidae) et *Eurytoma verticillata* Fabricius (Eurytomidae) (Noyes 2015). Comme *D. microgastri*, ces deux dernières espèces sont très polyphages et ne sont pas des hyperparasitoïdes obligatoires. Bien qu'il soit possible que ces espèces (et peut-être d'autres) puissent s'attaquer à *M. ridens*, le risque qu'elles impactent suffisamment les populations de l'auxiliaire pour remettre en cause son établissement en France est considéré comme négligeable.

Evidemment, un grand nombre d'autres espèces (micro-organismes ; macro-organismes vertébrés ou invertébrés) sont susceptibles d'être des antagonistes plus ou moins occasionnels de *M. ridens*. Aucun d'entre eux en particulier, ni même leur association ne nous semblent capables de limiter l'établissement de *M. ridens*.

- Plantes hôtes de *C. pomonella*

Dans son aire d'origine comme dans les pays où *M. ridens* a été introduit, il n'est pas fait mention d'un éventuel effet de la plante-hôte (en particulier, les principales espèces cultivées : cognassier, noyer, poirier, pommier) sur la dynamique locale de l'auxiliaire (Mills *et al.* 1999; Mills 2007; Tortosa *et al.* 2014).

iv. Facteurs environnementaux

- Itinéraires culturels

Dans les parcelles cultivées, l'itinéraire technique pourrait évidemment limiter l'établissement et/ou la dispersion de *M. ridens*, soit directement (ex : impacts directs de pesticides), soit indirectement (diminution des populations de *C. pomonella*).

- Structure du paysage

La structuration spatiale des paysages agricoles est connue pour influencer la distribution et l'abondance des populations de ravageurs de culture et des ennemis naturels endémiques. En revanche, l'impact de cette structure sur la dynamique d'établissement et d'expansion d'un organisme exotique introduit, comme un auxiliaire de lutte biologique, reste encore peu exploré. Certains résultats théoriques récents suggèrent que les effets de la structure du paysage sont qualitativement différents dans le cas d'une population récemment introduite par rapport à une population à l'équilibre démographique. Cependant, peu de données empiriques sont actuellement

disponibles pour valider ces prédictions. **Dans le cadre des introductions planifiées de *M. ridens*, le projet de thèse de David Muru (Institut Sophia-Agrobiotech) vise à étudier, en couplant différentes échelles spatiales et temporelles et différents outils de modélisation et d'analyse spatiale, comment la structure du paysage influence les différentes étapes du processus d'installation d'une espèce exotique.** Les objectifs seront plus précisément (i) de mettre en évidence les facteurs démographiques, géographiques ou écologiques les plus déterminants à chaque étape, et (ii) de développer des modèles prédictifs permettant d'identifier les configurations de paysage favorables au contrôle biologique et de proposer des stratégies d'optimisation de déploiement des auxiliaires introduits.

e. Tests de spécificités menés dans le cadre de BIOCCYD

i. Sélection des espèces à tester

D'après les recommandations de Kuhlmann *et al.* (2006), 3 principaux critères sont à prendre en considération pour l'établissement de liste d'espèces non-cibles à tester lors de l'évaluation de la spécificité d'un agent de lutte biologique : (i) les similarités écologiques avec l'espèce cible, (ii) la proximité phylogénétique ou taxonomique par rapport à l'espèce cible et (iii) des considérations de « sauvegarde » (impacts potentiels sur espèces protégées ou d'intérêt économique notamment). Certaines difficultés « logistiques » telles que la disponibilité des espèces ou la difficulté d'élevage sont également prises en considération pour affiner la liste des espèces à tester. Concernant le choix des espèces à tester, nous nous sommes focalisés sur des espèces présentes en France (Corse incluse) où la famille des Tortricidae est représentée par 587 espèces réparties dans les 3 sous-familles connues : Chlidanotinae (2 genres, 4 espèces), Olethreutinae (56 genres et 358 espèces) et Tortricinae (50 genres et 225 espèces) (De Jong *et al.* 2014). Environ un tiers des espèces d'Olethreutinae appartiennent à la tribu des Grapholitini qui regroupe 8 genres : *Corticivora* (1 espèce), *Cydia* (32 espèces), *Dichrorampha* (31 espèces), *Grapholita* (22 espèces), *Lathronympha* (1 espèce), *Pammene* (29 espèces), *Selania* (2 espèces) et *Strophedra* (2 espèces) (De Jong *et al.* 2014). A notre connaissance, aucune espèce de Tortricidae ne présente de statut de protection et/ou d'intérêt patrimonial particuliers.

Parmi toutes ces espèces de Tortricidae, 105 appartenant à 44 genres sont signalées pour se développer sur Rosaceae (Brown *et al.* 2008; Gilligan and Epstein 2012), dont 10 espèces (genres *Cydia*, *Grapholita* et *Pammene*) appartiennent à la tribu des Grapholitini.

Compte-tenu du nombre important d'espèces considérées ici et des difficultés liées à leur disponibilité et à leur élevage, nous nous sommes intéressés aux genres *Cydia*, *Eupoecilia*, *Grapholita*, *Lobesia* et *Pammene*. Ces genres présentent des affinités phylogénétiques variables avec *C. pomonella*, avec des plus proches aux plus éloignées :

(i) les espèces du genre *Cydia* : *Cydia nigricana* (Fabricius) et *Cydia splendana* (Hübner)

(ii) les espèces des autres genres appartenant à la tribu des Grapholitini : *Grapholita molesta* (Busck), *Pammene* sp. (*aurita* Razowski ou *regiana* Zeller)

(iii) les espèces appartenant à d'autres tribus de la sous-famille des Olethreutinae : *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller)

(iv) les espèces appartenant à la sous-famille des Tortricinae : *Eupoecilia ambiguella* (Hübner).

En complément, nous avons également sélectionné des représentants de deux vastes familles de Lépidoptères (« out-group ») susceptibles d'être rencontrés par *M. ridens* : *Agrotis ipsilon* (Hufnagel), *Ephestia kuehniella* Zeller, *Galleria mellonella* (L.), *Mamestra brassicae* (L.).

→ Au total, la spécificité de *M. ridens* a donc été testée vis-à-vis de 10 espèces non-cibles (Tableau 5).

ii. Méthodologie

▪ *Origine du matériel biologique*

Les insectes utilisés pour les tests proviennent soit de collectes dans la nature, soit d'élevages disponibles dans d'autres laboratoires. Les larves de *C. splendana* ont été récupérées de châtaignes « véreuses » en octobre 2015 tandis que celles de *C. nigricana* ont été récoltées sur *Lathyrus* en septembre 2015. Les larves de *Pammene* ont été collectées en Août 2015 sur des graines d'érable (*Acer* sp.). Les larves de ces 3 espèces ont été déposées individuellement sur un petit carré de papier absorbant afin qu'elles y tissent leur cocon. Une semaine après, elles ont été placées au froid (7°C). Les larves de *G. molesta* sont issues d'un élevage maintenu dans l'unité PSH de l'INRA PACA (Avignon) tandis que celles d'*E. ambiguella* proviennent d'un élevage disponible à l'UMR SAVE de l'INRA Bordeaux. Elles ont été récupérées sous forme de cocons diapausants puis stockées au froid dans notre quarantaine (7°C). Les larves âgées de *L. botrana* et d'*E. kuehniella* ont été récupérées auprès de la société Biotop (Valbonne) quelques jours avant les tests. Les larves de *G. mellonella* sont issus d'un élevage disponible à l'UMR DGIMI de l'INRA Montpellier et ont été maintenues dans notre quarantaine jusqu'à obtention du stade favorable pour les tests. *M. brassicae* et *A. ipsilon* ont été récupérées sous forme d'ooïdes auprès de l'INRA Versailles (UMR IIES Paris) et ont été maintenues dans notre quarantaine jusqu'à obtention du stade favorable.

Synthèse des résultats de spécificité effectués vis-à-vis de *M. ridens*

Position systématique et proximité phylogénétique des espèces testées par rapport à *Cydia pomonella* (d'après Regier *et al.*, 2012, 2013 ; Oboyski, 2011)

Spèce testée	Genre présent en France*	Espèce présente en France*	Résultat du test	Référence ***	Plantes-hôtes principales (genres)****
<i>Cydia pomonella</i> (L.)	oui	oui	Parasitisme	1; 2; 3; 4	Rosaceae (<i>Malus</i> , <i>Pyrus</i> , <i>Prunus</i> , <i>Cydonia</i>), <i>Juglans</i>
<i>Cydia splendana</i> (Hübner)	oui	oui	Faible parasitisme	4	Fagaceae (<i>Castanea</i> , <i>Quercus</i> , <i>Fagus</i>), <i>Juglans</i>
<i>Cydia nigricana</i> (Fabricius)	oui	oui	Parasitisme mais développement "anormal"	4	Fabaceae (<i>Lathyrus</i> , <i>Vicia</i>)
<i>Cydia prunivora</i> (Walsh)	oui	non	Développement "anormal"	1	Rosaceae (<i>Prunus</i> , <i>Malus</i> , <i>Pyrus</i> , <i>Cydonia</i>)
<i>Cydia succedana</i> (Denis & Schiffmüller)	oui	oui	Faible parasitisme ; Descendance anormale	2	Fabaceae (<i>Cytisus</i> , <i>Ulex</i>)
<i>Grapholita molesta</i> (Busck)	oui	oui	Pas ou faible parasitisme	2 ; 4	Rosaceae (<i>Prunus</i> , <i>Pyrus</i> , <i>Malus</i> , <i>Cydonia</i>)
<i>Pammene</i> sp. (<i>aurita</i> ou <i>regiana</i>)	oui	oui**	Pas de parasitisme	4	Sapindaceae (<i>Acer</i>)
<i>Cryptophlebia obovata</i> (Lower)	non	non	Pas de parasitisme	3	Fabaceae, Sapindaceae, Rutaceae
<i>Lobesia botrana</i> (Denis & Schiffmüller)	oui	oui	Pas de parasitisme	4	Vitaceae (<i>Vitis</i>), Rosaceae (<i>Prunus</i>), Asteraceae
<i>Argyroplaca chlorosaris</i> Meyrick	oui	non	Faible parasitisme ; Descendance anormale	2	Myrtaceae
<i>Archips rosana</i> (L.)	oui	oui	Pas de parasitisme	1	Rosaceae (<i>Prunus</i> , <i>Malus</i> , <i>Rubus</i>) et autres
<i>Argyrotaenia franciscana</i> (Walsingham) [= <i>alcitana</i> (Fernald)]	oui	non	Pas de parasitisme	1	Asteraceae, Rutaceae (<i>Citrus</i>), Rosaceae
<i>Charistaneura rosaceana</i> (Harris)	oui	non	Pas de parasitisme	1	Rosaceae, Aceraceae
<i>Ctenopseustis obliquana</i> (Walker)	non	-	Faible parasitisme ; Descendance anormale	2	Rosaceae + autres
<i>Pandemis chondrillana</i> (Herrich-Schäffer)	oui	oui	Pas de parasitisme	1	Rosaceae (<i>Malus</i> , <i>Prunus</i>)
<i>Planotatrix octo Dugdale</i>	non	-	Faible parasitisme ; Descendance anormale	2	Actinidiaceae, Rosaceae
<i>Eupoecilia ambigua</i> (Hübner)	oui	oui	Pas de parasitisme	4	Vitaceae, Caprifoliaceae
<i>Anarsia lineatella</i> Zeller	oui	oui	Pas de parasitisme	1	Rosaceae (<i>Prunus</i> , <i>Malus</i> , <i>Pyrus</i>)
<i>Anania hortulata</i> (L.) [= <i>Eurhyppara urticara</i> (L.)]	oui	oui	Pas de parasitisme	1	Campanulaceae
<i>Anyelalis transitella</i> (Walker)	oui	non	Pas de parasitisme	1	<i>Prunus</i> , <i>Pistachia</i> , <i>Juglans</i>
<i>Cadra cautella</i> (Walker)	oui	oui	Pas de parasitisme	1	Fruits séchés ; Dénrées stockées
<i>Ephesia kuehniella</i> Zeller	oui	oui	Pas de parasitisme	1; 4	Dénrées stockées
<i>Galleria mellonella</i> (L.)	oui	oui	Pas de parasitisme	4	Cire de ruche
<i>Mamestra brassicae</i> (L.)	oui	oui	Pas de parasitisme	4	Brassicaceae
<i>Agrotis ypsilon</i> (Hufnagel)	oui	oui	Pas de parasitisme	4	Asteraceae, Brassicaceae, Poaceae, etc.
<i>Yponomeuta malinellus</i> Zeller	oui	oui	Pas de parasitisme	1	Rosaceae (<i>Prunus</i> , <i>Malus</i> , <i>Crataegus</i>)

* d'après le site internet Fauna Europea (www.faunaeur.org ; De Jong *et al.*, 2014)

** espèce collectée sur grâmes d'érable en Août 2015 en France

***1. Hennessey *et al.*, 1995 ; 2. Charles *et al.*, 2013 ; 3. Anonymous, 2013 ; 4. Mura *et al.*, 2016

**** d'après Brown *et al.*, 2008; CABI, 2016; Charles & Dugdale, 2011; Eppo, 2016; Gilligan & Epstein, 2012; Kuenen & Siegel, 2010

iii. Test réalisé

Pour toutes ces espèces, les stades utilisés pour les tests correspondent au stade recherché par *M. ridens*, c'est-à-dire le stade pré-pupal.

Pour les tests, 20 femelles de *M. ridens*, accouplées, naïves et âgées de 7-13 jours, ont été testées sur chacune des 10 espèces d'hôtes non-cibles ainsi que sur *C. pomonella*. Pour cela, chaque femelle de *M. ridens* s'est vue mise en présence d'un cocon (stade pré-pupal) à l'intérieur d'une boîte de pétri placée dans une pièce climatique (Température : $23\pm 1^\circ\text{C}$; Photopériode : L-D =16h-8h ; Humidité non contrôlée). Au bout de 24h, la femelle de *M. ridens* était retirée et le développement des larves était suivi jusqu'à émergence des adultes papillons ou parasitoïdes. Tous les parasitoïdes émergents ont été conservés au congélateur (-20°C). Pour chaque espèce testée, des lots témoins, non mis en présence de *M. ridens*, ont été constitués.

Les variables mesurées sont : le nombre d'adultes de parasitoïdes et de papillons émergés, le nombre de larves parasitées (nombre d'œufs pondus sur hôte).

Le taux de parasitisme calculé est défini comme le nombre d'hôte ayant supporté le développement d'au moins une larve de *M. ridens* divisé par le total d'hôtes mis en présence de *M. ridens*.

iv. Résultats

Les résultats présentés sur la Figure 6 suggèrent que les critères d'acceptation d'hôtes de *M. ridens* sont spécifiques. En effet, malgré des conditions de non-choix et un espace restreint facilitant le contact entre le parasitoïde et son hôte potentiel, *M. ridens* ne s'est *a posteriori* pas intéressé à 8 des 10 espèces non-cibles testées : *Pammene* sp., *G. molesta*, *L. botrana*, *E. ambiguella*, *E. kuhniella*, *G. mellonella*, *M. brassicae* et *A. epsilon*.

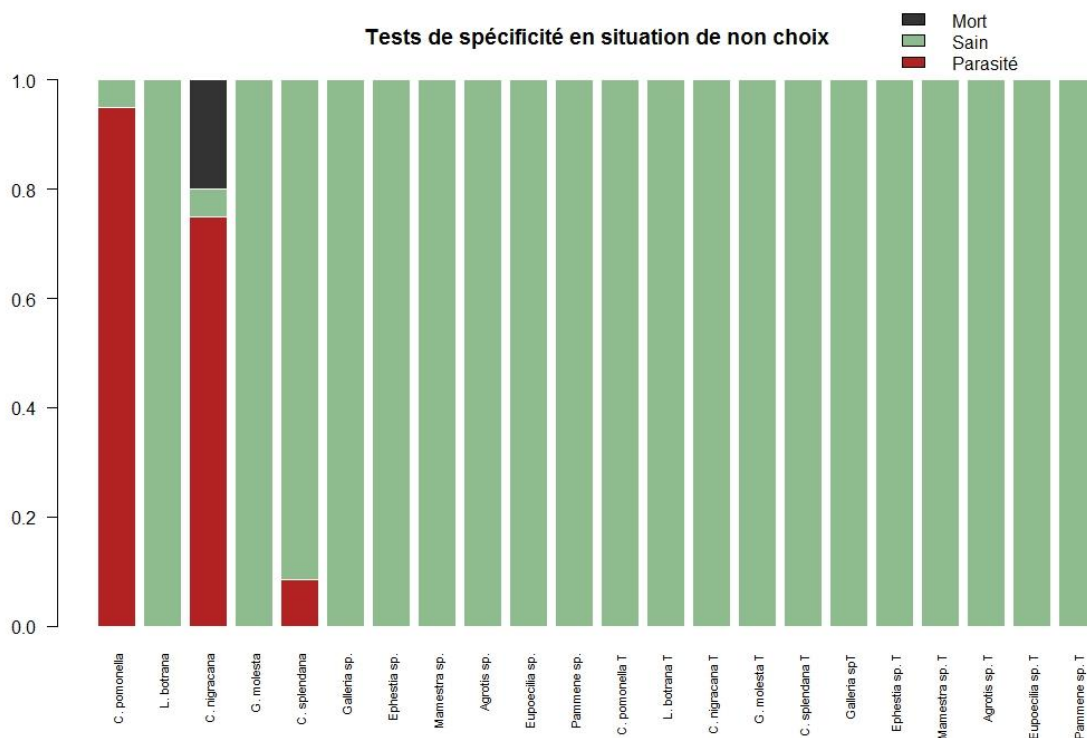
En effet, dans chacun de ces cas :

- Aucun signe de paralysie voire de mortalité liée à l'injection de venin par *M. ridens* lors d'oviposition réussie ou avortée n'a été observé.

- A l'exception de *Pammene* sp., les hôtes mis en présence de *M. ridens* n'ont donné aucune émergence de *M. ridens* et toutes les larves, saines, ont pu poursuivre normalement leur développement. Concernant *Pammene* sp., le développement complet des larves a échoué qu'elles aient été mises en présence de *M. ridens* ou non (témoins), indiquant que les conditions d'élevage n'étaient probablement pas adaptées à cette espèce.

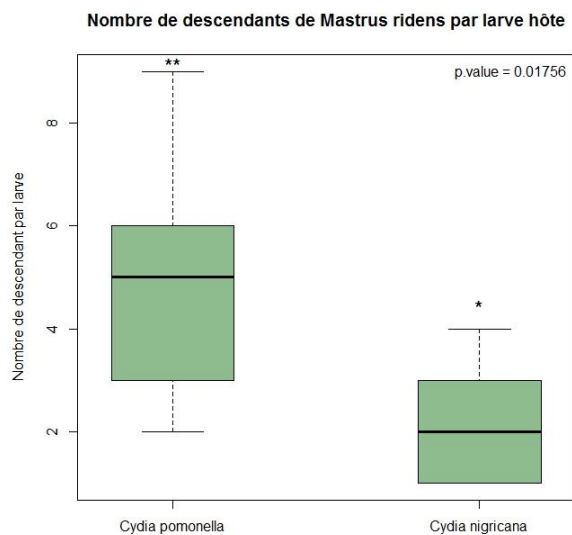
Parmi ces espèces, on note la présence de représentants des Grapholitini (*G. molesta*, *Pammene* sp.), très proches au niveau phylogénétique de *C. pomonella*.

Les 2 espèces ayant permis l'émergence de *M. ridens* appartiennent au genre *Cydia* (*C. nigricana* et *C. splendana*) mais présentent des résultats très contrastés selon l'espèce considérée et toujours significativement différents de ceux observés sur *C. pomonella* (soit en termes de taux de parasitisme soit en termes de nombres d'individus émergés par larve hôte). Pour *C. splendana*, le taux de parasitisme observé est de 10% de larves parasitées tandis que pour *C. nigricana*, on observe 75% de larves parasitées (cf. Figure 6). Chez cette deuxième espèce, on observe toutefois 15% de larves mortes. Cette mortalité, non constatée sur les lots témoins, suggère que ces larves ont été attaquées par *M. ridens* mais que le développement de ce dernier n'a pas pu se faire. De la même manière, le nombre moyen de descendants par larve parasitée diffère selon l'espèce considérée (cf. Figure 7) et sont toujours significativement plus importants sur l'hôte cible (moyenne de 5 descendants) que sur *C. nigricana* (moyenne de 2 descendants) et *C. splendana* (moyenne de 1,5 descendants).



Résultats des tests de spécificité effectués en situation de non-choix.

La catégorie « parasité » fait état d'une larve parasitée ayant supporté le développement d'au moins un adulte de *Mastrus ridens*. La catégorie « Sain » concerne les hôtes non-cibles ayant poursuivi leur développement normalement. La catégorie « mort » concerne les hôtes retrouvés morts après une ou plusieurs oviposition(s) mais qui n'ont pas supporté le venin injecté et/ou le développement de *M. ridens*.



Nombre de descendants de *M. ridens* obtenus sur *C. pomonella* (n=19) et *C. nigricana* (n=15).

Le test statistique utilisé est un test de comparaison de moyennes (test de Student) à l'aide du logiciel R. Seulement 2 individus de *C. splendana* ont supporté le développement de *M. ridens* c'est pourquoi ils n'ont pas été inclus dans le test statistique.

v. Synthèse concernant la spécificité de *M. ridens*

Les tests réalisés dans le cadre de ce dossier ont permis d'accroître le nombre d'espèces hôtes testées (+8). Au total, la spécificité de *M. ridens* a donc été testée sur 25 espèces de Lépidoptères présentant des similarités phylogénétiques et taxonomiques variées par rapport à *C. pomonella*.

→ Ces tests montrent qu'à ce jour, aucune espèce n'appartenant pas à la famille des Tortricidae n'a été parasitée par *M. ridens* en conditions contraintes (non-choix, espace restreint, conditions de laboratoire).

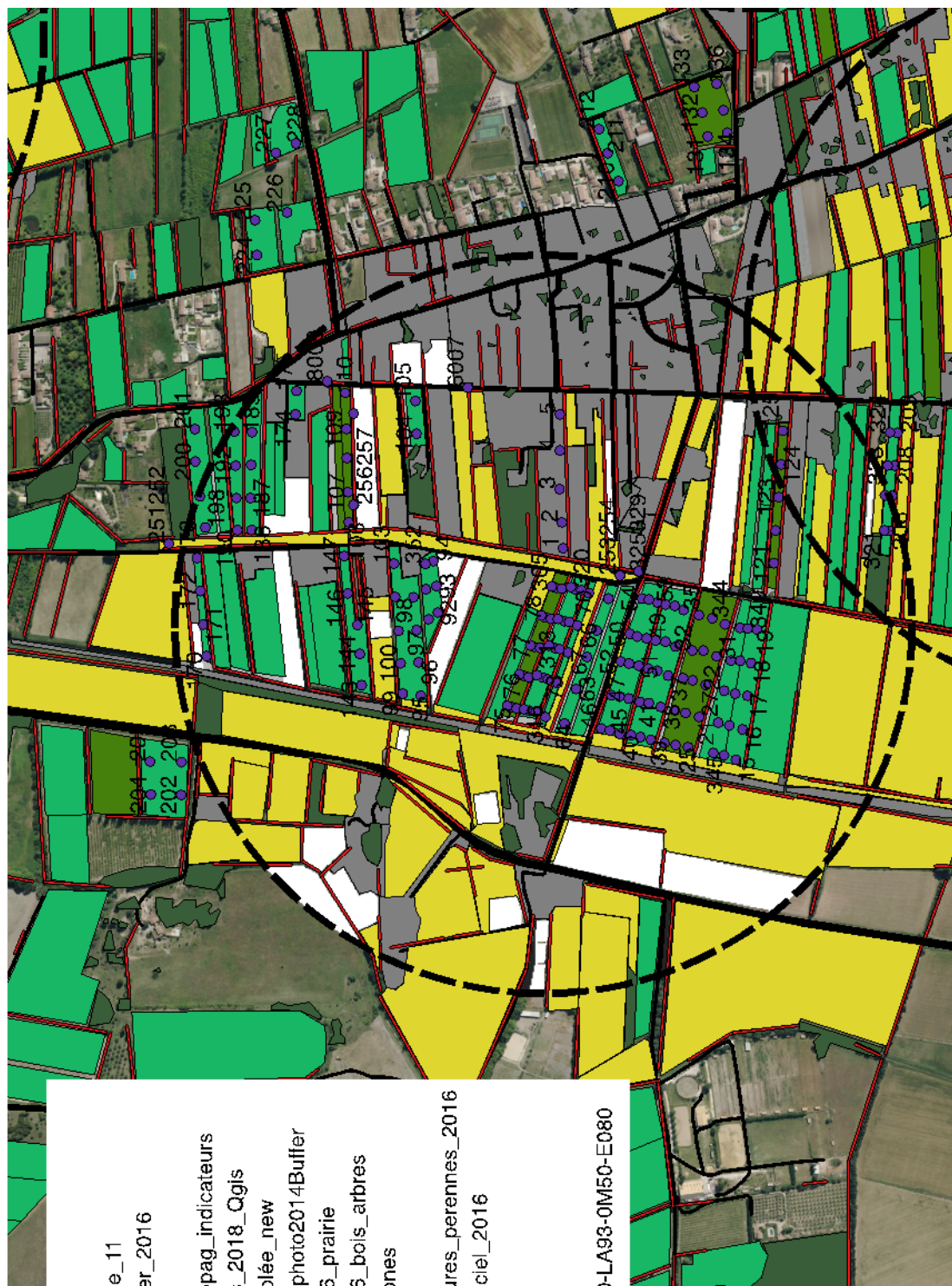
→ Au sein des Tortricidae, les tests effectués ont montré des ovipositions par *M. ridens* sur quelques espèces n'appartenant pas au genre *Cydia* (Hennessey *et al.* 1995 ; Charles *et al.* 2013). Cependant, dans chacun de ces cas, soit il n'y avait pas de parasitisme réussi, soit le développement était qualifié d'anormal sur la base du nombre, de la taille, ou de la longévité des descendants.

→ Seules les espèces de Tortricidae appartenant au genre *Cydia* ont fait l'objet d'un parasitisme réussi par *M. ridens* mais avec un succès plus faible que sur l'hôte-cible (nombre et taille des descendants).

Comme mentionné précédemment, le genre *Cydia* est représenté en France par 32 espèces (De Jong *et al.* 2014) parmi lesquelles de nombreuses espèces (par exemple, *C. nigricana* qui permet un développement relatif de certains *M. ridens*) se développent sur des plantes-hôtes particulières, ce qui rend leur probabilité de rencontre avec *M. ridens a priori* très faible.

f. Primo-introduction de *Mastrus ridens*

Suite à l'autorisation officielle délivrée en janvier 2017 pour l'évaluation au champ de *Mastrus ridens*, une primo-introduction de l'auxiliaire a été réalisée en 2018 dans le cadre de la thèse de David MURU (cf. §3.d.iv). Le site retenu en concertation avec les collègues du laboratoire PSH a été préalablement cartographié sur la base de repérages sur place et d'enquêtes auprès des propriétaires privés. Quelques milliers de *M. ridens* ont ensuite été introduits à partir de juillet 2018. Des tentatives de recapture sont actuellement en cours et seront poursuivies durant les prochaines années.



- Légende**
- Centre_parcelle_11
 - ▭ sebiopag_buffer_2016
 - ▭ Tampon
 - Parcelle_sebiopag_indicateurs
 - Suivis_vergers_2018_Qgis
 - BandePiegelsolée_new
 - ▭ sebiopaghaiesphoto2014Buffer
 - ▭ sebiopag_2016_prairie
 - ▭ sebiopag_2016_bols_arbres
 - ▭ Routes_polygones
 - ▭ VergerCible
 - ▭ sebiopag_cultures_perennes_2016
 - ▭ sebiopag_artificiel_2016
 - ▭ raster_v11v
 - ▭ 1
 - ▭ 8
- 13-2014-0850-6310-LA93-0M50-E080

Cartographie de la parcelle de lâcher de *Mastrus ridens*
 Source : David MURU, Doctorant Institut Sophia-Agrobiotech

4. CONTRIBUTION AU PLAN ECOPHYTO (ET A L'AGROECOLOGIE)

Il s'agit de discuter des sorties opérationnelles du projet (par rapport à ce qui avait été annoncé), en distinguant :

- Ce qui a été effectivement produit et transféré (ex : un outil proposé avec un guide d'utilisation et ayant fait l'objet de formation avec des utilisateurs)
- Les sorties identifiées, produites à l'état de prototypes ayant fait l'objet de discussion avec des utilisateurs potentiels
- Les sorties projetées ou envisageables en indiquant comment une finalisation pourrait intervenir
- Les connaissances, informations et/ou recommandations que des acteurs pourront exploiter, afin de contribuer au développement du biocontrôle, dans un cadre qu'on essaiera de préciser

Dans tous les cas, on suggérera comment « aller plus loin » et avec qui.

Inclure dans cette partie :

- Une réflexion plus large, sur la promotion du biocontrôle dans la/les filière(s) concernée(s) par le projet et sur les possibilités de transposer à d'autres méthodes de biocontrôle ou à d'autres situations analogues les résultats du projet.

Le projet BIOCCYD se proposait d'explorer la faisabilité de deux méthodes de lutte biologique contre le carpocapse :

- d'une part, des lâchers augmentatifs de trichogrammes
- d'autre part, l'acclimatation du parasitoïde exotique *Mastrus ridens*.

C'est au final cette deuxième option qui a été privilégiée et les recherches menées ont permis d'obtenir le feu vert réglementaire pour l'introduction effective de *M. ridens* sur le territoire national.

Une primo-introduction de *M. ridens* sur un site situé dans le Vaucluse a été réalisée en 2018.

La perspective à court terme est donc évidemment le suivi de l'établissement de *M. ridens* sur et autour du premier site de lâchers ainsi que la multiplication des sites d'introduction et de suivis. C'est cet objectif que nous poursuivons depuis 3 ans au travers des demandes répétées de soutien financier auprès de FranceAgriMer, à notre connaissance le seul « guichet » susceptible de financer une telle opération. En effet, les appels à projet CASDAR sont d'expérience peu adaptés aux partenaires INRA compte tenu des contraintes d'auto-financement. De plus, si par le passé l'ANR a pu contribuer significativement à de telles opérations (ex : projets BioInv-4I et BICORAMICS), le contexte actuel (en terme de taux de sélection notamment) rend l'éventualité très improbable. Enfin, les projets européens sont, de par leurs règles du jeu (ex : tailles des consortium, éligibilité des pays, etc) ou leur « tropisme » (réflexion sur systèmes de cultures), peu adaptés à nos objectifs et besoins.

Seulement après cette phase de déploiement de l'auxiliaire et d'évaluations locales pourra succéder une phase de quantification du service de régulation assuré par *M. ridens* pour différentes filières (*C. pomonella* impactant notamment la pomme, la poire et la noix), différents itinéraires techniques et différents contextes écologiques et climatiques. Il est à noter que l'évaluation d'un tel service pose des questions méthodologiques notables. En effet, contrairement à un produit phytosanitaire ou à un produit de biocontrôle, la notion de « témoin » n'est pas pertinente dans la mesure où l'auxiliaire est potentiellement partout dans l'environnement. De plus, l'impact de l'auxiliaire, dans le cadre d'une lutte biologique par acclimatation, se manifeste non seulement sur les populations de ravageurs en milieux cultivés mais également dans d'autres habitats (JEVI, vergers abandonnés voire habitats naturels) qui sont autant de sources de ravageurs. Enfin, les dynamiques des populations du ravageur (*C. pomonella*) comme celles de l'auxiliaire (*M. ridens*) pouvant être affectées par des variations inter-annuelles, leurs évolutions ne peuvent être appréciées que sur un temps long.

D'une façon générale, les difficultés rencontrées pour mobiliser des ressources financières complémentaires sur le volet « *Mastrus ridens* » pointent aussi les difficultés plus générales liées aux opérations de lutte biologique par acclimatation. Définie comme « l'introduction délibérée d'un auxiliaire exotique en vue de son établissement pérenne et d'un contrôle durable du ravageur ciblé », la lutte biologique par acclimatation (dite aussi lutte biologique classique) est une stratégie de contrôle qui porte des enjeux majeurs.

Le faible coût relatif par rapport à la durée du contrôle du ravageur ciblée fait indubitablement de la lutte biologique par acclimatation, en cas de réussite, la stratégie la plus rentable de toutes les méthodes de contrôle de bioagresseurs (cf. cas d'étude récent du cynips du châtaignier) ! En effet, les coûts mobilisés (quelques centaines de k€ / opération) concernent seulement les opérations de R&D, les agriculteurs bénéficiant ainsi d'un service gratuit pendant *a minima* des dizaines d'années.

Au registre des limites /risques liées à cette stratégie, on peut citer l'incertitude quant à l'établissement de l'auxiliaire exotique et au niveau effectif de régulation du ravageur ciblé. A cela peut s'ajouter également une réticence (de certains pouvoirs publics et/ou citoyens) par rapport à l'utilisation d'espèces exotiques.

Dans ce contexte, un réel développement de la R&D en lutte biologique par acclimatation impliquerait notamment :

- la professionnalisation / spécialisation d'un petit nombre d'acteurs sur cette thématique au niveau national ;
- un soutien de base aux infrastructures et équipements dédiés ;
- une concertation systématique à l'échelle européenne ;
- une priorisation à l'échelle nationale des sujets potentiels et la mise en place d'évaluation rigoureuse de type Go / No Go au terme deux premières séquences (inventaire des auxiliaires en zone native et envahies ; évaluation au laboratoire) ;
- Un soutien financier suffisant aux opérations retenues incluant notamment des suivis post-lâcher nécessaire, d'une part, à l'évaluation précise de l'efficacité du bioagresseur et, d'autre part, à l'impact de celui-ci sur les communautés indigènes.

5. Rapport financier

A COMPLETER