Projet RITA 2, porté par Bio Savane.

-

LES PARASITOÏDES OOPHAGES DES PYRALES DES CUCURBITACEAE *Diaphania* spp. PRÉSENTS EN GUYANE

Étude réalisée par la Coopérative Bio Savane
Charlotte GOURMEL
Janvier 2019

SOMMAIRE

I. LES PYRALES DES CUCURBITACEAE…… p. 4
I. 1. LES ESPÈCES…… p. 4
I. 2. LES PLANTES HÔTES…… p. 6
II. L'UTILISATION DES TRICHOGRAMMES CONTRE LES PYRALES DES CUCURBITACEAE…… p. 6
II. 1. LA BIOLOGIE DES TRICHOGRAMMES…… p. 6
II. 2. LES ÉLEVAGES ET LÂCHERS DE TRICHOGRAMMES…… p. 7
II. 2. 1. Une pratique aujourd'hui courante dans de nombreuses régions du monde…… p. 7
II. 2. 2. L'exemple de l'élevage de trichogrammes de la FREDON de la Martinique…… p. 8
II. 2. 2. a) L'élevage des hôtes…… p. 8
II. 2. 2. b) La multiplication des trichogrammes…… p. 8
II. 2. 2. c) Les lâchers inondatifs…… p. 9
II. 3. LA RÈGLEMENTATION FRANÇAISE SUR L'INTRODUCTION D'INSECTES AUXILIAIRES…… p. 10
III. LA RECHERCHE DES PARASITOÏDES DES ŒUFS DE PYRALES EN GUYANE…… p. 11
III. 1. LES COLLECTES D'ŒUFS DE PYRALES…… p. 11
III. 2. L'ÉLEVAGE DES PARASITOÏDES…… p. 12
IV. RÉSULTATS…… p. 13
VI. 1. LES PARASITOÏDES DES *Diaphania* spp. …… p. 13
VI. 2. LES PARASITOÏDES D'*Hellula phidilealis*…… p. 15
VI. 3. L'IDENTIFICATION DES PARASITOÏDES…… p. 16
VI. 3. 1. Les Trichogrammatidae…… p. 16
VI. 3. 2. Les Aphelinidae…… p. 17
V. CONCLUSION…… p. 18
REMERCIEMENTS…… p. 19
BIBLIOGRAPHIE…… p. 20

LISTE DES TABLEAUX ET PHOTOS

Tableau 1 : Données sur la biologie de deux espèces de trichogrammes obtenues en conditions de laboratoire..... p. 7

Tableau 2 : Sites des collectes d'œufs de *Diaphania*..... p. 12

Tableau 3 : Nombre d'œufs de *Diaphania* sp. collectés et de parasitoïdes émergés..... p. 13

Tableau 4 : Nombre d'œufs *d'Hellula phidilealis* collectés et de parasitoïdes émergés..... p. 16

Tableau 5 : Identification des trichogrammes parasitoïdes de *Diaphania* spp. et *Hellula phidilealis*..... p. 16

Tableau 6 : Identification des Aphelinidae parasitoïdes de *Diaphania* spp. et *Hellula phidilealis*..... p. 17

Photo 1 : Larve de *Diaphania hyalinata*..... p. 4

Photo 2 : Larve de *Diaphania nitidalis*..... p. 5

Photo 3 : Adultes des espèces *Diaphania hyalinata* et *Diaphania nitidalis*..... p. 5

Photo 4 : *Momordica charantia*..... p. 6

Photo 5 : Feuillage et fleur de *Melothria pendula*..... p. 6

Photo 6 : Oeufs de *Diaphania* sp. en amas et isolé..... p. 11

Photo 7 : Oeufs de *Diaphania* sp. parasités..... p. 11

Photo 8 : Oeufs de *Diaphania* sp. collectés sur le terrain pour alimenter les élevages..... p. 12

Photo 9 : Tube d'élevage contenant des oeufs de *Corcyra cephalonica*..... p. 12

Photo 10 : Trichogrammes obtenus par l'élevage d'œufs de *Diaphania* sp. collectés sur concombre..... p. 14

Photo 11 : Aphelinidae du morpho-type 1 obtenus par l'élevage d'œufs de *Diaphania* sp. collectés sur concombre..... p. 14

Photo 12 : Aphelinidae du morpho-type 2 obtenus par l'élevage d'œufs de *Diaphania* sp. collectés sur concombre. ..... p. 14

Photo 13 : *Cleome* sp. (Cleomaceae), plante hôte d'*Hellula phidilealis*..... p. 15

Photo 14 : Œufs d'*Hellula phidilealis* sain et parasité..... p. 15

Photo 15 : Chenille d'*Hellula phidilealis*..... p. 15

Photo 16 : *Hellula phidilealis* adulte..... p. 15

LES PARASITOÏDES OOPHAGES
DES PYRALES DES CUCURBITACEAE *Diaphania* spp.
PRÉSENTS EN GUYANE

Porteur du projet : Bio Savane.

La culture des Cucurbitaceae en Guyane est rendue difficile par la présence des pyrales du genre *Diaphania* (Lepidoptera, Crambidae). Bien que d'autres insectes soient nuisibles aux Cucurbitaceae, les pyrales sont considérées par les agriculteurs comme les ravageurs les plus problématiques.
Les méthodes de lutte chimiques ne montrant qu'une efficacité limitée, des techniques de biocontrôle ont été développées dans différentes régions d'Amérique concernées par les attaques de *Diaphania* : l'utilisation de micro-guêpes parasitoïdes des œufs de papillons est aujourd'hui une méthode maîtrisée dans plusieurs pays et reconnue pour son efficacité.
Les insectes qui parasitent naturellement les œufs des pyrales en Guyane sont inconnus. Des recherches ont donc été entreprises pour mettre en évidence ces micro-guêpes, afin d'envisager leur utilisation comme agents de contrôle biologique contre *Diaphania* spp.

I. LES PYRALES DES CUCURBITACEAE

I. 1. LES ESPÈCES

Deux espèces de pyrales des Cucurbitaceae coexistent en Guyane : *Diaphania hyalinata* et *Diaphania nitidalis*. *Diaphania indica* est connue sur le continent américain pour être facilement confondue avec *D. hyalinata*, mais la détermination de l'espèce *hyalinata* a pu être confirmée par l'envoi d'individus adultes à Steven PASSOA, entomologiste de l'USDA (United States Department of Agriculture) spécialiste des pyrales.

Chez *Diaphania hyalinata*, la chenille ne consomme que les organes végétatifs : un plant peut être partiellement défolié et ses tiges creusées. Les plants jeunes peuvent être détruits, tandis que les plants plus développés survivrent aux attaques. Il est donc conseillé de protéger les jeunes plants (en pépinière insect-proof ou sous filet) et de ne les repiquer qu'à partir d'un stade de croissance suffisant, voire de couvrir les planches de culture d'un filet qui ne sera ouvert que le plus tard possible pour permettre la croissance des plants et la pollinisation.

Photo 1 : Larve de *Diaphania hyalinata*.

Photo 2 : Larve de *Diaphania nitidalis*.

Diaphania nitidalis cause les mêmes dégâts que *D. hyalinata,* auxquels s'ajoutent les attaques sur les fleurs et surtout sur les fruits. La chenille consomme le feuillage tant que les plants sont jeunes, puis fore la base des fleurs ou s'introduit dans les fruits dès leur formation. Des fruits de tous stades peuvent être perforés de galleries (desquelles sortent les fécès et débris produits par les chenilles) ce qui occasionne des pertes pour l'agriculteur, les fruits étant invendables ou dépréciés.

Les chenilles des deux espèces sont reconnaissables à partir d'un certain stade de développement : *Diaphania hyalinata* est verte avec deux lignes longitudinales blanches, tandis que *D. nitidalis* est jaunâtre à points noirs, puis totalement verte au dernier stade larvaire. En revanche il est impossible de les différencier au premier stade, lorsqu'elles sont minuscules et toutes deux vert clair.

Pour les deux espèces, le cycle de développement complet de l'œuf à l'adulte dure environ 30 jours (CAPINERA, 2005 ; données obtenues en Floride). Les adultes sont des papillons d'environ 2,5cm d'envergure, présentant des couleurs et des motifs alaires différents d'une espèce à l'autre. Ils sont nocturnes mais ne sont pas attirés par la lumière.

Photo 3 : Adultes des espèces *Diaphania hyalinata* (à gauche) et *Diaphania nitidalis* (à droite).

I. 2. LES PLANTES HÔTES

Diaphania hyalinata est appelée "pyrale du melon", *D. nitidalis* "pyrale du concombre", mais les deux espèces sont rencontrées à la fois sur les concombres (*Cucumis sativus*) et sur les melons (*Cucumis melo*). Elles peuvent s'attaquer aux autres cultures de la famille des Cucurbitaceae : courgettes (*Cucumis pepo*), courges et giraumons (*Cucurbita* spp.), pastèques (*Citrullus lanatus*). Cependant, *Diaphania nitidalis*, qui fore les fruits, ne peut le faire que si leur peau n'est pas trop épaisse. C'est pourquoi les galleries sont observées sur concombres, courgettes et melons majoritairement. Les giraumons, pastèques et courges à peau épaisse sont davantage endommagés au niveau du feuillage.

Les Cucurbitaceae spontanées *Melothria pendula* et *Momordica charantia* comptent également parmi les plantes hôtes des *Diaphania* (CAPINERA, 2005), cependant cette deuxième espèce, cultivée et connue en Guyane sous le nom de sorossi, ne semble pas héberger de pyrales.

Photo 4 : *Momordica charantia*.

Photo 5 : Feuillage et fleur de *Melothria pendula*.

II. L'UTILISATION DES TRICHOGRAMMES CONTRE LES PYRALES DES CUCURBITACEAE

Les *Diaphania* spp. peuvent être parasités par divers hyménoptères (guêpes) à tous les stades immatures de leur développement : au stade d'œuf par des Trichogrammatidae, au stade de larve par des Braconidae et de nymphe par des Ichneumonidae notamment (BACCI, 2006). Des essais de lutte biologique basés sur l'introduction de Braconidae (parasitoïdes de chenilles) ont été réalisés (SHANNAG, 2000) mais il semble que les programmes de biocontrôle utilisant des trichogrammes (parasitoïdes oophages) aient rencontrés un plus grand succès.

II. 1. LA BIOLOGIE DES TRICHOGRAMMES

Les micro-guêpes de la famille des Trichogrammatidae sont des parasitoïdes oophages : ils pondent dans les œufs d'autres insectes. La larve éclôt puis s'y développe en consommant le contenu de l'œuf hôte, puis le trichogramme adulte émerge en découpant son enveloppe. Il mesure rarement plus d'1mm (de 0,3 à 1,2mm).

Les trichogrammes parasitent les œufs d'une grande diversité d'insectes, la gamme de leurs hôtes allant des coléoptères aux thrips, en passant par les punaises et les sauterelles entre autres. Mais c'est le parasitisme des œufs de lépidoptères qui est le mieux connu et le plus étudié en raison des utilisations possibles des trichogrammes pour contrôler les chenilles ravageuses des cultures.

La durée du développement de la ponte à l'émergence du trichogramme adulte est estimée aux alentours de 10 jours, tout comme la longévité de l'adulte. A titre d'exemples, des études menées sur les espèces *Trichogramma pretiosum* et *Trichogramma galloi* en laboratoire (à 25°C et à 70% d'humidité relative) ont permis d'obtenir les résultats suivants (BESERRA, 2004 ; DIAS-PINI, 2012).

Tableau 1 : Données sur la biologie de deux espèces de trichogrammes obtenues en conditions de laboratoire (d'après BESERRA, 2004 et DIAS-PINI, 2012).

	Trichogramma pretiosum	***Trichogramma galloi***
espèce hôte	*Spodoptera frugiperda* (Noctuidae)	*Diatraea flavipennella* (Crambidae)
durée du développement œuf-adulte	9,66 jours	14,36 jours
durée de vie de l'adulte	7,37 jours	9,60 jours

Concernant les pyrales des Cucurbitaceae, un œuf de *Diaphania* ne permet généralement le développement que d'un seul trichogramme, mais deux individus peuvent parfois émerger du même œuf (observation personnelle).

Une femelle peut pondre dans 30 à 40 œufs de papillons, les pontes étant concentrées sur les 24 premières heures de sa vie d'adulte (BUENO, 2010). Il existe des lignées de trichogrammes sexuées et asexuées, ces dernières étant constituées uniquement de femelles se reproduisant par parthénogénèse. La capacité parthénogénétique de certaines lignées de trichogrammes résulte d'interactions complexes avec les bactéries du genre *Wolbachia*, symbiotes très répandus chez les insectes (HUIGENS, 2004).

II. 2. LES ÉLEVAGES ET LÂCHERS DE TRICHOGRAMMES

II. 2. 1. Une pratique aujourd'hui courante dans de nombreuses régions du monde

Les trichogrammes sont utilisés en lutte biologique contre les lépidoptères depuis plusieurs décennies. A la fin des années 90, plus de 50 pays employaient déjà ces techniques, dont la Chine, la Russie, de nombreux pays d'Amérique et d'Europe (SMITH, 1996). Un des exemples les plus connus en France est celui du programme mené par l'INRA contre la pyrale du maïs *Ostrinia nubilalis* à l'aide de *Trichogramma brassicae* (HAWLITZKY, 1992).

Les agriculteurs brésiliens ont également recours aux trichogrammes, comme la démonstration en a été faite lors d'un voyage d'étude des membres de Bio Savane organisé par l'Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) en 2014 dans la région de Macapá. Le lâcher de trichogrammes était réalisé dans des cultures de concombre pour contrôler les chenilles de *Diaphania*.

Les agronomes cubains ont eux-aussi une grande expérience en matière d'élevage et d'utilisation de trichogrammes en lutte biologique. Le chercheur Fermin FUENTES-SANDOVAL a mis au point et mené des programmes de biocontrôle à Cuba dès les années 70, et a dispensé ses conseils et formations dans plusieurs pays d'Amérique du Sud et de la Caraïbe afin que ces pratiques se développent. Il a notamment aidé à la mise en œuvre d'un élevage de trichogrammes à la Martinique.

C'est effectivement à la suite d'une collaboration avec Fermin FUENTES-SANDOVAL que Pierre-Damien LUCAS, ingénieur de la FREDON (Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles) de la Martinique, a développé un élevage de trichogrammes dans le cadre de la lutte biologique contre la pyrale du concombre.

II. 2. 2. L'exemple de l'élevage de trichogrammes de la FREDON de la Martinique

La cible de ce programme de lutte est *Diaphania hyalinata* (l'espèce *D. nitidalis* n'étant pas présente à la Martinique) mais les trichogrammes sont multipliés sur un hôte alternatif dont l'élevage est plus aisé : la teigne du riz *Corcyra cephalonica* (Pyralidae).

II. 2. 2. a) L'élevage des hôtes

Les chenilles de *Corcyra cephalonica* sont élevées sur farine de maïs (dont la quantité nécessaire est connue pour un nombre d'œufs donné) dans des bacs en plastique jusqu'à l'émergence des papillons. Les papillons sont ensuite placés dans des boîtes d'accouplement et de ponte fermées par de la toile moustiquaire. Les œufs de *Corcyra cephalonica* sont récupérés en brossant la moustiquaire au pinceau.
Les œufs obtenus sont utilisés en partie pour multiplier les trichogrammes, en partie pour réensemencer les boîtes de farine et ainsi maintenir l'élevage de teignes. Les œufs destinés à être les hôtes des trichogrammes sont stérilisés aux UV (placés sous lampe UV pendant 30 minutes) afin d'éviter l'éclosion de chenilles de *Corcyra cephalonica* dans les tubes d'élevage des trichogrammes. En effet, sans ressource alimentaire disponible, les chenilles qui viennent d'éclore adoptent un comportement cannibale (consomment les œufs et les chenilles).

II. 2. 2. b) La multiplication des trichogrammes

Les trichogrammes qui ont permis de démarrer l'élevage proviennent de parcelles agricoles martiniquaises. Des œufs de lépidoptères (de différentes espèces) ont été collectés et gardés dans des tubes à essai : ceux qui étaient parasités ont donné lieu à l'émergence de trichogrammes. Deux lignées ont ainsi été obtenues, l'une sexuée, l'autre asexuée. Elles ont été identifiées par des analyses moléculaires (génétiques) : les deux lignées appartiennent à l'espèce *Trichogramma pretiosum,* l'une des plus répandues sur le continent américain.
L'identification a été réalisée par barcoding moléculaire à l'INRA de Sophia-Antipolis dans le cadre du projet TriPTIC (*Trichogramma* pour la protection des cultures : pangénomique, traits d'histoire de vie et capacités d'établissement) mené par l'équipe Recherche et Développement en Lutte Biologique.

Pour leur multiplication, les trichogrammes sont placés dans des tubes à essai en présence d'un grand nombre d'œufs de *Corcyra cephalonica* stérilisés. La lignée asexuée est utilisée car son élevage est plus simple (ne nécessite pas de phase d'accouplement) et permet une multiplication plus rapide de la population. Un individu femelle peut parasiter 30 oeufs, la durée du développement est de 10 jours de la ponte à l'émergence des trichogrammes adultes : une femelle donne donc naissance à 30 nouvelles femelles en 10 jours. Ces femelles parthénogénétiques ne doivent pas être mises en présence de trichogrammes mâles car la lignée risquerait de devenir sexuée.

Les œufs parasités peuvent être gardés au réfrigérateur pendant une semaine et demi sans affecter le taux d'émergence des trichogrammes (ils peuvent être conservés davantage mais le nombre d'adultes obtenus baisse avec le temps). Plusieurs séries d'œufs parasités produites par l'élévage sur plusieurs jours consécutifs peuvent ainsi être conservées dans l'attente d'un unique lâcher. Les œufs sont fixés sur une plaquette adhésive pour permettre leur manipulation et leur installation au champ.

II. 2. 2. c) Les lâchers inondatifs

Les essais réalisés par la FREDON de la Martinique dans les parcelles de Cucurbitaceae attaquées par *Diaphania hyalinata* se sont avérés concluants à raison de 1000 trichogrammes lâchés pour 100m^2 de culture.

PROTOCOLE POUR LES LÂCHERS DE TRICHOGRAMMES

- Passer commande à la FREDON deux semaines avant la date de lâcher souhaitée, en prévoyant une plaquette (1000 œufs) pour 100 m^2 de culture.
- Installer un dispositif de piquets : 1 piquet pour 100 m^2, dont la taille doit permettre de suspendre les plaquettes d'œufs à hauteur du feuillage.
- Réaliser un 1° lâcher juste après la plantation (en cas de repiquage) ou au stade 2-3 feuilles (en cas de semis direct) pour exercer un contrôle dès les premières pontes de pyrales.
- Réaliser un 2° lâcher une semaine plus tard.
- Réaliser un 3° lâcher la semaine suivante.
- Réaliser un 4° lâcher la semaine suivante.
- Fin de la culture.

Le nombre de chenilles de *Diaphania* baisse rapidement après le lâcher, jusqu'à devenir nul ou quasi nul. La régulation opérée par les trichogrammes est visible (de grande ampleur) et rapide (observable sur un délai court) : le procédé est donc convaincant pour les agriculteurs.

Les suivis ultérieurs montrent que les trichogrammes sont toujours présents sur les parcelles où des lâchers ont été réalisés. Mais il est difficile d'estimer leur nombre et son évolution dans le temps car les conditions de plein champ impliquent la dispersion et la prédation des trichogrammes.

II. 3. LA RÈGLEMENTATION FRANÇAISE SUR L'INTRODUCTION D'INSECTES AUXILIAIRES

La possibilité d'importer des trichogrammes issus d'élevages a été envisagée, notamment ceux produits par la FREDON de la Martinique, ou ceux de différents fournisseurs brésiliens.
La règlementation française demande la constitution d'un dossier de demande d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dans l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique (Décret n°2012-140 du 30 janvier 2012). Ce dossier doit être soumis à l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) qui donne son avis dans un délai de 6 mois. Si aucun avis n'est émis, la demande est considérée comme rejetée. Si l'analyse des risques d'introduction de l'auxiliaire réalisée par l'ANSES est favorable, l'agence transmet le dossier aux ministères chargés de l'agriculture et de l'environnement. Ceux-ci ont 3 mois pour donner leurs avis. Encore une fois, si aucun avis n'est donné, la demande est considérée comme rejetée.

Des trichogrammes en provenance de la Martinique ou du Brésil sont considérés comme non indigènes car ces territoires sont distincts de celui de la Guyane. D'après les informations obtenues auprès de la DAAF (Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt) de Guyane, le fait que l'espèce qui pourrait être introduite soit déjà présente sur le territoire ne dispense pas de la soumission du dossier de demande. Ce n'est en effet pas au niveau de l'espèce que se situe la règlementation, mais au niveau de l'organisme, qui est caractérisé par son identification (genre et espèce) associée à la société qui le produit, pour avoir une traçabilité concernant l'organisme, son origine géographique, son élevage et sa souche (origine génétique). Dans l'hypothèse d'une importation de *Trichogramma pretiosum*, l'éventuelle présence de l'espèce en Guyane ne permet pas d'affirmer que les populations locales soient identiques aux souches élevées à la Martinique ou au Brésil. L'introduction nécessiterait donc la constitution du dossier de demande d'autorisation d'entrée sur le territoire.

Ce dossier est relativement complexe à constituer, le délai de réponse est long (9 mois) et les probabilités d'obtenir un avis favorable sont faibles (d'après Pierre-Damien LUCAS, communication personnelle). C'est pourquoi la FREDON de la Martinique a privilégié l'élevage d'une souche locale à l'importation de trichogrammes issus d'un élevage commercial.
Si une telle démarche devait être entreprise en Guyane, elle nécessiterait de connaître les espèces présentes et les souches locales. C'est dans cet objectif que les parasitoïdes oophages des *Diaphania* spp. ont été recherchés sur les parcelles guyanaises.

III. LA RECHERCHE DES PARASITOÏDES DES ŒUFS DE PYRALES EN GUYANE

La bibliographie ne mentionne pas de parasitoïdes oophages des *Diaphania* spp. connus en Guyane.

III. 1. LES COLLECTES D'ŒUFS DE PYRALES

Les œufs des pyrales sont ovoïdes, ils mesurent environ 0,5mm de large sur 0,8mm de long (CAPINERA, 2005). De consistance molle, ils peuvent prendre une forme variable en fonction du caractère glabre ou pubescent des tissus végétaux qui constituent leur support. Ils peuvent être pondus isolément ou en amas de 2 à 5 œufs, généralement à la face inférieure des feuilles ou dans les boutons foliaires (protégés entre les jeunes feuilles).
Ils sont blanchâtres juste après la ponte et deviennent jaunes en séchant. Ils noircissent lorsqu'ils sont parasités, mais ce phénomène n'est pas immédiat. Il est donc utile de collecter les œufs quelle que soit leur couleur, puisqu'ils peuvent paraître sains au moment de la collecte et noicir par la suite.

Photo 6 : Oeufs de *Diaphania* sp. en amas (en haut) et isolé (en bas).

Photo 7 : Oeufs de *Diaphania* sp. parasités.

Les œufs sont parfois visibles à l'œil nu, mais il est plus aisé de les repérer sous une loupe binoculaire. Des feuilles de concombre ont donc été collectées aléatoirement sur les parcelles, en quantité variable en fonction des surfaces cultivées et du stade de croissance des plants, pour être observées ultérieurement à la loupe.

Il n'est pas possible de déterminer l'espèce d'après les œufs. Lorsque des chenilles sont observées sur les plants échantillonnés, qu'elles ont atteint un stade de développement suffisant pour être identifiées, et qu'une seule espèce est présente, l'appartenance des œufs à cette espèce pourrait être déduite du contexte. Néanmoins, l'identification ne peut pas être établie avec certitude, les œufs ont donc été considérés comme appartenant au genre *Diaphania* sans distinction d'espèce.

Les recherches d'œufs ont été réalisées de janvier 2017 à octobre 2018 sur 6 parcelles. Des œufs de *Diaphania* ont été trouvés sur 4 des 6 parcelles prospectées, tous sur des plants de concombre, à l'exception d'un œuf collecté sur melon (sur l'exploitation Sanchez).

Tableau 2 : Sites des collectes d'œufs de *Diaphania*.

EXPLOITATION	COMMUNE	COORDONNÉES GPS
Eraste (ERA)	Macouria (pK 16 - RN1)	04°56'23'' N / 52°25'00'' O
Sipestein (SIP)	St-Laurent du Maroni	-
Sanchez (SAN)	Macouria (La Césarée)	05°01'25'' N / 52°31'31'' O
Lycée agricole (MAT)	Macouria (Matiti)	05°02'12'' N / 52°33'56'' O

III. 2. L'ÉLEVAGE DES PARASITOÏDES

Les œufs ont été gardés dans des tubes à essai bouchés par du coton. En cas de noircissement des œufs (traduisant le parasitisme), une minuscule goutte de miel a été déposée dans le tube afin que les parasitoïdes adultes puissent se nourrir et ainsi augmenter leur durée de vie.

L'élevage n'a consisté qu'à obtenir l'émergence des parasitoïdes adultes, mais il n'a pas été possible de procéder à une réelle multiplication puisque des œufs frais (issus d'élevage) doivent être disponibles rapidement et en quantité suffisante pour de nouvelles pontes. Quelques œufs collectés sur le terrain ont pu être ajoutés ponctuellement dans les tubes d'élevage, mais sans garantie de leur qualité d'hôte (stade de développement permettant la ponte, absence de parasitoïde).
Seuls les individus collectés sur l'exploitation Sipestein ont pu bénéficier exceptionnellement d'œufs de *Corcyra cephalonica* issus de l'élevage de la FREDON de la Martinique pour leur multiplication.

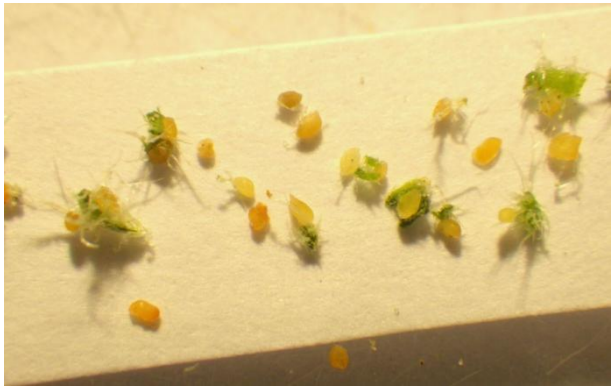

Photo 8 : Oeufs de *Diaphania* sp. collectés sur le terrain pour alimenter les élevages.

Photo 9 : Tube d'élevage contenant des oeufs de *Corcyra cephalonica* (fournis par la FREDON de la Martinique).

IV. RÉSULTATS

VI. 1. LES PARASITOÏDES DES *Diaphania* spp.

Des œufs collectés sur le terrain ont pu être ajoutés dans les tubes en cours d'élevage afin de proposer des hôtes aux parasitoïdes récemment émergés. Les collectes réalisées à plusieurs dates consécutives sont alors traitées ensemble vis-à-vis des parasitoïdes émergés car il n'est pas possible de savoir si les œufs fournis secondairement étaient déjà parasités au moment de la collecte ou s'ils l'ont étés dans le tube d'élevage (descendance issue de la collecte initiale). Pour cette raison, il ne sera pas possible de calculer de taux de parasitisme.

Tableau 3 : Nombre d'œufs de *Diaphania* sp. collectés et de parasitoïdes émergés.

PARCELLE	DATES DE COLLECTE	NOMBRE D'ŒUFS COLLECTÉS	PARASITOÏDES ÉMERGÉS	
ERA	27/04/2017	25	10	Trichogrammatidae
	05/05/2017	31	5	Aphelinidae
	16/05/2017	36		
	11/08/2017	7	0	
	TOTAL	**99**	**15**	
SIP	16/10/2017 + 100 œufs de *Corcyra* d'élevage (FREDON)	5	**21**	Trichogrammatidae
SAN	20/03/2018	4	0	
	16/04/2018	38	18	Trichogrammatidae
	24/04/2018	47		
	30/04/2018	11		
	15/05/2018	22		
	28/05/2018	4	2	Trichogrammatidae
			2	Aphelinidae
	23/08/2018	5	0	
	TOTAL	**131**	**22**	
MAT	28/03/2018	20	0	
	23/05/2018	8	7	Aphelinidae
	21/08/2018	6	1	Trichogrammatidae
	28/08/2018	7	3	Aphelinidae
	04/09/2018	14	4	Trichogrammatidae
	11/09/2018	2	1	Aphelinidae
	18/10/2018	3	3	Trichogrammatidae
	TOTAL	**60**	**19**	

Les chiffres présentés dans ce tableau ne peuvent pas faire l'objet de comparaisons (entre les sites ou les dates) car la méthode de collecte n'est pas standardisée. L'objectif de ces collectes et des essais d'élevage de parasitoïdes est d'obtenir des données qualitatives.
Des trichogrammes femelles et mâles ont émergés des œufs collectés sur les sites ERA et SIP. En revanche, tous les individus provenant des sites SAN et MAT sont des femelles. Il semble que des lignées sexuées soient présentes sur les deux premiers sites, tandis que les deux derniers sites hébergent des lignées de femelles parthénogénétiques.
Tous les trichogrammes obtenus sont visuellement semblables, de couleur marron-jaunâtre. Seules les antennes diffèrent en fonction du sexe : leur pilosité est plus abondante chez les indivdus mâles (QUERINO, 2012).

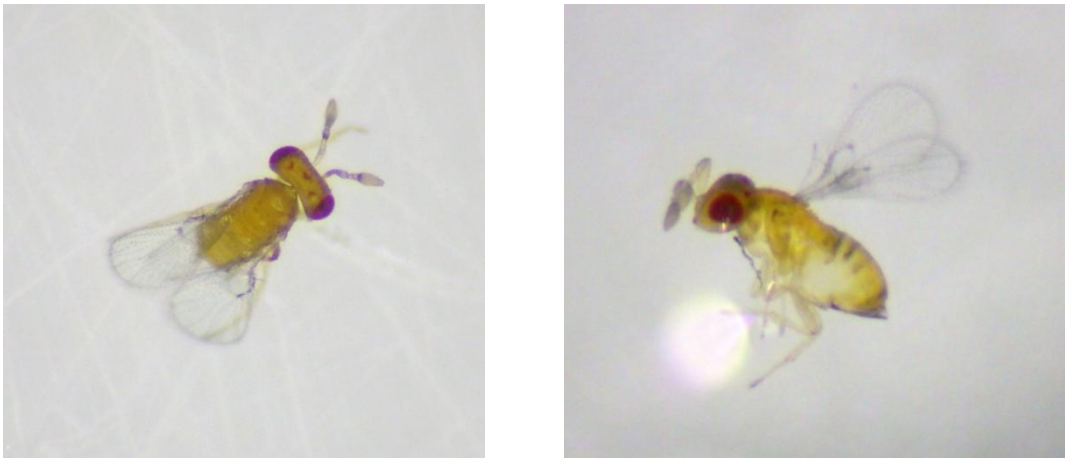

Photo 10 : Trichogrammes obtenus par l'élevage d'œufs de *Diaphania* sp. collectés sur concombre.

Les Aphelinidae consituent une famille de parasitoïdes aux modes de vie et de reproduction très variés et complexes. Ils s'attaquent principalement aux stades immatures des aleurodes, cochenilles, pucerons et autres piqueur-suceurs proches de ces groupes, mais ils sont également connus pour parasiter des œufs de lépidoptères (GOULET, 1993).
Deux morpho-types d'Aphelinidae ont été distingués parmi les individus obtenus d'après leurs couleurs : le premier type est jaune et noir, le second est brun.

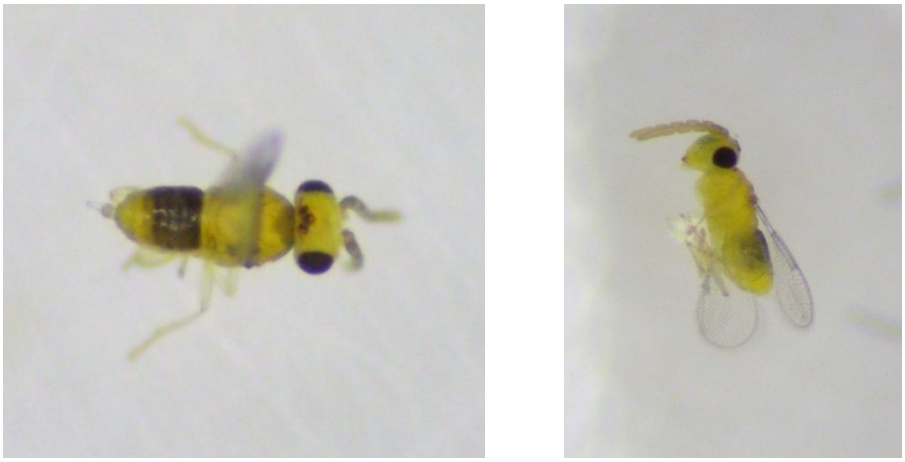

Photo 11 : Aphelinidae du morpho-type 1 obtenus par l'élevage d'œufs de *Diaphania* sp. collectés sur concombre.

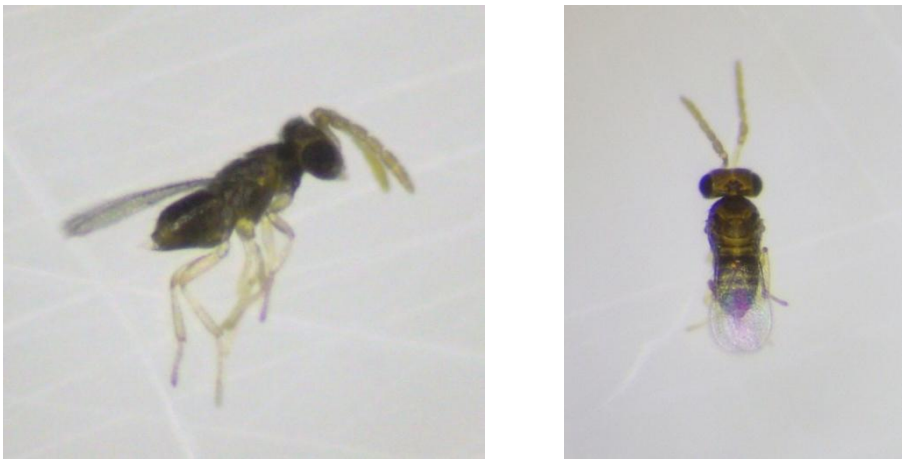

Photo 12 : Aphelinidae du morpho-type 2 obtenus par l'élevage d'œufs de *Diaphania* sp. collectés sur concombre.

VI. 2. LES PARASITOÏDES D'*Hellula phidilealis*

Les prospections réalisées sur les adventices ont révélé la présence d'œufs de la pyrale de la tige du chou, *Hellula phidilealis* (Crambidae), sur *Cleome* sp. (probablement *C. rutidosperma*, Cleomaceae).

Ces œufs roses, parfois noircis par le parasitisme, ont suscité l'attention en raison de certains de leurs traits morphologiques rappelant les œufs de *Diaphania* et suggérant donc l'appartenance à un groupe proche. D'abord indéterminés, les œufs ont été élevés, les chenilles étant nourries avec des feuilles et des tiges de *Cleome* sp. jusqu'à leur métamorphose. Les adultes obtenus ont permis la constitution d'un échantillon qui a été envoyé à Steven PASSOA pour identification : l'espèce *Hellula phidilealis* a ainsi été confirmée. Cette chenille ne semble pas causer de graves dégâts aux cultures de choux (les agriculteurs ne la mentionnent pas) mais sa présence en Guyane est connue des services de la protection des végétaux (DAAF, 2012).

Photo 13 : *Cleome* sp. (Cleomaceae), plante hôte d'*Hellula phidilealis*.

Photo 14 : Œufs d'*Hellula phidilealis* sain (à droite) et parasité (à gauche).

Photo 15 : Chenille d'*Hellula phidilealis*.

Photo 16 : *Hellula phidilealis* adulte.

Les *Cleome* n'ont été collectées (plantes entières) que sur deux parcelles et observées à la loupe binoculaire pour repérer les œufs d'*Hellula*, qui ont ensuite été traités de la même manière que ceux des *Diaphania* jusqu'à l'émergence des parasitoïdes.

Tableau 4 : Nombre d'œufs *d'Hellula phidilealis* collectés et de parasitoïdes émergés.

PARCELLE	DATES DE COLLECTE	NOMBRE D'ŒUFS COLLECTÉS	PARASITOÏDES ÉMERGÉS	
SAN	05/01/2018	5	1	Trichogrammatidae
	23/01/2018	4	1	Trichogrammatidae
	06/02/2018	8	2	Trichogrammatidae
	02/03/2018	10	1	Trichogrammatidae
	06/03/2018	4	0	
	20/03/2018	8	0	
	26/03/2018	17	5	Trichogrammatidae
	03/04/2018	1	0	
	30/04/2018	13	0	
MAT	23/05/2018	5	0	
	04/09/2018	12	4	Trichogrammatidae
	11/09/2018	7	2	Trichogrammatidae

Les trichogrammes émergés des œufs d'*Hellula phidilealis* sont tous des individus femelles. Leur morphologie externe et leur couleur semblent identiques à celles des trichogrammes obtenus à partir d'œufs de *Diaphania* (voir Photo 10).

VI. 3. L'IDENTIFICATION DES PARASITOÏDES

VI. 3. 1. Les Trichogrammatidae

Des trichogrammes ont été envoyé à Géraldine GROUSSIER-BOUT, chercheuse de l'équipe RDLB (Recherche et Développement en Lutte Biologique) de l'INRA de Sophia-Antipolis. L'équipe a procédé à leur analyse morphologique d'une part, et génétique d'autre part. L'analyse moléculaire a permis d'associer un "code-barres" génétique aux spécimens, et ainsi de les comparer à la base de données dont dispose l'équipe RDLB. Les séquences serviront à enrichir cette base de données dans le cadre du programme TriPTIC (*Trichogramma* pour la protection des cultures : pangénomique, traits d'histoire de vie et capacités d'établissement).

Tableau 5 : Identification des trichogrammes parasitoïdes de *Diaphania* spp. et *Hellula phidilealis*.

SITE	DATE	PLANTE HÔTE	INSECTE HÔTE	TRICHOGRAMME
ERA	04/2017	*Cucumis sativus*	*Diaphania* sp.	*Trichogramma* sp. swK
SIP	10/2017	*Cucumis sativus*	*Diaphania* sp.	*Trichogramma* sp. swM
SAN	04/2018	*Cucumis sativus*	*Diaphania* sp.	*Trichogramma brassicae-euproctidis* / *Trichogramma pretiosum*
SAN	02/2018	*Cleome* sp.	*Hellula phidilealis*	*Trichogramma pretiosum*
MAT	08/2018	*Cucumis sativus*	*Diaphania* sp.	*Trichogramma pretiosum*
MAT	09/2018	*Cleome* sp.	*Hellula phidilealis*	*Trichogramma pretiosum*

Les trichogrammes provenant des sites ERA (Macouria) et SIP (St-Laurent du Maroni) appartiennent à des espèces distinctes, qui sont nouvelles pour la base de données TripTIC. Des codes leurs ont été attribués dans l'attente d'une comparaison positive avec des espèces présentes dans d'autres bases de données (sud-américaines notamment), ou de leur description en tant qu'espèces nouvelles le cas échéant. Des individus des deux sexes ont été obtenus sur ces sites.

Les trichogrammes (tous femelles) présents sur les sites SAN et MAT, qu'ils soient parasitoïdes de *Diaphania* spp. ou d'*Hellula phidilealis*, appartiennent à l'espèce *Trichogramma pretiosum*. L'analyse de l'échantillon provenant d'œufs de *Diaphania* du site SAN pose des problèmes d'interprétation qui pourraient être clarifiés ultérieurement par l'apport de nouvelles informations.

VI. 3. 2. Les Aphelinidae

Des Aphelinidae émergés d'œufs de *Diaphania* spp. et représentatifs des deux groupes rencontrés (voir Photos 11 et 12) ont été envoyés au spécialiste Andrew POLASZEK, du Muséum National d'Histoire Naturelle de Londres. Les spécimens ont été montés sur des lames microscopiques pour permettre leur identification morphologique.

Tableau 6 : Identification des Aphelinidae parasitoïdes de *Diaphania* spp. et *Hellula phidilealis*.

SITE	DATE	PLANTE HÔTE	INSECTE HÔTE	TYPE D'APHELINIDAE	IDENTIFICATION
MAT	05/2018	*Cucumis sativus*	*Diaphania* sp.	type 1 (jaune et noir)	*Encarsia* sp1 proche *porteri*
MAT	08/2018	*Cucumis sativus*	*Diaphania* sp.	type 2 (brun)	*Encarsia* sp2 proche *porteri*

Les 5 spécimens analysés sont des mâles. Les deux types d'Aphelinidae appartiennent à deux espèces distinctes, probablement à deux espèces qui n'ont jamais été décrites (d'après Andrew POLASZEK). Elles sont toutefois proches d'*Encarsia porteri*, une espèce hétérotrophe connue pour son système de reproduction complexe. Chez cette espèce les femelles pondent dans deux hôtes différents pour produire des descendants femelles ou mâles : les femelles sont parasitoïdes d'aleurodes tandis que les mâles parasitent des œufs de lépidoptères (HUNTER, 2001). Étant donné que des aleurodes *Bemisia tabaci* étaient présents sur les plants de concombres lors des collectes d'œufs de *Diaphania* sur les parcelles SAN et MAT, Andrew POLASZEK estime qu'il est probable que les Aphelinidae obtenus ici soient hétérotrophes, à l'image d'*Encarsia porteri*.

V. CONCLUSION

D'un point de vue règlementaire, il serait plus aisé d'élever des parasitoïdes locaux que d'en importer. Les lignées parthénogénétiques de *Trichogramma pretiosum* mises en évidence sur deux des parcelles étudiées (souches locales de l'espèce) pourraient se prêter à la mise au point d'un élevage, comme cela a été fait avec cette espèce à la Martinique. Des essais de multiplication de ces lignées devraient être réalisés au préalable pour vérifier leur caractéristiques biologiques en conditions de laboratoire, leur tolérance aux maladies, les possibilités d'appauvrissement génétique de la population et la capacité de la lignée à rester parthénogénétique.
D'un point de vue pratique, un tel élevage nécessiterait un laboratoire susceptible de l'accueillir, des locaux de confinement pour la multiplication de l'hôte (espèce phytophage potentiellement nuisible) et l'acquisition des compétences scientifiques et techniques requises.

Les pyrales des Cucurbitaceae de Guyane sont naturellement parasitées par au moins trois espèces de trichogrammes, dont *Trichogramma pretiosum*, une espèce commune sur le continent américain, et deux espèces potentiellement inconnues. *Hellula phidilealis* est également un hôte de *Trichogramma pretiosum* et peut donc assurer la disponibilité d'un autre hôte dans les périodes où les *Diaphania* sont absents. Les *Cleome* sp., qui hébergent les oeufs et chenilles d'*Hellula*, poussent spontanément sur les sols récemment mis à nu et sont fréquentes sur les parcelles agricoles.
La présence de *Cleome* sp. et d'*Hellula phidilealis* peut permettre à *Trichogramma pretiosum* de se maintenir sur la parcelle en se reproduisant sur un hôte alternatif lorsque les Cucurbitaceae et les *Diaphania* spp. sont absents.

Deux espèces d'*Encarsia* proches d'*Encarsia porteri*, probablement inconnues, comptent également parmis les ennemis naturels des *Diaphania* spp. Il semble que ces parasitoïdes se développent à la fois aux dépens des pyrales et de l'aleurode *Bemisia tabaci*, ravageur problématique sur certaines cultures maraîchères, notamment sur les concombres et les melons.

Les recherches menées sur les parasitoïdes oophages des *Diaphania* montrent que *Trichogramma pretiosum* et *Encarsia* spp. proches *porteri* coexistent sur les mêmes hôtes, les pyrales des Cucurbitaceae, dans un système complexe impliquant un hôte alternatif pour *Trichogramma pretiosum* d'une part (*Hellula phidilealis*), et un deuxième hôte obligatoire pour *Encarsia* spp. proche *porteri* (*Bemisia tabaci*) d'autre part. Ce système souligne l'importance de la flore spontanée pour la disponibilité d'insectes utiles à la reproduction des parasitoïdes.
Ces résultats démontrent la subtilité des équilibres qui existent entre plusieurs plantes, cultivées et spontanées, plusieurs insectes phytophages, ravageurs ou non, et plusieurs parasitoïdes aux modes de reproduction complexes. L'introduction d'un très grand nombre de parasitoïdes telle qu'elle se produit lors de lâchers inondatifs a un impact sur les équilibres en place. Il convient donc de considérer l'existence et l'importance des mécanismes de régulation naturels des insectes avant toute intervention de grande ampleur sur leurs populations.

Merci à Pierre-Damien LUCAS de la FREDON de la Martinique pour toutes les informations et tous les conseils qui ont permis de trouver les œufs de *Diaphania* et d'élever les parasitoïdes.

Merci à Géraldine GROUSSIER-BOUT pour avoir pris en charge les échantillons de trichogrammes guyanais et pour avoir permis leur identification. Merci à l'ensemble des membres de l'équipe RDLB de l'INRA de Sophia-Antipolis et aux personnes impliquées dans le projet TriPTIC pour avoir procédé aux analyses moléculaires.

Merci à Andrew POLASZEK pour les identifications réalisées sur les *Encarsia* spp. proche *porteri.* Merci à lui et à Jonh NOYES, tous deux chercheurs au Muséum d'Histoire Naturelle de Londres, pour leurs éclaircissement sur la biologie de la reproduction de ces Aphelinidae.

Merci à Steven PASSOA du Département de l'Agriculture de l'état de l'Ohio pour l'identification d'*Hellula phidilealis* et pour la confirmation de l'espèce *Diaphania hyalinata*.

BACCI L., PICANÇO M. C., MOURA M. F., DELLA-LUCIA T. M. C., SEMEÃO A. A., 2006. Sampling plan for *Diaphania* spp. (Lepidoptera: Pyralidae) and for hymenopteran parasitoids on cucumber. Entomological Society of America, Journal of Economic Entomology, 99(6) : 2177-2184. December 2006.

BESERRA E. B., PARRA J. R. P., 2004. Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Revista Brasileira de Entomologia, 48(1) : 119-126. Março 2004.

BUENO R. C., BUENO A., PARRA J. R. P., VIEIRA S., DE-OLIVEIRA L., 2010. Biological characteristics and parasitism of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera, Trichogrammatidae) on eggs of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Revista Brasileira de Entomologia, 54(2) : 322-327. Junho 2010.

CAPINERA J. L., 2005. Melonworm, *Diaphania hyalinata* Linnaeus (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. November 2005.

CAPINERA J. L., 2005. Pickleworm, *Diaphania nitidalis* (Stoll) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. November 2005.

DIAS-PINI N., FORTI-BROGLIO S. M., COSTA S., DOS-SANTOS J. M., GUZZO E. C, 2012. Biological characteristics of *Telenomus alecto* and *Trichogramma galloi* reared on eggs of the sugarcane borer *Diatraea flavipennella*. Revista Brasileira de Entomologia, 56(4) : 515-518. Dezembro 2012.

GOULET H., HUBER J. T., 1993. Hymenoptera of the world : an identification guide to families. Research Branch, Agriculture Canada, Publication 1894/E, 1993.

HAWLITZKY N., 1992. La lutte biologique à l'aide de Trichogrammes. Courrier de la Cellule Environnement de l'INRA n°16, 114 pp. Avril 1992.

HUIGENS M. E., ALMEIDA R. P., BOONS P. A. H., LUCK R. F., STOUTHAMER R., 2004. Natural interspecific and intraspecific horizontal transfer of parthenogenesis-inducing *Wolbachia* in *Trichogramma* wasps. Proceedings of the Royal Society, Biological Sciences (2004) 271, 509-515.

HUNTER M. S., WOOLLEY J. B., 2001. Evolution and behavioral ecology of heteronomous aphelinids parasitoids. Annual Review of Entomology, 46 : 251-90, 2001.

QUERINO R. B., ZUCCHI R. A., 2012. Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil, 2ª Edição. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria, Brasilia, DF, 2012. 106pp.

SHANNAG H. K., CAPINERA J. L., 2000. Interference of *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae) with *Cardiochiles diaphaniae* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of melonworm and pickleworm (Lepidoptera: Pyralidae). Entomological Society of America, Environmental Entomology, Vol. 29, no. 3. June 2000.

SMITH S. M., 1996. Biological control with *Trichogramma* : successes, and potential of their use. Annual Review of Entomology, 41 : 375-406. January 1996.

Décret n° 2012-140 du 30 janvier 2012 relatif aux conditions d'autorisation d'entrée sur le territoire et d'introduction dasn l'environnement de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux, notamment dans le cadre de la lutte biologique. Journal Officiel de la République Française, NOR : AGRG1124788D.

Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt de Guyane, Service de l'Alimentation, document interne : Organismes nuisibles par plantes hôtes. Avril 2012.