



Un nouvel auxiliaire pour une lutte biologique contre la sésamie du maïs : essais en serre

Taiadjana Fortuna, Ignacio Ruiz, Jean Manson, Rémi Jeannette, Alain
Peyhorgue, Jean-Baptiste Thibord, Laure Kaiser

► To cite this version:

Taiadjana Fortuna, Ignacio Ruiz, Jean Manson, Rémi Jeannette, Alain Peyhorgue, et al.. Un nouvel auxiliaire pour une lutte biologique contre la sésamie du maïs : essais en serre. Phloeme 2022, Nov 2022, Paris, France. pp.65-73. hal-03863195

HAL Id: hal-03863195

<https://cnrs.hal.science/hal-03863195>

Submitted on 23 Jan 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Un nouvel auxiliaire pour une lutte biologique contre la sésamie du maïs : essais en serre

Fortuna T.M. (1), Ruiz I. (2), Manson J. (1), Jeannette R. (1), Peyhorgue A. (2), Thibord J.B. (2), Kaiser L. (1)

(1) Evolution, Génomes, Comportement et Ecologie, UMR U. Paris-Saclay-CNRS-IRD, Gif-sur-Yvette, France

(2) ARVALIS Institut du Végétal, Agrosite, Montardon, France

taiadjana.marquesfortuna@ird.fr

Résumé

Une nouvelle espèce d'Hyménoptère parasitoïde, *Cotesia typhae* a été décrite au Kenya comme strictement spécialisée sur *Sesamia nonagrioides*, la sésamie du maïs en Europe. En France ce ravageur pose de nouveaux enjeux sanitaires suite à son expansion vers le nord du pays et l'absence de méthodes de biocontrôle contre la deuxième génération. La possibilité d'utiliser *C. typhae* en France comme agent de lutte biologique contre la sésamie est à l'étude. Dans ce contexte quatre essais d'efficacité ont été menés en serre. Les deux premiers avaient pour objectifs d'estimer l'efficacité immédiate d'un lâcher en fonction de la température et de la dose de parasitoïdes. Ils ont montré que le parasitoïde était actif entre 15 et 25°C et que le taux de parasitisme des chenilles dépendait de la dose de parasitoïdes introduits. Un troisième puis un quatrième essai ont été réalisés pour évaluer l'efficacité à plus long terme. L'essai n°3 a montré qu'une seule introduction du parasitoïde à différents stades suffisait à obtenir un taux de parasitisme stable de 58% en moyenne pendant les trois mois et demi de l'essai, au cours duquel s'est développée une génération de sésamie. Un protocole amélioré pour l'essai n°4 a permis de supprimer en presque totalité la population de sésamies par *C. typhae* sur la même durée. L'action prolongée de *C. typhae* observée après un seul lâcher est très encourageante.

Greenhouse assessment of the efficiency of a new biocontrol agent against the Mediterranean corn borer

Abstract

A new hymenopteran parasitoid species, *Cotesia typhae* has been described in Kenya as strictly specialised on *Sesamia nonagrioides*, the Mediterranean corn borer. In France, the control of this pest faces new challenges due to its expansion towards the north and the lack of biocontrol methods against the second generation of the insect. The possibility of using *C. typhae* in France as biocontrol agent against *S. nonagrioides* is being investigated. Four greenhouse experiments have been conducted to test the parasitoid efficiency. The first two trials aimed at estimating immediate post-release efficiency depending on the temperature and the parasitoid density. Results showed that the parasitoid was active between 15 and 25°C and the parasitism rate varied with the density of parasitoids released. A third and a fourth trial was conducted to evaluate long term efficiency. The third trial showed that one release of the parasitoid at mixed developmental stages allowed a stable parasitism rate of 58% in average along 3,5 months, during which one generation of *S. nonagrioides* has developed. An improved protocole used for the fourth trial resulted in an almost full suppression of the pest by *C. typhae* over the same duration. Long lasting activity of *C. typhae* following a single release is very encouraging.

INTRODUCTION

La sésamie du maïs, *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lepidoptera, Noctuidae), est un papillon de nuit dont les chenilles se nourrissent à l'intérieur des tiges (et épis) de plantes sauvages et cultivées appartenant principalement aux familles des Poaceae, Typhaceae et Cyperaceae. Originaire d'Afrique sub-saharienne où elle se développe principalement sur des plantes sauvages, elle a gagné la zone paléarctique pendant le dernier épisode interglaciaire, il y a environ -178 000 ans (Kergoat *et al.* 2015). On la trouve actuellement dans les pays du pourtour Méditerranéen et jusqu'à l'Iran vers l'Est (CABI 2021). C'est un important ravageur du maïs du Portugal à la Grèce, et de la canne à sucre plus à l'Est. Dans la zone paléarctique la sésamie hiverne au stade de chenille puis deux générations se succèdent sur le maïs. En France, c'est le troisième ravageur du maïs après le taupin et la pyrale du maïs (Thibord 2017). Présente principalement dans le bassin d'Aquitaine et en basse vallée du Rhône, elle s'étend vers le nord le long de la côte Atlantique depuis les années 90 (Rousseau 2009) et occasionne maintenant des traitements jusque dans le Maine-Anjou. Elle entraîne actuellement des pertes estimées à plus de 300 000 tonnes en France, causées par deux mécanismes. Ce ravageur provoque d'une part une diminution du nombre d'épis produits à cause du tallage des jeunes plantes suite à la consommation du méristème apical par les chenilles de 1^{ère} génération, et en raison de la casse précoce des tiges. D'autre part la qualité du maïs est altérée car l'activité des chenilles favorise le développement de champignons pathogènes *Fusarium*, susceptibles de produire des fumonisines toxiques pour le système digestif de l'homme et du bétail. Le maïs transgénique *Bt* est efficace, mais n'est pas autorisé en France. Dans notre pays, la lutte contre la sésamie est essentiellement basée sur des méthodes prophylactiques grâce au broyage des résidus de cultures de maïs. Dans les situations fortement infestées, il est possible de réaliser une lutte directe en végétation à l'aide de solutions phytopharmaceutiques conventionnelles (famille des pyréthrinoides ou diamides) ou de biocontrôle (substance active : spinosad). Cependant, les solutions utilisables pour protéger le maïs contre la 2^{ème} génération de sésamie sont limitées pour raisons réglementaires. Par ailleurs, l'absence de solution à base de macro-organismes efficace contre la sésamie est un frein à l'utilisation des trichogrammes dont l'action cible uniquement la pyrale du maïs et dont l'intérêt est limité lorsque les deux ravageurs sont présents. Disposer d'un agent de lutte biologique dès la première génération de la sésamie et qui se reproduise au champ afin d'agir également sur la seconde génération permettrait d'améliorer la protection du maïs contre ce ravageur.

Comme souvent en grande culture, les ennemis naturels autochtones ne suffisent pas à empêcher l'explosion des insectes ravageurs. C'est le cas pour les sésamies, dont les principaux insectes parasitoïdes sont des mouches tachinaires qui en moyenne entraînent 8% de mortalité des chenilles (Grenier *et al.* 1990). Une solution classique est de rechercher des ennemis naturels dans la zone d'origine pour les acclimater ou les utiliser en lâchers réguliers.

Un échantillonnage de *Sesamia nonagrioides* dans 11 pays d'Afrique sub-saharienne a permis d'identifier dans l'Est (Ethiopie, Kenya, Tanzanie) une nouvelle espèce d'Hyménoptère parasitoïde de ses chenilles, *Cotesia typhae*, membre du complexe d'espèces sœurs, *Cotesia flavipes*. Une étude de la diversité écologique et génétique du complexe a établi que la nouvelle espèce s'était formée suite à une stricte spécialisation sur la sésamie, lorsque celle-ci se développait sur des plantes du genre *Typha* (nom vernaculaire : massette) (Kaiser *et al.* 2015). *C. typhae* a été caractérisée par diagnostic taxonomique et moléculaire, pour sa niche écologique et son taux de parasitisme de *S. nonagrioides* en milieu naturel (Kaiser *et al.* 2017). Elle est apparue comme une espèce intéressante comme agent de lutte biologique contre la sésamie en Europe, en raison de sa spécificité, de nature à limiter l'impact sur des espèces non-cibles, et parce que l'espèce *C. flavipes* est utilisée à grande échelle comme agent de lutte biologique contre des chenilles foreuses de tiges de canne à sucre (Dinardo-Miranda *et al.* 2014). Plusieurs populations kényanes de *C. typhae* ont été testées contre des populations françaises et italienne de sésamies, et le taux de chenilles parasitées avec succès par les parasitoïdes de l'Ouest du Kenya a été de 75 à 95% (Benoist *et al.* 2017 ; 2020). L'élevage d'une souche prometteuse (localité de Kobodo, aux abords du lac Victoria) a permis de caractériser son potentiel de reproduction sur une souche française de sésamie et plusieurs facteurs du succès reproducteur. L'étape suivante était de caractériser l'efficacité de parasitisme in planta et à plus grande échelle que le laboratoire. Cela ne pouvait se faire qu'en serres « pollen proof » car depuis 2012, l'introduction dans l'environnement français de macro-organismes non-indigènes utiles à la protection des plantes requiert une autorisation délivrée sur la base d'une estimation des risques (environnementaux) et des bénéfices (Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et de la Forêt 2012). Une étude est en cours sur les effets potentiels de *C. typhae* sur les espèces non cibles identifiées en France et sur sa sensibilité aux températures hivernales. Les résultats déjà acquis permettent d'espérer un impact environnemental négatif très faible et un bilan environnemental positif par la possibilité de réduire l'utilisation d'insecticides à large spectre.

Quatre essais d'efficacité de parasitisme ont été conduits dans les serres du site Arvalis de Pau-Montardon en automne-hiver 2018, 2019, 2020-21 et 2021-22, et les principaux résultats sont présentés dans cet article. Les deux premiers essais avaient pour objectif d'estimer l'efficacité immédiate d'un lâcher de parasitoïdes, et les troisième et quatrième, l'efficacité d'un seul lâcher sur une voire deux générations de sésamies dans la serre.

1. MATERIEL ET METHODES

Le principe a été de créer un peuplement de maïs en pots, de les infester manuellement par différents stades de sésamies en nombre contrôlé, et après quelques jours d'installation dans les maïs, d'introduire le parasitoïde à des stades et en nombre contrôlés. L'estimation du pourcentage de chenilles parasitées s'est faite en prélevant les chenilles par dissection du maïs, soit de tous les maïs environ une

semaine après leur introduction pour les essais d'estimation d'efficacité immédiate du parasitoïde, soit d'un échantillonnage toutes les 2 ou 3 semaines (essai n°3) ou à la fin de l'essai (essai n°4) pendant 3,5 mois pour les essais d'estimation à long terme. Les chenilles exposées ont été collectées pour y être suivies afin d'observer leur devenir, à savoir la production de parasitoïdes et la mort ultérieure de la chenille, ou bien la formation d'une chrysalide, ou bien la mort de la chenille sans production de parasitoïdes. A chaque essai, deux compartiments de serre ont été utilisés, ce qui a permis de comparer différentes plages de températures au 1^{er} essai d'efficacité immédiate, puis différentes quantités de *Cotesia* au second, et de comparer les situations avec ou sans *Cotesia* pour les essais d'efficacité à plus long terme. Les paramètres qui ont varié entre les quatre essais sont indiqués dans le tableau 1. Les essais courts ont été réalisés en novembre 2018 puis 2019, et les essais longs entre novembre et mars, en 2020-2021 et 2021-2022. Ainsi, des *C. typhae* éventuellement échappées de la serre n'auraient eu aucune chance de se reproduire. Afin de vérifier l'absence d'échappement, des pièges jaunes englués ont été disposés à l'intérieur de la serre dans l'unité servant de sas, et à l'extérieur tout autour de la serre. Aucun *C. typhae* n'a été observé dans ces pièges.

1.1. Serres

La serre du site Arvalis de Montardon est constituée de 4 unités de 96 m² disposées en enfilade. Cette serre est équipée et organisée pour un fonctionnement en confinement de niveau S2 (contrôle de la dissémination du pollen et des graines). Les expérimentations ont été menées dans les unités 3 et 4, la seconde servant de sas. Ces unités sont appelées « serres » dans la suite du texte. La durée de l'éclairage a simulé des photopériodes printanières ou estivales pour favoriser le développement des plantes et l'activité des parasitoïdes. La température a été réglée sur une valeur plus fraîche la nuit que le jour (tableau 1). En cas d'ensoleillement les températures réelles excédaient les températures de consigne.

1.2. Maïs

En serre la croissance du maïs peut se faire en hauteur au détriment du diamètre des tiges, or celui-ci est important pour une bonne installation des chenilles. Pour prévenir ce problème, des variétés tardives ont été utilisées (tableau 1). Un arrosage manuel trois fois par semaine a permis maintenir chaque pied de maïs dans la zone de confort hydrique et sans excès d'eau, et de maintenir une hygrométrie relative de plus de 50%, les valeurs élevées favorisant le développement de la sésamie et la longévité des parasitoïdes. Pour les quatre essais, dans chaque serre, 240 pieds ont été répartis en 4 blocs de 60 plantes disposées en 6 rangs de 10 plantes (espace de 35 cm tous les deux rangs, Figure 1). Le nombre de feuilles a été compté au moment du dépôt des sésamies. Lors des essais d'efficacité à court terme, 15 plantes par bloc ont été mises sous manchon (maille < 0,5 mm de côté, Figure 1) après le dépôt des sésamies, pour empêcher l'accès des *Cotesia* et avoir ainsi des plantes « non traitées ».



Figure 1 Peuplement expérimental du maïs pour les essais à court terme (en haut) et à long terme (en bas).

1.3. Sésamie

Les sésamies ont été produites au laboratoire de Gif-sur-Yvette, où est élevée une souche de sésamies issues de plusieurs départements du sud-ouest de la France (31, 33, 40, 46, 64, 82) et bénéficiant chaque année d'un apport d'individus collectés au champ. Les insectes sont élevés sur milieu nutritif selon une procédure décrite dans Benoist et al. 2017. Au laboratoire le développement compte 6 stades larvaires et les chrysalides se forment en 5-6 semaines à 26°C. Selon les essais, des stades allant de l'œuf à la chrysalide ont été déposés sur les maïs. Pour estimer l'efficacité immédiate du parasitoïde, les stades de sésamie les plus propices à son développement ont été utilisés (3^e au 5^e stade appelés L3, L4 et L5) ; pour estimer l'efficacité à plus long terme, nous avons mélangé des stades afin de simuler un peuplement observable en cours de vol de la 1^{ère} génération de sésamie (soit œufs à L5, soit chrysalide à L3). La définition du stade larvaire a été faite d'après le nombre de jours de développement depuis l'éclosion des œufs. Les stades et nombre déposés sont précisés dans le tableau 1. Les jeunes stades ont été déposés dans le cornet des plantes et les stades plus âgés (L4-L5) à la base de feuilles basses, à proximité de galeries forées manuellement pour faciliter l'entrée dans la tige. Les chrysalides ont été déposées sur vermiculite humidifiée dans un récipient placé au milieu des 4 blocs de chaque serre.

1.4. Cotesia

Les *Cotesia typhae* ont été produites au laboratoire de Gif-sur-Yvette, où est élevée une souche issue de la localité de

Kobodo à l'Ouest du Kenya (0.679S, 34.412E), collectée en 2013 et ayant bénéficié d'un apport d'individus collectés au champ en juillet de 2019. Les éléments suivants de sa biologie sont importants pour la conduite de l'essai et l'interprétation des résultats. Ces insectes sont diurnes. Les adultes émergent de leur cocon de nymphose le matin, s'accouplent, pondent et ne vivent que quelques jours (Kaiser *et al.* 2017). Chez une espèce proche, la distance la plus probable de dispersion est dans un rayon de 15m à partir du point de lâcher (Sallam *et al.* 2001). Les femelles peuvent commencer à pondre quelques heures après l'après-midi de leur naissance. Elles sont attirées par l'odeur des maïs infestés par les chenilles et pénètrent dans les galeries. Dès le contact avec la chenille, la femelle parasitoïde y injecte plusieurs dizaines d'œufs. En raison des défenses de la chenille, il a été estimé chez une espèce proche que 50% des femelles ressortaient vivantes de la galerie après avoir pondu (Potting *et al.* 1997). La seconde ponte a lieu plus probablement le lendemain. Au laboratoire une 3^è ponte peut être observée mais aboutit plus rarement au développement des parasitoïdes. Ainsi on estime qu'une femelle *Cotesia* peut parasiter une ou deux chenilles au cours de son existence. Dans nos conditions d'élevage, une chenille permet la production d'environ 70 adultes dont 69% de femelles en moyenne (Benoist *et al.* 2017, Gedor 2019), mais ce sexe ratio est variable. A 27°C et 60% RH, la durée du développement des larves parasites est de 12j, puis elles sortent individuellement de la chenille en perforant sa cuticule et tissent leur cocon de nymphose immédiatement après sans s'éloigner du corps de la chenille, qui se retrouve alors entourée d'une « masse » de cocons. Ce mode de parasitisme est mortel pour la chenille. Le développement nymphal dure 6j à 27°C. Dans la serre, pour les deux essais d'estimation de l'efficacité immédiate de *C. typhae*, les cocons ont été déposés un jour avant l'émergence des adultes, dans de petites barquettes alimentaires pourvues d'une boule de coton mouillée et de gouttelettes de miel, avec un orifice de sortie. Pour les essais d'efficacité à long terme, un mélange d'adulte et de cocons en début et fin de nymphose a été déposé, dans le but de maximiser la durée d'activité des parasitoïdes introduits dans la serre. Les barquettes ont été déposées au milieu de chaque bloc. Le nombre et stades d'insectes déposés est précisé dans le tableau 1. Le nombre de cocons a été établi de façon à avoir 1 à 2 femelles par chenilles, sauf dans une modalité du 2^è essai, où la dose était double.

Pour chaque essai le nombre d'adultes *C. typhae* introduits dans la serre a été déterminé par comptage des cocons vides. Lors des essais d'efficacité immédiate le nombre de femelles présentes dans la serre a été estimé d'après le sexe-ratio moyen observé en conditions d'élevage (69% de femelles, Benoist *et al.* 2017). Pour les essais d'efficacité à long terme, le sexe-ratio a été déterminé par sexage des adultes produits au laboratoire à la même génération d'élevage que ceux introduits dans les serres. Nous avons déduit de ces valeurs le nombre de femelles par chenille déposée (Tableau 1).

1.5. Dissection des maïs pour la collecte des insectes

La totalité de la tige était disséquée, avec relevé du nombre

de galeries (essais n°1,2,3) et la longueur de galerie (essai n°4). Le terreau était fouillé car les chenilles peuvent s'y loger. Les chenilles (ou cocons, chrysalides) trouvées étaient individualisées dans un tube contenant du milieu nutritif.

1.6. Essais en serre

1.6.1. Protocole - Essais à court terme

Le premier essai a eu pour objectif de comparer deux plages de température, l'une (15-20°C) simulant un climat printanier attendu en début de développement de la première génération de sésamie, l'autre (20-25°C) correspondant à un climat estival attendu pendant la seconde génération de sésamie. Le second essai devait initialement être une répétition du premier, mais des imprévus dans le nombre de parasitoïdes a finalement permis de comparer deux doses de parasitoïdes. Dans ces deux essais, des sésamies ont été déposées sur toutes les plantes, et à la fin des essais, toutes les plantes ont été disséquées. Les paramètres des différents essais sont précisés dans le tableau 1.

1.6.2. Protocole - Essais à long terme

La plage de température a été choisie de façon à permettre l'activité et le développement des insectes tout en essayant de maintenir les plantes vertes pendant 3 mois et demi, la durée estimée nécessaire pour obtenir des chenilles de 2^è génération de sésamies dans la serre. Les *Cotesia* n'ont été introduites que dans l'une des deux serres, afin de pouvoir estimer leur effet sur le développement du peuplement de sésamies.

Pour l'essai n°3, cinq prélèvements de 28 plantes par serre ont été réalisés, espacés de 2-3 semaines, jusqu'à la dissection finale des plantes (6^è prélèvement) faite 3,5 mois après le dépôt initial des insectes. Après le 3^è prélèvement, 84 plantes de maïs non infestées ont été ajoutées dans chaque serre comme support de ponte pour une éventuelle 2^è génération de sésamies. Ces prélèvements appauvrissant la population de sésamies et de *Cotesia*, ils n'ont pas été faits lors de l'essai n°4, suivi par un seul prélèvement en fin d'expérimentation. A la dissection finale des deux essais, seule une plante sur deux a été disséquée en chaque serre, soient 120 plantes, constituant un échantillonnage robuste.

Le pourcentage de chenilles parasitées a été estimé pour chaque date de collecte en prenant en compte le nombre de masses de cocons formées au laboratoire pendant le suivi des chenilles collectées, et le nombre de masses trouvées dans la serre au moment de la collecte.

1.7. Suivi en laboratoire

Dès leur collecte, les chenilles ont été pesées puis transférées en boîte de pétri avec une briquette de milieu nutritif. Elles ont été surveillées deux fois par semaine pour noter leur devenir, à savoir mort de la chenille, ou formation de cocons de parasitoïdes (entraînant la mort ultérieure de la chenille), ou formation d'une chrysalide. Dans le cas de la formation de cocons, leur nombre et sexe par masse ont été comptés.

Tableau 1 Paramètres des quatre essais. SF : serre fraîche ; SC : serre chaude. * valeur estimée d'après Benoist et *al.* 2017.

Paramètres	2018			2019	2020					2021			
Photopériode (nuit/jour)	10h/14h			8h/16h	8h/16h					8h/16h			
Température	SF : 15-20°C SC : 20-25°C			SF : 15-20°C SC : 20-25°C	18-24°C puis 20-26°C					18-24°C			
Variété de maïs	LG3490			MESSIR	Sy Madras					DKC 5830			
Nombre de plantes / serre	240			240	240					240			
Stade du maïs au dépôt des sésamies	10-12 feuilles			6-7 feuilles	11 feuilles					7-8 feuilles			
% de plantes avec dépôt de sésamies	100			100	50					20			
Stades des sésamies déposées	L3	L4	L5	Comme en 2018	Œufs	L2	L3	L4	L5	Œufs	L2	L3	Chrysalides
Nombre individus / plante	3	2	1		30	2,5	2	1	1	30	5	3	
Nombre individus / serre (exposées à <i>Cotesia</i>)	180	120	60		680	60	48	24	24	480	80	48	12
Stade de <i>Cotesia</i>	Fin nymphose			Fin nymphose	Début nymphose	Fin nymphose	Adultes			Début nymphose	Fin nymphose	Adultes	
Nombre de masses de cocons / serre	13			24	13	13	13			8	8	8	
Nombre d'adultes / serre	SF : 960 / SC : 700			SF : 1800 / SC : 610	1581	1026	944			588	613	612	
Sexe ratio	0,69*			0,69*	0,38					0.44			
Nombre de femelles/serre	SF : 660 / SC : 490			SF : 1250 / SC : 420	1361 en tout					798			
Nombre de femelles/chenille	SF : 1,8 / SC : 1,4			SF : 3,5 / SC : 1,2	1,6					1,3			
Délai entre dépôt des sésamies et dépôt des <i>Cotesia</i>	3j			3j	1j					9j			
Délai entre dépôt des <i>Cotesia</i> et collecte des chenilles	7-8j			10-11j	De 12j à 3,5 mois					3,5 mois			

1.8. Analyse des données

L'effet du stade de sésamie et l'effet des conditions expérimentales des serres comparées sur le devenir des chenilles ont été testés par le test du Chi² (logiciel XLSTAT), avec correction de continuité de Yates pour les tableaux de contingence 2x2.

2. RESULTATS

Lors de l'essai d'efficacité immédiate de 2018, le pourcentage de chenilles parasitées avec succès (production de cocons de *C. typhae*) a varié entre 26 et 44%, sans effet du stade ($\chi^2 = 0,963$; 2 ddl, $P=0,618$) ni des conditions des serres comparées ($\chi^2 = 0,044$; 1 ddl, $P=0,83$). Le taux de parasitisme moyen est alors estimé à 34% (Figure 2). Le devenir des chenilles non exposées à *C. typhae* grâce aux manchons permet d'estimer la réduction de population de sésamies due au parasitoïde. Ainsi, les chenilles exposées ont formé en moyenne 51,5% de chrysalides (de 43 à 57% selon le stade et la serre), alors que les chenilles non exposées au parasitoïde ont formé en moyenne 91% de chrysalides (87 à 100%). Le nombre de chrysalides a donc été réduit par 1,8.

Dans tous les cas, le pourcentage de chenilles mortes avant d'avoir donné des cocons ou des chrysalides est resté faible, variant de 0 à 13% pour les chenilles non exposées au parasitoïde, et de 0 à 21,4% pour les chenilles exposées (Figure 2).

L'essai d'efficacité immédiate de 2019 a confirmé l'absence d'effet du stade de chenille sur leur taux de parasitisme ($\chi^2 = 1,556$; 2 ddl, $P=0,459$). Cependant nous avons observé une variation importante du taux de chenilles parasitées en fonction des conditions des serres, avec 24,7% dans l'une, et 52,5% dans l'autre ($\chi^2 = 21,087$; 1 ddl, $P<0,0001$), cette différence étant dans le même sens que le nombre de parasitoïdes adultes estimés dans chaque serre (610 vs 1800, tableau 1, Figure 3).

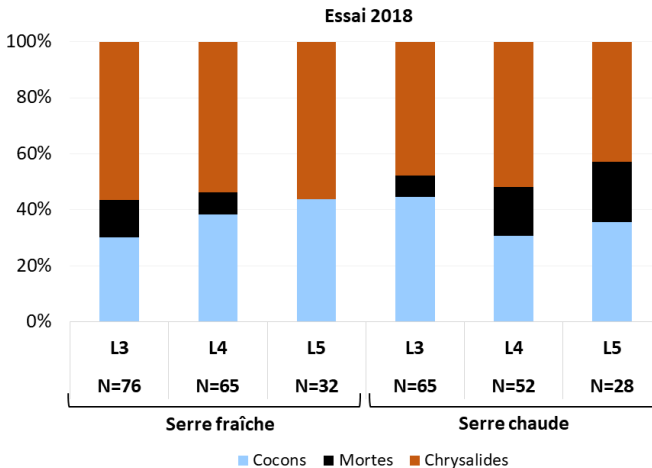


Figure 2 Devenir des chenilles exposées à *Cotesia typhae* pendant l'essai d'efficacité immédiate en 2018. Les barres représentent les pourcentages de chenilles par catégorie de devenir, en fonction du stade et de la serre. N est le nombre de chenilles collectées.

Dans la serre la moins protégée, les chenilles exposées ont formé en moyenne 65,3% de chrysalides (de 60,7 à 70,1%

selon le stade), alors que les chenilles non exposées au parasitoïde ont formé en moyenne 88,5% de chrysalides (83,3 à 92,3%). Le nombre de chrysalides a donc été réduit par 1,35.

Dans la serre la plus protégée, les chenilles exposées ont formé en moyenne 32,5% de chrysalides (de 22,2 à 47,8% selon le stade), alors que les chenilles non exposées au parasitoïde ont formé en moyenne 90,3% de chrysalides (84,6 à 91,4%). Le nombre de chrysalides a donc été réduit par 2,8.

De même qu'en 2018, le pourcentage de chenilles mortes avant d'avoir donné des cocons ou des chrysalides est resté faible, variant de 5 à 16,7% pour les chenilles non exposées, et de 7,1 à 22,6% pour les chenilles exposées (Figure 3).

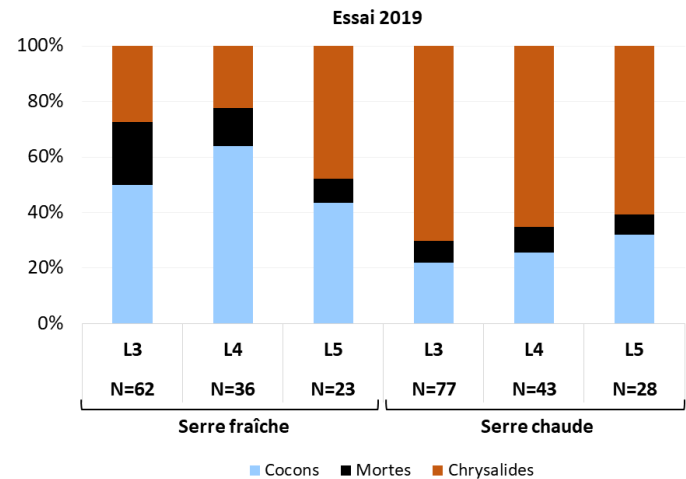


Figure 3 Devenir des chenilles exposées à *Cotesia typhae* pendant l'essai d'efficacité immédiate en 2019. Les barres représentent les pourcentages de chenilles par catégorie de devenir, en fonction du stade et de la serre. N est le nombre de chenilles collectées.

Enfin, lors de l'essai à long terme de 2020-21, le pourcentage de chenilles parasitées a varié significativement entre les dates de collecte ($\chi^2=14.998$; 5 ddl ; $P=0.01$), allant de 37,5 à 75%, avec une moyenne de 58,4% (Tableau 2). L'activité du parasitoïde s'est donc maintenue pendant les 3,5 mois post-lâcher. Des cocons ont été observés dans la serre lors de collectes à partir du 20 janvier, soit deux mois après le lâcher de *C. typhae*. Il y a donc eu au moins une seconde génération du parasitoïde dans la serre.

Tableau 2 Taux de parasitisme des chenilles observé au cours de l'essai à long terme.

Date de collecte	Effectif	Taux de parasitisme (%)
03/12/2020	20	75.0
16/12/2020	64	37.5
05/01/2021	18	50.0
20/01/2021	16	66.6
09/02/2021	22	54.5
22-23/02/2021	50	66.6

En cumulant le nombre de masses de cocons trouvées dans la serre et formées au laboratoire et en extrapolant aux plantes non disséquées, nous avons estimé un nombre total

de 132 masses, ce qui correspond à une multiplication par 3,4 de la population de *C. typhae* introduite. La production de chrysalides en serre contrôle nous a permis d'évaluer le contrôle de la population de sésamie par *C. typhae*. Dans la serre contrôle les chenilles ont formés en moyenne 93% de chrysalides contre 33% dans la serre avec *C. typhae*, ainsi le nombre de chrysalides a été réduit par 2,8 au terme de l'essai (comme l'essai en 2019). Le suivi des chenilles au laboratoire a permis d'évaluer leur devenir en fonction de leur taille au moment de l'arrivée au laboratoire (Figure 4). Leur taux de parasitisme a varié significativement, de 22,7% pour les plus petites, à 80% pour la 5è classe de poids ($\chi^2=13,704$; 5 ddl ; $P=0.018$). Ainsi plus les chenilles grossissent, moins elles ont de chance d'échapper au parasitisme. La mortalité observée est restée faible (4,3 à 13,6%). Le suivi des chenilles de la serre contrôle a montré que le taux de chrysalides formées ne dépendait pas du poids des chenilles collectées (taux moyen de chrysalides : 90,2%).

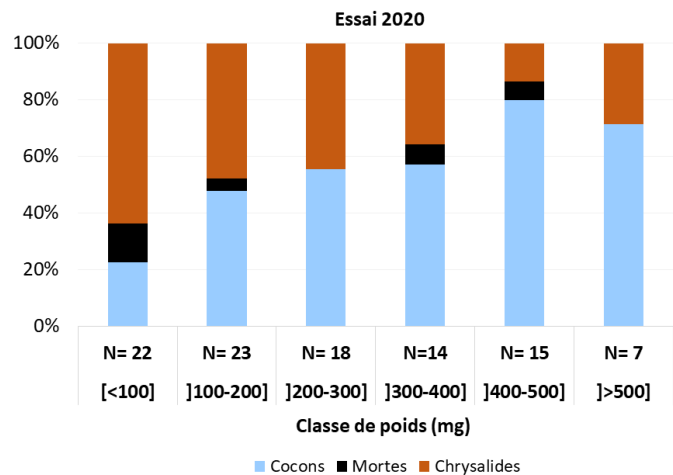


Figure 4 Devenir des chenilles exposées à *Cotesia typhae* pendant l'essai d'efficacité à long terme. Les barres représentent les pourcentages de chenilles par catégorie de devenir, en fonction de la taille des chenilles. N est le nombre de chenilles collectées.

Lors du second essai à long terme en 2021-2022, le pourcentage de chenilles parasitées n'a pu être estimé car en fin d'expérimentation, il ne restait que deux chenilles vivantes dans la serre traitée, contre 244 en serre contrôle (sur l'échantillonnage de 50% des plantes). Aucune chrysalide vivante n'a été retrouvée en serre traitée, contre 11 en serre contrôle. Ainsi dans cet essai *C. typhae* a réduit la population de sésamie de presque 100%. Le poids des chenilles collectées en serre contrôle révèle une abondance de chenilles de faible poids (10-78 mg) (Tableau 3) ce qui suggère un début de deuxième génération de sésamies dans la serre. La présence de *Cotesia* vivantes est avérée en fin d'expérimentation, car une des deux chenilles restantes était parasitée, et une masse de cocons sur 23 retrouvées était encore pleine. La comparaison du nombre de cocons introduits (1885) et retrouvés (estimation de 2336 si toutes les plantes avaient été disséquées) permet d'estimer un taux de multiplication de 1,2. Cela confirme la capacité de la population introduite à se reproduire en serre et exercer un contrôle durable de la sésamie.

Tableau 3 Nombre de chenilles collectées en serre contrôle, lors l'essai n°4, en fonction de la taille des chenilles.

Classe de poids (mg)							
[10-78]	[78-146]	[146-214]	[214-282]	[282-350]	[350-418]	[418-486]	[486-554]
124	43	24	16	19	9	7	2

DISCUSSION

Lors des différents essais, le facteur de réduction de la population de sésamie de 44 à 99,5%. Les résultats de 2018 ont permis de montrer que le succès de parasitisme ne différait ni entre les plages de température printanières (15-20°C) et estivales (20-25°C), ni entre les 3è à 5è stades de chenilles de sésamie exposées à *C. typhae*. Dans la serre fraîche, 1,4x plus d'adultes parasitoïdes ont été comptés, mais cette différence ne s'est pas traduite par un plus fort taux de parasitisme. Le nombre de cocons déposés était le même dans les deux serres (vérification par comptage de tous les cocons par masse). La différence du nombre d'adultes vient donc d'une différence de mortalité nymphale de *C. typhae*. Celle-ci était plus importante dans la serre chaude, peut-être en raison d'une moindre humidité relative (49% contre 57% en serre fraîche). Les données de laboratoire sur une espèce tropicale sœur, *Cotesia flavipes*, indiquent que l'humidité relative est cruciale pour la survie des parasitoïdes (Emana 2007). En 2019, la différence de succès reproducteur entre les deux serres était du simple au double. Elle n'est attribuable ni à la différence de température ni au stade de sésamie, car ces facteurs n'ont pas d'effet significatif d'après l'essai de 2018. Elle est explicable par la différence de « dose » de parasitoïdes, du simple au triple entre les deux serres. Les résultats de ces deux essais d'efficacité immédiate montrent donc que le parasitoïde a une action comparable sur les plages de température printanière et estivale. Ainsi une plage de température intermédiaire a été choisie pour les essais d'efficacité à long terme. Les essais à long terme ont permis de caractériser l'efficacité de parasitisme sur le développement d'une génération de sésamies, mais la sénescence des plantes, plus rapide en serre, n'a pas toujours permis le développement d'une seconde génération du ravageur. L'estimation du triplement de la population de *Cotesia* au cours des 3,5 mois d'essai suggère qu'un lâcher initial peut être efficace sur les deux générations du ravageur. Un résultat très encourageant est le maintien de l'activité du parasitoïde tout au long de l'essai, avec un taux de parasitisme de 58% en moyenne, supérieur aux deux essais à court terme. Les deux valeurs extrêmes du pourcentage de chenilles parasitées ont été observées lors des deux premières collectes et sont expliquées par un biais d'échantillonnage. En effet suite à la première collecte, les très jeunes chenilles (L1-L2) n'ont pas été gardées pour le suivi car une étude de laboratoire avait montré qu'elles étaient peu acceptées par *C. typhae* (Gedor 2019), et nos résultats confirment un faible taux de parasitisme des chenilles de petite taille (Figure 4). Au contraire lors de la deuxième collecte, ces jeunes chenilles étaient sur-représentées et nous avons fait le choix de suivre leur devenir, ce qui peut expliquer le faible taux de parasitisme

moyen observé pour cette collecte. Les valeurs mesurées pendant les collectes suivantes sont assez proches de la moyenne pour l'ensemble de l'essai.

Lors de l'essai n°3 à long terme, il y avait 1,6 femelles de *C. typhae* par individu de sésamie en moyenne, or l'efficacité de parasitisme a été plus élevée que celle observée lors de l'essai de 2018 où ce ratio était proche. Il est possible que le ratio *Cotesia*/sésamie ait été surestimé en 2018 et 2019 lié à l'utilisation d'une valeur à priori du sexe ratio. Mais le plus faible taux de parasitisme observé en 2018 et 2019 peut aussi venir de la faible durée d'exposition des chenilles à *C. typhae* (7-11j max).

Cet essai à long terme a été l'occasion de mieux caractériser le succès de parasitisme en fonction de la taille des chenilles. En effet pour les essais de 2018 et 2019, l'absence de l'effet du stade de chenille peut venir du fait que le stade avait été attribué en fonction du stade déposé sur la plante, or la dissection des maïs a été faite entre 10 et 14 jours plus tard. Pendant cet intervalle, des chenilles ont changé de plante, et une étude préliminaire du poids des chenilles révèle un étalement important des valeurs observées au sein des trois stades collectés. C'est pourquoi l'analyse du troisième essai a été faite d'après le poids des chenilles et non leur stade présumé. C'est d'autant plus pertinent que le poids augmente au cours du stade. Cette analyse montre que le taux de parasitisme augmente de 20 à 80% avec le poids.

Il est alors possible que le taux global de parasitisme sur toute la durée de l'essai ait été sous-estimé car les collectes ont retiré des chenilles qui auraient pu être parasitées par la suite. L'analyse montre aussi que des chenilles de petite taille peuvent être parasitées. Une étude en laboratoire a montré que le développement de *C. typhae* était plus long quand le parasitoïde se développait dans de jeunes chenilles (Gedor 2019). Donc la présence de jeunes chenilles dans la serre aurait permis d'étaler la production des adultes de 2^e génération de *C. typhae*, contribuant au maintien de l'activité du parasitoïde au cours de l'essai.

Un nouvel essai d'efficacité à long terme a été conduit en améliorant le protocole, notamment par l'arrêt des collectes en cours d'essai. Il a conduit à une quasi extinction de la population de sésamie par *Cotesia* à la fin de l'essai, et confirmé l'action du parasitoïde jusqu'à la fin de l'essai et sa capacité à se multiplier en serre.

CONCLUSION

Ces quatre essais ont permis d'établir que *C. typhae* pouvait être efficace sur une plage de température allant de 15 à 25°C, et dès les jeunes stades larvaires, validant la possibilité d'un lâcher en début de première génération de sésamies. Les résultats ont aussi montré l'importance de la dose de parasitoïdes. La durée d'action de *C. typhae* observée après un seul lâcher est très encourageante car peu de méthodes de lutte possèdent une durée d'action aussi longue. Cette durée est remarquable étant donné la courte vie des adultes de *C. typhae*. Un modèle de dynamique de populations va être développé pour estimer l'impact du lâcher sur les générations suivantes de sésamies¹. En effet, une étude de marché a montré que le coût de cette solution biologique permettrait aux agriculteurs de faire un seul lâcher (possiblement associé à celui de trichogrammes dans le cas de co-infestation par la sésamie et la pyrale du maïs). L'étape ultérieure sera d'estimer l'efficacité au champ, où les conditions biotiques et abiotiques sont bien différentes de celles des serres. Pour cela, une autorisation d'introduction de *C. typhae* dans l'environnement français est nécessaire. Elle repose sur l'analyse en cours des risques et bénéfices de l'utilisation de *C. typhae* en lâchers annuels contre la sésamie.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé grâce aux soutiens financiers de l'ANR et FRB (projet CoteBio ANR-17-CE32-0015). Ce travail a été réalisé dans le cadre juridique de l'accord de transfert de matériel signé entre l'IRD, l'icipe et le CNRS (CNRS 072057/IRD 302227/00) et des autorisations préfectorales délivrées à EGCE (26/01/2017 n°032) et Arvalis (28/11/2018) pour la conduite de travaux sur *Cotesia typhae* en conditions confinées.

Les auteurs remercient leurs collègues (1) d'EGCE et de l'icipe : Florence Mougél, Claire Capdevielle Dulac, Gladys Bichanga pour l'aide pendant le suivi des sésamies en laboratoire, François Rebaudo pour ses conseils lors la planification de l'essai à long terme, Paul-André Calatayud et Julius Obonyo pour l'envoi de *C. typhae* de l'icipe (Kenya) nécessaire à la maintenance de l'élevage à Gif-sur-Yvette ; (2) d'Arvalis : Brigitte Escale pour le choix des variétés de maïs, et les personnes ayant aidé à la mise en place des essais et aux dissections des maïs : Corentin Gledel, Audrey Fabarez, Dominique Jeanneau, Monica Ortegavelasco, Paul Lasbats, Laurent Boue-Laplace, Emilie Nougues.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Benoist, R., Chantre, C., Capdevielle-Dulac, C., Bodet, M., Mougél, F., Calatayud, P.A., Dupas, S., Huguet, E., Jeannette, R., Obonyo, J., Odorico, C., Silvain, J.F., Le Ru, B., Kaiser, L., 2017. Relationship between oviposition, virulence gene expression and parasitism success in *Cotesia typhae* nov. sp. parasitoid strains. *Genetica*. <https://doi.org/10.1007/s10709-017-9987-5>
- Benoist, R., Paquet, S., Decourcelle, F., Guez, J., Jeannette, R., Calatayud, P.-A., Le Ru, B., Mougél, F., Kaiser, L., 2020. Role of egg-laying behavior, virulence and local adaptation in a parasitoid's chances of reproducing in a new host. *J. Insect Physiol.* 120, 103987. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.103987>
- CABI, 2021. *Sesamia nonagrioides* (Mediterranean corn stalk borer). Invasive species compendium 2021. Disponible à l'adresse : <https://www.cabi.org/isc/datasheet/49754> (Consulté le 29/11/2021)
- Dinardo-Miranda, L.L., Fracasso, J.V., Costa, V.P. da, Lopes, D.O.T., 2014. Dispersal of *Cotesia flavipes* in sugarcane field and implications for parasitoid releases. *Bragantia* 73, 163–170. <https://doi.org/10.1590/brag.2014.023>

¹ Projet Phenofore financé par SEMAE (2021-2024).

- Emana, G.D., 2007. Comparative studies of the influence of relative humidity and temperature on the longevity and fecundity of the parasitoid, *Cotesia flavipes*. J. Insect Sci. 7, 19.
- Gedor, 2019. Composantes du succès reproducteur d'un insecte parasitoïde : influence du stade de développement de l'insecte hôte et de la compétition entre parasitoïdes. Rapport de stage de 2^e année de licence en Biologie des organismes, Université Paris-Sud.
- Grenier, S., Anglade, P., Naibo, B., Galichet, P.F., Hawlitzky, N., 1990. Enquête sur la répartition des tachninaires [Diptera: Tachnidae] parasitoïdes de la pyrale du maïs *Ostrinia nubilalis* [Lepidoptera: Pyralidae] en France (1985–87). BioControl 35, 485–491.
- Kaiser, L., Fernandez-Triana, J., Capdevielle-Dulac, C., Chantre, C., Bodet, M., Kaoula, F., Benoist, R., Calatayud, P.-A., Dupas, S., Herniou, E., Jeannette, R., Obonyo, J., Silvain, J.-F., Le Ru, B., 2017. Systematics and biology of *Cotesia typhae* sp. n. (Hymenoptera, Braconidae, Microgastrinae), a potential biological control agent against the noctuid Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides*. ZooKeys 682, 105–136. <https://doi.org/10.3897/zookeys.682.13016>
- Kaiser, L., Le Ru, B.P., Kaoula, F., Paillusson, C., Capdevielle-Dulac, C., Obonyo, J.O., Herniou, E., Jancek, S., Branca, A., Calatayud, P.-A., Silvain, J.-F., Dupas, S., 2015. Ongoing ecological speciation in *Cotesia sesamiae*, a biological control agent of cereal stem borers. Evol. Appl. 8, 807–820. <https://doi.org/10.1111/eva.12260>
- Kergoat, G.J., Toussaint, E.F.A., Capdevielle-Dulac, C., Clamens, A.-L., Ong'amo, G., Conlong, D., van Den Berg, J., Cugala, D., Pallangyo, B., Mubenga, O., Chipabika, G., Ndemah, R., Sezonlin, M., Bani, G., Molo, R., Ali, A., Calatayud, P.-A., Kaiser, L., Silvain, J.-F., Le Ru, B., 2015. Integrative taxonomy reveals six new species related to the Mediterranean corn stalk borer *Sesamia nonagrioides* (Lefèbvre) (Lepidoptera, Noctuidae, Sesamiina). Zool. J. Linn. Soc. 175, 244–270. <https://doi.org/10.1111/zoj.12275>
- Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et de la Forêt (28/06/2012). « Arrête du 28 juin 2012 relatif aux demandes 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 lutte biologique. » Journal Officiel de la République Française.
- Potting, R.P.J., Overholt, W.A., Danso, F.O., Takasu, K., 1997. Foraging behaviour and life history of the stemborer parasitoid *Cotesia flavipes* (hymenoptera: Braconidae). J. Insect Behav. 10, 13.
- Rousseau, D., 2009. Maïs : la sésamie progresse cap au nord, dans l'air marin et la douceur angevine : Progression de la sésamie dans les Pays-de-la-Loire : à gérer dans la région, à méditer ailleurs en France. Phytoma 622–23, 38–41.
- Sallam, M.N., Overholt, W.A., Kairu, E., 2001. Dispersal of the exotic parasitoid *Cotesia flavipes* in a new ecosystem. Entomol. Exp. Appl. 98, 211–217.
- Thibord, J.-B., 2017. Evaluation of crop losses due to pests on maize production in France. AFPP – 11^e Conférence Int. sur Ravag. Aux. EN Agric. Montp. 11.