Biocontrôle de *Paysandisia archon* en prévention de l'extension des attaques de *Rynchophorus ferrugineus* sur palmiers

CAPELLI Mathilde*, VENARD Marine*, HUGUET Mélanie*, COLOMBEL Etty*, TABONE Elisabeth*
* INRA Paca, UEFM, 90 chemin Raymond 06160, Antibes, France

Résumé
Le papillon palmivore *Paysandisia archon* poursuit sa progression en région méditerranéenne, entrainant des dégâts considérables sur les palmiers et un impact négatif sur l'économie de la région. L'objectif du projet BioPalme 2018 est de contrôler la présence de *P. archon* par l'utilisation d'auxiliaires comme les parasitoïdes oophages, les stades œufs des ravageurs étant externes, dans le but de réduire les dommages sur les palmiers. Cinq espèces de parasitoïdes oophages ont été sélectionnées et élevées dans le but de les tester sur des œufs de *P. archon* sur des palmiers en mésocosme et sur le terrain. La dispersion, le taux de parasitisme, le taux d'avortement et le taux d'éclosion des œufs ont été analysés. En mésocosme, du parasitisme a été observé pour *Trichogramma* T et *Ooencyrtus kuvanae*. Le taux d'avortement n'était significativement pas différent avec le témoin. Sur le terrain, bien qu'aucun œuf n'ait été parasité par les PO, *Trichogramma* T et *O. pityocampae* sont les souches ayant le taux d'avortement le plus élevé, tandis que celui du témoin est très faible. *Trichogramma* T semble efficace aussi bien en mésocosme que sur le terrain. Il est nécessaire de continuer les expérimentations en mésocosme et sur le terrain pour améliorer les paramètres de lâchers des parasitoïdes afin d'obtenir plus de résultats intéressants.

Mots Clés : Biocontrôle, palmiers, parasitisme, parasitoïdes oophages, *Paysandisia archon*

Introduction

Paysandisia archon (Burmeister) est un lépidoptère originaire d'Amérique du Sud classé en France comme organisme nuisible de deuxième catégorie réglementé depuis 2009 (Arrêté du 15/12/2014). Il aurait été importé via des palmiers (*Trithrinax campestris*) d'Argentine dans les années 1990 (Montagud Alario, 2004). Il a été aperçu en 2001 en France dans les régions d'Hyères et Toulon, et est maintenant présent dans tout le Sud de la France de la région des Alpes Maritimes jusqu'aux Pyrénées Orientales. On le trouve aussi dans de nombreux pays Européens, comme l'Italie, l'Espagne, la Grèce, la Slovénie, la Suisse et à Chypres (EPPO, 2011).

Les larves de *P. archon* provoquent des dégâts importants en se nourrissant des stipes des palmiers dans lesquels elles se développent. Le ravageur est inféodé aux palmiers et attaque un plusieurs d'espèces différentes (Sarto i Monteys, 2005 ; Castellana, communication personnelle). De plus, il s'avère que *P. archon* est capable de parcourir de larges distances en vol. Sa biologie en fait un ravageur difficile à combattre, la larve reste endophage durant toute sa vie, l'adulte ne se nourrit pas, est actif le jour, et devient sexuellement mature 3h après son émergence (Delle-Vedove *et al.*, 2012). Il n'y a pas de phéromones sexuelles femelles identifiées (Sarto i Monteys *et al.*, 2012) ; c'est le mâle qui sécrète des phéromones par le milieu de ses pattes (Frérot *et al.*, 2013), rendant difficile l'élaboration de pièges. Comme moyen de lutte biologique, l'emploi des nématodes entomopathogènes *Steinernema carpocapsae* comme bio-pesticide (Nardi *et al.*, 2009) ou des produits à base de *Beauveria bassiana*, (Besse-Millet *et al.*, 2008) sont utilisés pour lutter contre les larves de *P. archon*. A ce jour, aucune tentative de lutte à l'aide de parasitoïdes ou prédateur n'a été mise en place.

Depuis 2006, un autre ravageur des palmiers a été identifié : le Charançon Rouge du Palmier, *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier). Ce coléoptère ravage pour le moment principalement les

Phoenix canariensis. Cependant, une forte présence du papillon *P. archon* dans le pourtour méditerranéen pourrait augmenter les attaques des autres palmiers dont les *Chamaerops humilis*, les *Trachycarpus fortunei* ou les *Washingtonia filifera* par le charançon. Les différents traitements biologiques déjà existants (les nématodes *Steinernema carrycapsae*, les champignons *Beauveria bassiana*, …) sont difficilement applicables dans des milieux ouverts comme les espaces verts à cause de l'obligation d'interdire l'accès des zones traitées pendant au minimum six heures, et sont difficilement utilisables sur certains hauts palmiers. De plus, plusieurs applications sont nécessaires au cours de l'année, surtout en cas de forte chaleur (*S. carrycapsae*), et différentes souches doivent être utilisées pour les différents ravageurs (*B. bassiana*). Ces méthodes sont alors insuffisantes à elles-seules, et nécessitent l'utilisation d'une méthode complémentaire pour pouvoir lutter contre le papillon du palmier, et limiter également la propagation du charançon rouge.

Lors du projet Européen PalmProtect (2012-2014) (http://www.palmprotect.eu) (Rochat *et al.,* 2013), l'UEFM de l'INRA, spécialisée dans le biocontrôle des lépidoptères ravageurs des forêts et zones urbaines, a déjà montré une efficacité des parasitoïdes oophages sur les œufs de *Paysandisia archon*, en laboratoire. Ils ont montré notamment qu'un parasitoïde oophage seul (*Trichogramma*) est capable de tuer un œuf de *P. archon* (Ferrero *et al.,* 2015). La lutte biologique est alors envisageable pour ce ravageur.

L'objectif général du projet BioPalme 2018 est de contrôler la présence de *P. archon* par l'utilisation d'auxiliaires comme les parasitoïdes oophages, les stades œufs des ravageurs étant externes, dans le but de réduire les dommages sur les palmiers. Dans le cadre de ce projet, deux objectifs scientifiques ont été mis en place comprenant des expérimentations en laboratoire, ainsi que des essais *in situ* dans les villes d'Antibes et de Marseille. Le premier objectif du projet est de tester plusieurs souches et espèces de parasitoïdes oophages (PO) et d'évaluer leur capacité à parasiter et à tuer les œufs de *Paysandisia archon* sur des palmiers en laboratoire. Le second objectif est de vérifier l'action des souches de PO à Antibes et Marseille sur le terrain, et de mettre en application la stratégie établie en laboratoire.

Matériel et Méthodes

Elevage des parasitoïdes oophages

Trois espèces de *Trichogramma* et deux espèces d'*Ooencyrtus* ont été sélectionnées d'une part sur les précédents résultats du projet PalmProtect (Cabrol, 2014), et d'autre part sur des critères de morphologie, de physiologie et de dispersion des parasitoïdes. Les méthodes d'élevage des *Trichogramma* et des *Ooencyrtus* ne sont pas les mêmes car ces espèces possèdent toutes deux des cycles de développement différents. Les *Trichogramma*, qui proviennent du souchier de l'INRA de Sophia-Antipolis, sont élevés sur des œufs d'*Ephestia kuehniella* et ont un cycle de vie de 10 jours (± 1 jour selon les souches) à 25°C (Colombel *et al.*, 2017). Les *Ooencyrtus* sont élevés sur des œufs de *Philosamia ricini* et ont un cycle de vie de 18 jours (± 5 jours) à 25°C. Les élevages sont réalisés dans des tubes miellés (longueur : 7cm, diamètre : 1cm) disposés dans une étuve à 25°C ± 1°C avec une humidité relative de 75% ± 10% et une photopériode de 16L:8D (16 heures de jour : 8 heures de nuit). En sortie de production, un contrôle de qualité a été régulièrement effectué (vérification du pourcentage d'émergence et sex-ratio des parasitoïdes).

Expérimentation en mésocosme

L'objectif de cette expérimentation est d'évaluer à la fois l'efficacité des parasitoïdes à parasiter ou tuer les œufs de *P. archon* ainsi que leur capacité à se disperser dans des structures complexes telles les palmiers. 800 œufs sont disposés sur des palmiers *Washingtonia filifera* placés en mésocosme (température 25 ± 2°C, humidité relative 75 ± 5%, photopériode 16L : 8D). Les œufs sont placés à cinq positions différentes sur le stipe du palmier (**Figure 1**) et les

PO sont lâchés au pied du stipe du palmier. Sur chaque position, 5 œufs sont positionnés, représentant un total de 25 œufs par palmier. Les différentes positions correspondent à un gradient de distance depuis le point du lâcher : la position A est la plus loin du point de lâcher, la position B est un peu moins éloignée, les positions C et D sont intermédiaires, et la position E est la plus proche du point de lâcher.

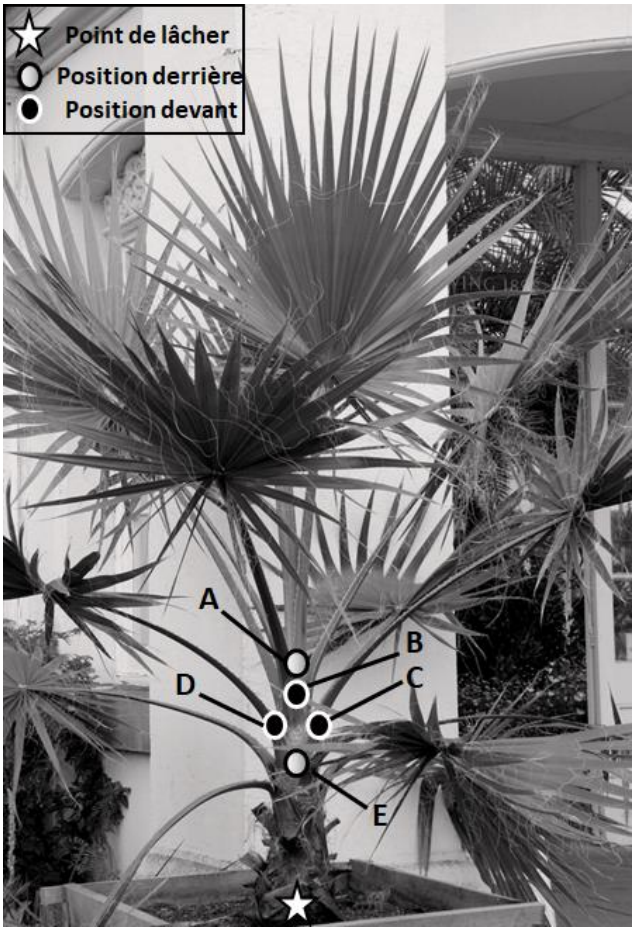

Figure 1 : Photo de l'expérimentation de la dispersion des parasitoïdes oophages sur des œufs de *Paysandisia archon* sur palmiers en mésocosme.

Sept lâchers de trois souches de *Trichogramma* (dont les noms de code sont T, Ri et Z) et de deux espèces d'*Ooencyrtus* (*Ooencyrtus kuvanae* et *Ooencyrtus pityocampae*) sont effectuées sur les palmiers qui portaient les œufs de *P. archon*, durant la période estivale, de juin à septembre. 100 individus équivalent femelle *Trichogramma* et 18 individus équivalent femelle *Ooencyrtus* sont lâchés respectivement sur un palmier. Chaque espèce reste pendant 3 jours au contact des œufs. Les œufs sont ensuite récupérés et mis en développement à 25°C. Pour chaque lâcher, entre 7 et 20 œufs n'ayant pas été mis en contact avec les PO sont utilisés comme témoin, et également placés à 25°C. Les tubes sont régulièrement contrôlés pour surveiller le virement de la couleur des œufs ou une éventuelle sortie de larve de *P. archon*. Après 3 semaines pour les *Trichogramma* et 1 mois pour *Ooencyrtus*, l'aspect morphologique ainsi que la couleur des œufs ont été analysés (gris : œuf parasité ; orange : œuf avorté ; blanc : larve sortie). Les œufs dont aucune larve n'est sortie sont ensuite disséqués pour vérifier la nature avortée ou parasitée de l'œuf.

Plusieurs variables sont étudiées pour cette expérimentation : le pourcentage d'éclosion des œufs (i.e., larve sortie de l'œuf), le pourcentage d'avortement des œufs (i.e., aucune sortie de larve), le pourcentage de parasitisme des œufs (i.e., aucune sortie de larve + embryon de parasite dans l'œuf), et l'efficacité globale (pourcentage d'avortement + pourcentage de parasitisme).

Expérimentation sur le terrain

Les expérimentations *in situ* sont effectuées sur 3 parcs présents dans deux villes qui contiennent des *Chamaerops humilis* et des *Trachycarpus fortunei* infestés par *P. archon* : le parc Pauline à Juan les Pins (43°34' N, 7°06' E, 8m. a.s.l.), le parc Borely à Marseille (43°15' N, 5°23' E, 6m a.s.l.), et le parc Valmer à Marseille (43°16' N, 5°21' E, 33 m a.s.l.).

Le premier lâcher de 1000 individus équivalent femelle *Trichogramma* et de 50 individus équivalent femelle *Ooencyrtus* est effectué dès la détection des premiers vols de papillons, à savoir le 28 juin 2018 pour le parc Pauline, et le 12 juillet 2018 pour les parcs Borely et Valmer. Par la suite, des lâchers sont effectués toutes les semaines. Suite aux lâchers hebdomadaires, les œufs de *Paysandisia archon* sont récupérés tous les 15 jours au début des vols puis toutes les semaines à partir du pic de vol des papillons (le 25 juillet 2018), et sont mis à incuber en

laboratoire. Les œufs éclos, avortés ou parasités sont comptés respectivement pour chaque espèce, chaque date et chaque site.

Plusieurs variables ont été étudiées pour cette expérimentation : d'une part le nombre d'œufs vides (œufs trouvés vides sur le palmier), le nombre d'œufs éclos (œufs trouvés pleins sur le palmier et ayant éclos au laboratoire), le nombre d'œufs avortés (œufs trouvés pleins sur le palmier et n'ayant pas éclos au laboratoire) ; et d'autre part le pourcentage d'éclosion, le pourcentage d'avortement, et le % de parasitisme.

Résultats

Expérimentation en mésocosme

Les souches *Trichogramma* T et *O. kuvanae* ont parasité un et deux œufs de *P. archon*, respectivement (**Figure 2**). De plus, ce sont les deux souches qui présentent les taux d'avortement les plus élevés, bien que pas significatif (pvalue=0.26). Les efficacités globales de toutes les souches de parasitoïdes, sauf celle de la souche *Trichogramma* Ri, sont supérieures à l'efficacité globale du témoin (40 ± 1.7%), mais pas de manière significative (pvalue=0.26). Le taux d'avortement des œufs témoins très élevé nous pose question.

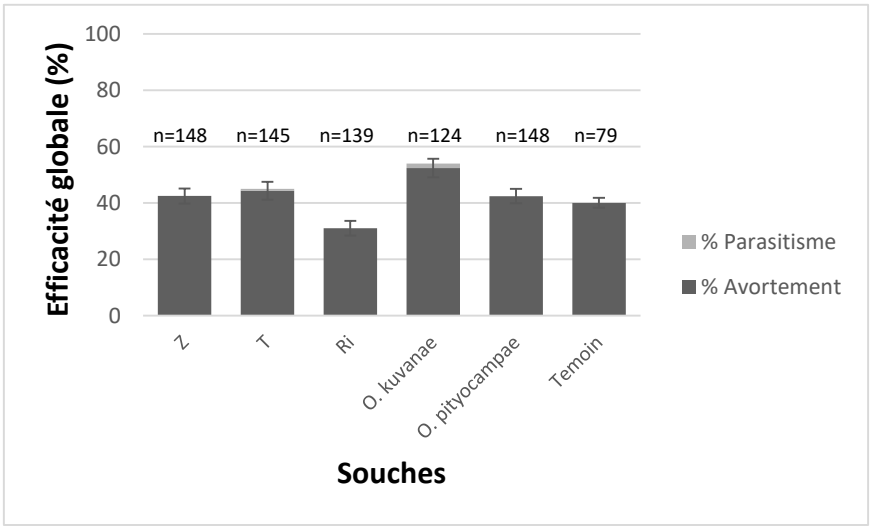

Figure 2 : Histogramme représentant le taux d'efficacité globale détaillée (% de parasitisme en gris clair + % d'avortement en gris foncé) des différentes souches de parasitoïdes oophages lâchées en mésocosme sur les œufs de *P. archon*, ainsi que le témoin (moyenne + erreur standard). Le nombre de répétitions pour chaque souche est indiqué au-dessus (n=x).

Il n'y a pas de différence significative d'efficacité globale des souches entre les différentes positions des œufs sur le palmier (données non présentées). La position de l'œuf sur le palmier n'a pas d'effet sur l'efficacité des parasitoïdes. Cependant, différentes tendances peuvent être mises en évidence entre les parasitoïdes. Il semble que les *Trichogramma* vont visiter différemment les positions, en allant plus visiter les œufs sur les positions C et D (dans le milieu du palmier), et moins visiter les œufs sur la position B (dans le haut du palmier), tandis que les *Ooencyrtus* visitent plus largement toutes les positions du palmier. De plus, les œufs parasités étaient disposés sur la position E pour la souche *Trichogramma* T (la position la plus proche du lâcher), et sur la position B pour la souche *Ooencyrtus kuvanae* (une position assez éloignée du lâcher).

Expérimentation in situ

Le nombre d'œufs trouvés sur le terrain évolue au cours du temps avec un rythme propre aux trois parcs (données non présentées). Bien qu'en faible nombre, certains œufs récoltés sur le terrain sont des œufs avortés. Aucun œuf du terrain n'a été parasité. La quantité d'œufs vides trouvés sur le terrain est élevée, et de nombreux œufs ont éclos en laboratoire.

Le pourcentage d'éclosion des œufs n'est significativement pas différent entre les souches et le témoin (p=0.6). Il est relativement élevé pour toutes les souches ainsi que pour le témoin (**Figure 3**). La souche *O. pityocampae* présente un taux d'avortement significativement

supérieur (15.62 ± 20.3% A) à la souche *O. kuvanae* (0 ± 0% B) ($p<0.05$), tandis que les autres souches ont un taux d'avortement intermédiaire et sans différence significative. La souche *Trichogramma* T présente un taux d'avortement plus élevé que les autres *Trichogramma* (8.3 ± 12.7%), bien que pas significatif. Le taux d'avortement observé pour les œufs témoins est en revanche très faible (0.63 ± 2.5%). Ce résultat est à mettre en parallèle avec les résultats du mésocosme.

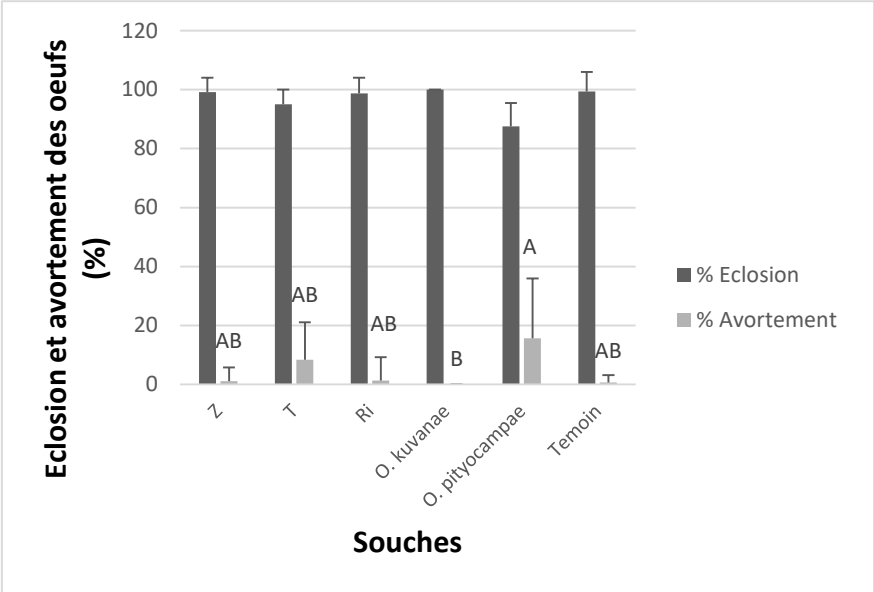

Figure 3 : Histogramme représentant le pourcentage d'éclosion (en gris foncé) ainsi que le pourcentage d'avortement (en clair) des différentes souches de parasitoïdes oophages lâchées sur le terrain, ainsi que le témoin (moyenne + erreur standard). Les moyennes suivies de différentes lettres sont significativement différentes (analyse de variance suivie d'un test post hoc de Tukey, pvalue<0.05).

Discussion

Les expérimentations en mésocosme, qui se déroulent en conditions semi-naturelles, nous permettent de simuler des lâchers de parasitoïdes oophages sur des œufs de *P. archon* sur des palmiers, ce qui constitue des expérimentations plus représentatives de la réalité. Bien que les taux d'avortement des œufs mis en contact avec les souches de parasitoïdes soient plus élevés que celui du témoin, ils ne sont significativement pas différents. Sur le terrain, le taux d'avortement des œufs présents sur les palmiers témoins est quant à lui très faible (0.6%). Cela nous confirme donc la présence d'un problème d'avortement de nos œufs témoins en mésocosme. En effet, il semble plus cohérent que le taux d'avortement naturel soit en dessous de 5% vu l'efficacité et la rapidité de l'infestation de *Paysandisia archon* en milieu naturel. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce fort taux d'avortement en mésocosme : H1, les œufs de *P. archon* récupérés n'ont pas tous été fécondés, *i.e.,* les femelles qui ont pondu les œufs n'étaient pas accouplées, diminuant ainsi fortement le taux d'éclosion des œufs ; H2, les conditions de stockage des œufs de *P. archon* (température, humidité…) ont pu augmenter la mortalité des larves et engendrer de l'avortement. Nous ne sommes alors pas en mesure de savoir si le taux d'avortement des œufs mis en contact avec les PO est lié à une tentative de ponte ratée ou une consommation « host feeding » par les femelles parasitoïdes (piqûre nutritionnelle) (Tabone *et al.*, 2013) ou un avortement non lié aux PO. Une étude de l'avortement des œufs de *P. archon* serait utile pour améliorer la compréhension et nos résultats sur l'efficacité des parasitoïdes.

Deux souches ont réussi à parasiter les œufs de *P. archon* : les souches *Trichogramma* T et *O. kuvanae.* Pour le genre *Ooencyrtus*, c'est la première fois qu'il est testé en mésocosme avec une observation d'œufs parasités pour l'espèce *O. kuvanae*. Ce résultat reste encourageant pour la suite des expérimentations. Plusieurs hypothèses pourraient expliquer le faible nombre d'œufs parasités par les PO : la fécondité des œufs n'étant pas sûre, on peut se demander si les œufs non fécondés ne seraient pas moins attractifs que des œufs fécondés pour les PO ; le

nombre de PO lâchés n'est pas assez important ; le temps d'exposition des œufs aux PO est peut-être trop court (seulement 3 jours). En augmentant la durée d'exposition, il est possible que les parasitoïdes aient plus de temps pour leurs activités de recherche et de ponte (Tunca *et al.*, 2016). En plus d'avoir parasité des œufs de *P. archon*, la souche *O. kuvanae* semble avoir le meilleur taux d'efficacité globale. Ce résultat pourrait être lié à sa morphologie, puisque sa taille ainsi que la taille de son ovipositeur sont plus gros comparé aux *Trichogramma*. De plus, ce résultat pourrait être lié à son élevage puisqu'il est habitué à pondre sur des œufs de *Philosamia ricini*, qui sont plus gros que ceux *d'Ephestia kuehniella* sur lesquels les *Trichogramma* sont élevés.

Lors de nos essais sur le terrain, nous avons mis en évidence le fait qu'il n'y ait pas de période plus favorable qu'une autre pour trouver les œufs au cours de la saison estivale. Ces résultats nous montrent aussi l'importance de prendre en considération la localisation, ainsi que les conditions climatiques des parcs puisque le nombre d'œufs trouvés varie en fonction du temps et des sites. Dans nos conditions d'expérimentation, aucun œuf récupéré sur le terrain n'a été parasité par nos PO. En revanche, nous avons observé de l'avortement sur les œufs de *P. archon*, en contact avec toutes les espèces de parasitoïdes lâchés, à l'exception de *O. kuvanae*. Les souches de *Trichogramma* T et *O. pityocampae* sont les espèces ayant donné le taux d'avortement le plus élevé.

Les premiers résultats obtenus au cours de ces différentes expérimentations sont encourageants et montrent déjà la faisabilité d'une lutte biologique à l'aide de PO sur *P. archon*. Il est nécessaire de continuer les expérimentations en mésocosme et sur le terrain afin d'améliorer les paramètres de lâchers des parasitoïdes dans le but d'obtenir plus de résultats favorables. Les essais en conditions semi-naturelles restent une étape importante dans la compréhension de l'activité de recherche et d'attaque des œufs du parasitoïde oophage. Les essais avec le genre *Ooencyrtus* ont montré que cette espèce de taille plus grande est à même de parasiter et de tuer les œufs de *P. archon*, et semble avoir une dispersion plus efficace que les *Trichogramma*. Pour les futurs essais, il serait intéressant de travailler sur d'autres espèces de parasitoïdes oophages et sur des prédateurs des œufs et des larves, ainsi que sur la recherche de parasitoïdes naturels.

Remerciements

Nous remercions le Conseil Régional pour les financements accordés.

Références bibliographiques

Besse-Millet, S., Bonhomme, A., Panchaud, K. (2008). Efficacy of a *Beauveria bassiana* (Vuillemin) strain against the Castniid palm borer *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880) under laboratory and natural conditions. *IOBC/wprs Bulletin*, 31, 216–219.

Cabrol, B., (2014). Lutte biologique contre le ravageur du palmier *Paysandisia archon* à l'aide de parasitoides oophages (Master 2).

Colombel, E., Venard, M., Tabone, E. (2017). Technique d'élevage des trichogrammes. Cahier des techniques INRA, Entomologie, Chapitre 2, Article 9.

Delle-Vedove, R., Beaudoin-Ollivier, L., Hossaert McKey, M., Frerot, B. (2012). Reproductive biology of the palm borer, *Paysandisia archon* (Lepidoptera: Castniidae). *European Journal of Entomology*, 109, 289–292.

European and Mediterranean plant protection organization (2011). *Paysandisia archon*. *Bulletin OEPP/ EPPO*, 41, 363–368.

Ferrero, E., Fourcade, A., Colomben, E., Venard, M., Buradino, M., Ollivier, L., Tabone, E. (2015). Un parasitoïde oophage pour contrôler Paysandisia archon (Burmeister, 1880) (Lepidoptera : Castniidae) : Le Trichogramme. Premier succès en laboratoire. *Entolomologie Faunistique*. 68, 195–201.

Frérot, B., Delle-Vedove, R., Beaudoin-Ollivier, L., Zagatti, P., Ducrot, P. H., Grison, C., ... & Petit, E. (2013). Fragrant legs in Paysandisia archon males (Lepidoptera, Castniidae). *Chemoecology*, 23, 137–142.

Montagud, A. (2004). *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880) (Lepidoptera, Castniidae), new localities from the Iberian Peninsula and its control. *Boletin de la SEA*, 34, 237–246.

Nardi, S., Ricci, E., Lozzi, R., Marozzi, F., Ladurner, E., Chiabrando, F., ... & Riolo, P. (2009). Use of entomopathogenic nematodes for the control of Paysandisia archon Burmeister. *IOBC/wprs Bulletin*, 45, 375–378.

Rochat, D., Ollivier, L., Zakour, R. B., Bonnet, A., Christian, C. C., Colombel, E., ... & Hanot, C. (2013). Palm Protect, an European applied research action devoted to palm borer pests. In *Colloque méditerranéen sur les ravageurs des palmiers, Nice, France, 16-18 Janvier 2013*. Association Française de Protection des Plantes (AFPP).

Sarto i Monteys V., Aguilar L. (2005). The Castniid Palm Borer, *Paysandisia archon* (Burmeister, 1880), in Europe: Comparative biology, pest status and possible control methods (Lepidoptera: Castniidae). *Nachrichten des Entomologischen Vereins Apollo,* 26, 61–94.

Sarto i Monteys V., Acin P., Rosell G., Quero C., Jiménez M.A. et Guerrero A. (2012). Moths Behaving like Butterflies. Evolutionary Loss of Long Range Attractant Pheromones in Castniid Moths: A *Paysandisia archon* Model. *Plos ONE,* 7, 1–11.

Tabone, E., Buradino, M., Colombel, E., Salignon, M., Fourcade, A., Ganivet, J., Martin, J.-C., (2013). Un parasitoide oophage pour contrôler Paysandisia archon (Burmeister) : Le trichogramme. Presented at the 3e conférence sur l'entretien des espaces verts, jardins, gazons, forêts, zones aquatiques et autres zones non agricoles, AFFPP, Toulouse, France, pp. 235–244.

Tunca, H., Colombel, E., Ben Soussan, T., Buradino, M., Galio, F., Tabone, E., (2016). Optimal biological parameters for rearing Ooencyrtus pityocampae on the new laboratory host Philosamia ricini. *Journal of Applied Entomology*, 140, 527–535.