Compte-rendu d'activité 2024

Mise en place d'un pilote d'élevage du parasitoïde local *Trissolcus sp.* comme futur agent de lutte biologique de la punaise diabolique *Halyomorpha halys* en Corse

Action subventionnée par :

FranceAgriMer

Auteur : Alice LEBOULANGER

1. Thème de l'essai

La punaise diabolique, *Halyomorpha halys,* est un ravageur originaire d'Asie de l'Est. Extrêmement polyphage, elle peut provoquer des dégâts importants en arboriculture fruitière, notamment les fruits à noyaux (pêches, cerises, pommes) ainsi que sur diverses cultures maraichères. Cette punaise s'est répandue à travers le monde et notamment en France et en Italie où elle est présente depuis 2012.

Jusqu'en 2018, elle n'était pas présente en Corse, mais quelques individus ont été détectés cette année-là. En réponse, l'AREFLEC a mis en place en 2019 un réseau de surveillance sur la plaine orientale, principale zone de production végétale de l'île. En 2020, plus de 300 individus ont été capturés suggérant une expansion rapide du ravageur. Les années de suivi ont confirmé, au travers d'une étude bibliographique dans un premier temps, que c'est un ravageur redoutable tant par sa capacité d'invasion que par son comportement d'agrégation, pouvant entraîner la destruction rapide d'une culture. Il parait primordial, pour anticiper les potentielles problématiques liées à la punaise diabolique, de maintenir une surveillance continue sur le territoire afin d'identifier les cultures sensibles. Une enquête a été menée en 2020 auprès des principales filières (maraichage, fruits à noyaux, agrumes, kiwis, noisette, olivier, …) avec la diffusion d'un état des lieux des dégâts observés dans les différents pays touchés. Pour autant, aucun dégât potentiel provoqué par la punaise n'avait été rapporté de la part des producteurs jusqu'en octobre 2021. En 2022, de nombreuses punaises ont été observées dans les cultures de noisettes. A la casserie, l'absence de fruits dans les coques ou la présence de fruits abimés ont clairement été constatées.

Grâce à sa forte polyphagie (plus de 300 espèces végétales) et sa mobilité dans le paysage, la punaise diabolique est difficile à contrôler par des traitements chimiques. Ces derniers peuvent réduire les dommages causés aux cultures mais ont probablement peu d'effet sur la pression globale de l'espèce. Dans ce contexte, la lutte biologique apparaît comme une stratégie clé pour une gestion durable, en particulier en Corse, où la présence étendue du maquis constitue un réservoir potentiel pour l'espèce. En 2022, trois parasitoïdes oophages ont été retrouvés sur des œufs sentinelles de *Halyomorpha halys* en Corse *: Ooencyrtus sp*., *Trissolcus sp., Anastatus sp.*
La lutte biologique par augmentation pourrait permettre de réguler la punaise diabolique dans les zones cultivées à l'aide des parasitoïdes issus du terrain comme agents de lutte biologique. En 2023, nous avons maintenu les 3 parasitoïdes collectés sur le terrain en 2022 et initié des micro-élevages pour évaluer leur potentiel comme agents de lutte biologique de la punaise. Un candidat prometteur a été retenu : *Trissolcus sp.,* et un pilote d'élevage de ce parasitoïde a été évalué en 2024.
L'identification de notre parasitoïde a été confirmée par analyse ADN cette même année : il s'agit de *Trissolcus mitsukurii*. Ce parasitoïde d'œufs de *Halyomorpha halys*, originaire d'Asie, est très proche de *Trissolcus japonicus*.
T. mitsukurii est largement répandu en Italie, ce qui pourrait expliquer la présence de population en France (détecté naturellement en 2021) et en Corse (en 2022).

2. <u>But de l'essai</u>

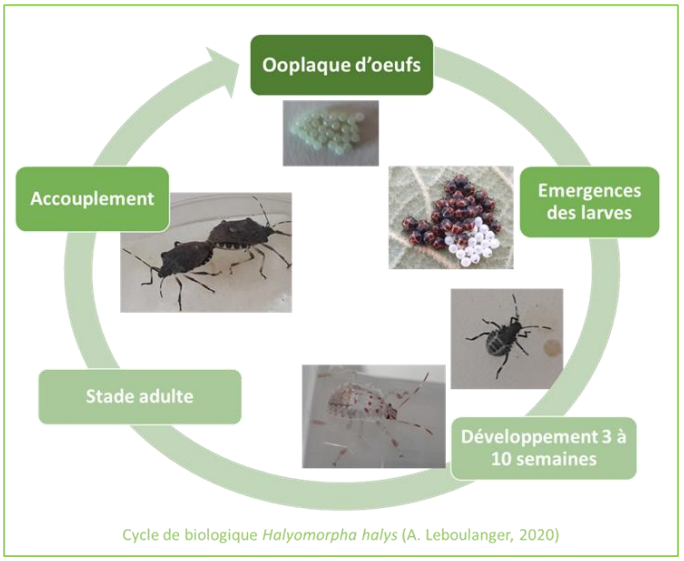
Cette action sera dans la continuité des travaux réalisés précédemment par l'AREFLEC sur cette thématique. L'objectif principal de cette année consistera à mettre en place un pilote d'élevage du parasitoïde *Trissolcus mitsukurii,* puis d'évaluer son potentiel comme agent de lutte biologique de la punaise et d'anticiper de futurs lâchers dans l'environnement en Corse.

3. <u>Matériels et Méthodes</u>

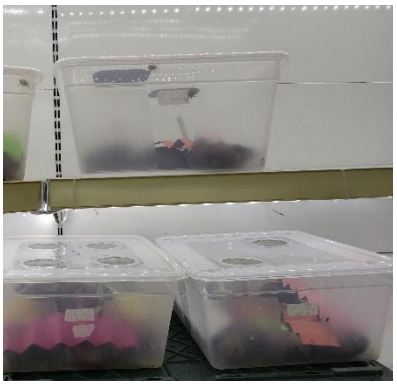
- <u>Développement et pérennisation d'un micro-élevage de punaises dans les locaux de l'AREFLEC :</u>

La recherche de candidats pour la lutte biologique contre *H. halys* se concentre sur les parasitoïdes oophages. Ces derniers sont les principaux régulateurs des punaises pentatomidées car ils s'attaquent aux œufs, assurant l'absence de dégât sur les cultures. La recherche de parasitoïdes d'*H. halys* passe par un élevage de punaises en laboratoire pour disposer de

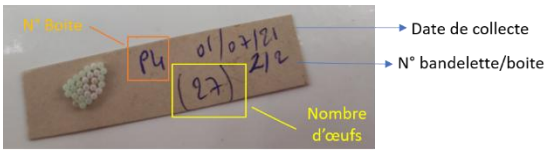
matériels d'études (ooplaques d'œufs). Pour cette expérimentation, nous disposons d'un micro-élevage de punaises en milieu contrôlé dans les locaux de l'AREFLEC pour permettre la production d'ooplaques nécessaires à l'élevage du parasitoïde.
Des adultes ont été capturés sur le terrain et ont été introduits dans une boite d'élevage (150 (H)x 354 (L)x325(P) mm) munie d'aérations dans une pièce réglée à 25°C avec une alternance jour/nuit de 16h/8h.
Les punaises sont nourries avec des pommes de terre, des fruits, des agrumes, des kiwis, des graines de tournesol biologiques, des abreuvoirs d'eau et de sirop de glucose. Du papier cartonné plié fait office de support pour les pontes d'ooplaques. Le nombre de boite sera augmenté progressivement dans l'élevage.



Cycle de biologique *Halyomorpha halys* (A. Leboulanger, 2020)



Fréquence de collecte : 1 fois par jour si possible ou au minimum lundi, mercredi, vendredi.
Opérations réalisées :
La première étape consiste à chercher toutes les ooplaques sous les papiers, sur les pommes de terre ou sur les parois de la boite. Les ooplaques sont collectées intactes sur les papiers et les pommes de terre ou fruits, celles difficilement accessibles sont récupérées en vrac (boites, couvercle). Les informations de récolte sont notées sur les bandelettes papiers (date, nombre par boite, etc.). Le nombre d'œufs sur les pommes de terre et les bandelettes papier est compté. Les bandelettes sont conservées dans un petit pilulier en plastique, elles serviront aux expérimentations, tandis que les ooplaques sur les fruits serviront à maintenir la population de *Trissolcus* dans les cages. Tous les œufs en vrac (décollés de la boite ou couvercle) sont mis dans une petite boite en plastique.



Pour le nourrissage des punaises, il faut contrôler les pommes de terre et enlever celles qui commencent à pourrir pour en mettre de nouvelles si nécessaire. L'eau, le sirop de glucose et les graines de tournesol doivent être remplacés si nécessaire. Toutes les ooplaques récupérées par boite d'élevage sont répertoriées sur une feuille de saisie. Une à deux nouvelles boîtes d'élevage sont créées par mois avec deux ooplaques issues de deux boites différentes. Les boites trop vieilles sont éliminées afin d'assurer un roulement dans l'élevage.

Les punaises mortes ou malades doivent être sorties dès leur observation dans chacune des boites pour ne pas mettre l'élevage en péril.
Un nettoyage est réalisé une fois par mois dans les boites trop sales avec un renouvellement de tous les supports d'élevage : pommes de terre ou fruits, papiers, graines de tournesol, abreuvoirs, …

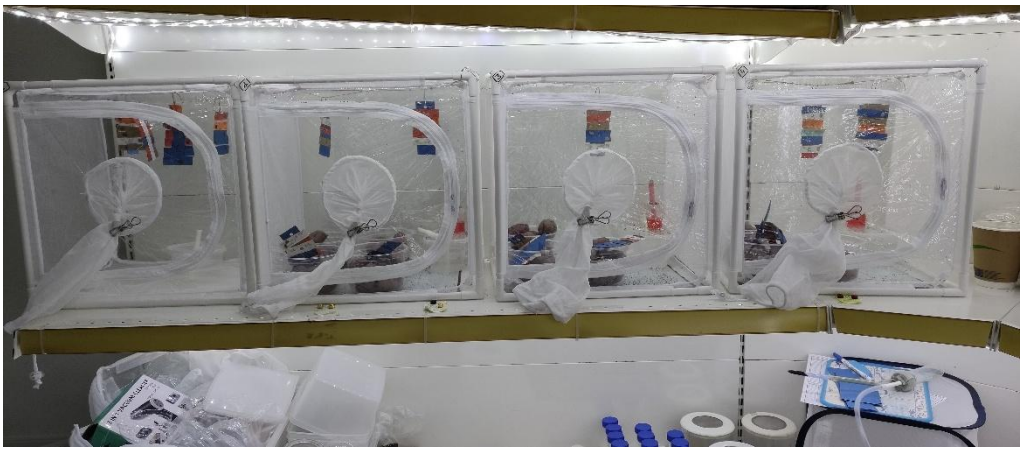
Une fois toutes les ooplaques collectées, celles du jour sont regroupées dans une même boite plate (pilulier). Environ un quart des ooplaques sont mises au congélateur ce qui provoquera la mort de l'embryon des punaises tout en permettant aux parasitoïdes de s'y développer. Les autres ooplaques serviront à évaluer l'élevage du parasitoïde sur œufs frais. Les œufs en vrac sont conservés dans des micro-

tubes et mis au congélateur. Ces derniers serviront d'alimentation pour les *Trissolcus* tout en évitant des naissances éventuelles de punaises.

- Mise en place d'un pilote d'élevage du parasitoïde *Trissolcus mitsukurii* :

Jusqu'à fin avril 2024, nous avons continué les 2 micro-élevages des parasitoïdes collectés sur le terrain en 2022 : *Trissolcus* et *Anastatus* pour clôturer les résultats de 2023. Cette année était clairement orientée sur la multiplication de *Trissolcus* et le nombre de cages a augmenté à quatre dès mi-février.

L'élevage du paraistoïde est composé de quatre cages numérotées de T1 à T4. La cage insectproof d'élevage T1 a été nourrit régulièrement avec des ooplaques fraiches, de l'eau et du sirop de glucose, tandis que la cage T2 a été nourrie régulièrement avec des ooplaques et des œufs en vrac congelés, de l'eau et du sirop de glucose.
Les cages T3 et T4 ont été ajoutées dès mi-février pour pouvoir initier des tests de longévité, d'émergences à différentes températures et ainsi avoir plus d'ooplaques d'œufs frais parasitées par *Trissolcus* pour les expérimentations.



Fréquence de collecte : 1 fois par jour si possible ou au minimum lundi, mercredi, vendredi
Opérations réalisées : Une fois par semaine au minimum 5 ooplaques congelées et l'équivalent de 5 ooplaques d'œufs en vrac congelées sont introduites dans la cage T2 comme nourriture et support d'évaluation du taux de parasitisme.
En parallèle, en fonction du nombre d'ooplaques disponibles dans l'élevage de punaises, des tests sur œufs frais seront réalisés sur les trois-quarts des ooplaques fraiches collectées du jour sur bandelettes carton dans l'élevage des punaises. Les bandelettes d'ooplaques de punaises fraiches sont réparties en 3 groupes, si possible, pour les introduire dans les cages T1, T3, T4. 5 ooplaques minimum sont introduits par semaine/cage. Une feuille de saisies et une fiche de suivi cage permettent de consigner la date d'introduction et le numéro de la cage.

Les ooplaques sur les pommes de terre et les fruits servent à maintenir la population en parasitoïdes. Les quantités d'œufs collectées sont réparties de manière homogène dans les 3 cages. Un relevé systématique des ooplaques de chaque cage est réalisé : l'observation s'effectue sur les patates puis les cartons. L'évolution de la couleur des œufs parasités et la date des premières émergences sont consignées sur la « fiche cage ». Les pots avec les patates ou les fruits, dont l'émergence est

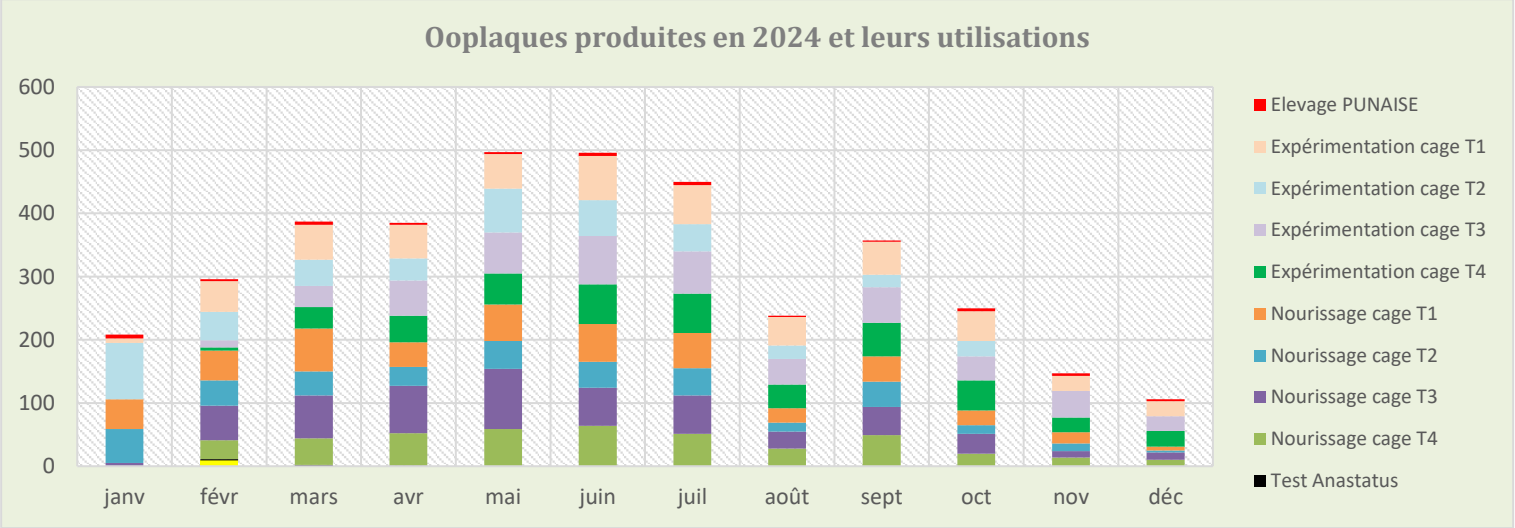
finie, sont sorties de la cage. Les trous de sortie, signifiant l'éclosion du parasitoïde, sont comptés et notés sur la fiche de saisie.

Régulièrement, les ooplaques cartons, dont le stade « œuf parasité » est confirmé, sont sortis des cages pour faire des tests à l'étuve (durée émergence, taux parasitisme, longévité à différentes températures).

4. Résultats détaillés

- Développement et pérennisation d'un micro-élevage de punaises dans les locaux de l'AREFLEC

Le micro-élevage de punaises a été optimisé et nous avons produit au total 3817 ooplaques avec 8 à 10 boites d'élevage d'*Halyomorpha halys* en roulement annuel.
Le nombre d'œufs par ooplaque est comptabilisé et les informations de chaque ooplaque est suivie (date de ponte, congelée ou fraiche, date d'introduction cage, date d'émergence, nombre de *Trissolcus* émergés).



Le graphique ci-dessus montre la répartition de l'utilisation des ooplaques dans l'année. Cette année, 818 ooplaques congelées ont été mises pour être parasitées par les parasitoïdes dans la cage T2, toutes les autres ooplaques ont été utilisées fraiches.
L'utilisation d'œufs frais dans l'élevage est très chronophage en temps et en manipulation car lorsque les œufs ne sont pas collectés tous les jours (week-ends et le manque de main-d'œuvre) des punaises émergent dans les cages de parasitoïdes. Ce problème entraine une diminution des parasitoïdes dans les cages et influence le taux de parasitisme.
La méthode de production est en amélioration cette année, mais il faut encore l'optimiser afin de pouvoir évaluer les coûts d'un futur élevage de production.

- Mise en place d'un pilote d'élevage du parasitoïde *Trissolcus mitsukurii* :

Un candidat prometteur avait été retenu dès 2022 : *Trissolcus sp.*. Son identification a été confirmée par analyse ADN, il s'agit de *Trissolcus mitsukurii* (résultats reçus en mars 2024).

Le suivi du taux de parasitisme sur œufs congelés et œufs frais de *Halyomorpha halys* a été réalisé sur 3 364 ooplaques entières (le reste sont des ooplaques émergées, ou en vrac).

Ci-dessous, le tableau bilan de la série d'expérimentations sur la durée moyenne d'émergence et les taux de parasitisme de *T.mitsukurii* à différentes températures sur les cartons.

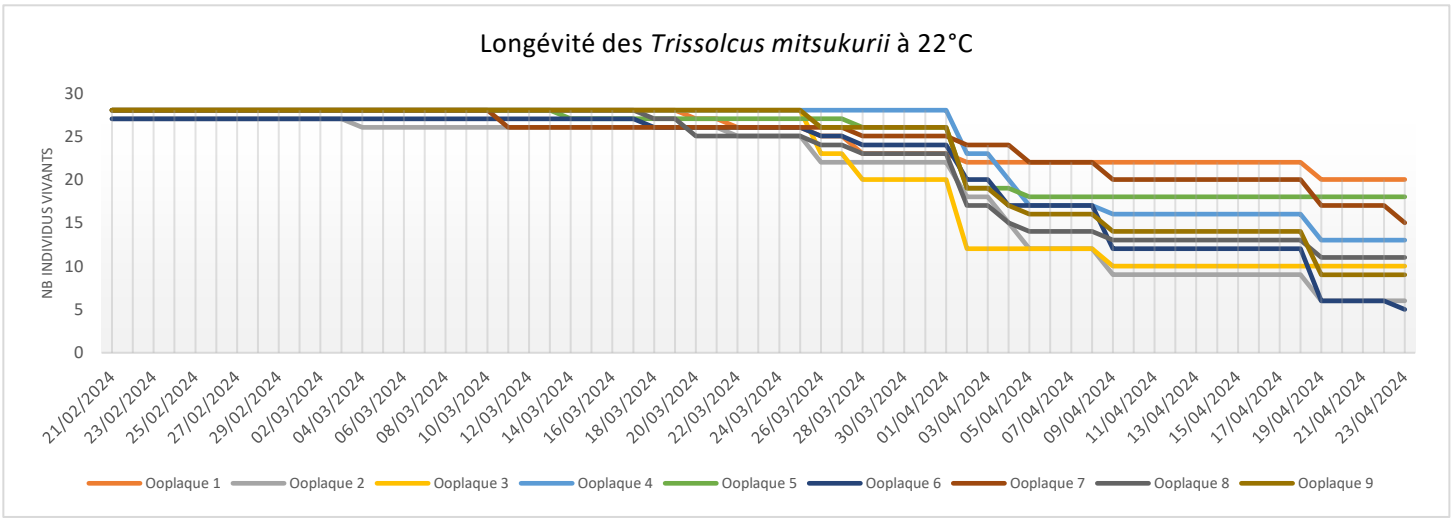
	Durée émergence (Jour)	% parasitisme
Expérimentation cage T1	**18,0**	**92,0%**
Etuve à 20°C	19,1	91,1%
Etuve à 22°C	17,3	95,0%
Pièce climatique (+/- 25°C)	14,0	92,7%
Expérimentation cage T2	**15,1**	**52,1%**
Pièce climatique (+/- 25°C)	15,1	52,1%
Expérimentation cage T3	**18,4**	**88,5%**
Etuve à 20°C	19,1	87,9%
Etuve à 22°C	17,3	94,0%
Pièce climatique (+/- 25°C)	13,3	84,1%
Expérimentation cage T4	**18,8**	**87,2%**
Etuve à 20°C	19,3	87,0%
Etuve à 22°C	18,2	91,1%
Pièce climatique (+/- 25°C)	14,2	84,5%
Total général	**17,6**	**80,9%**

Les taux de parasitismes sont très encourageants : sur œufs frais > 84% et sur œufs congelés seulement 52,1%. Le taux élevé de parasitisme sur œufs frais compense le problème des émergences de punaises dans les cages, tout en veillant à éliminer rapidement les larves de punaises dès leur observation.

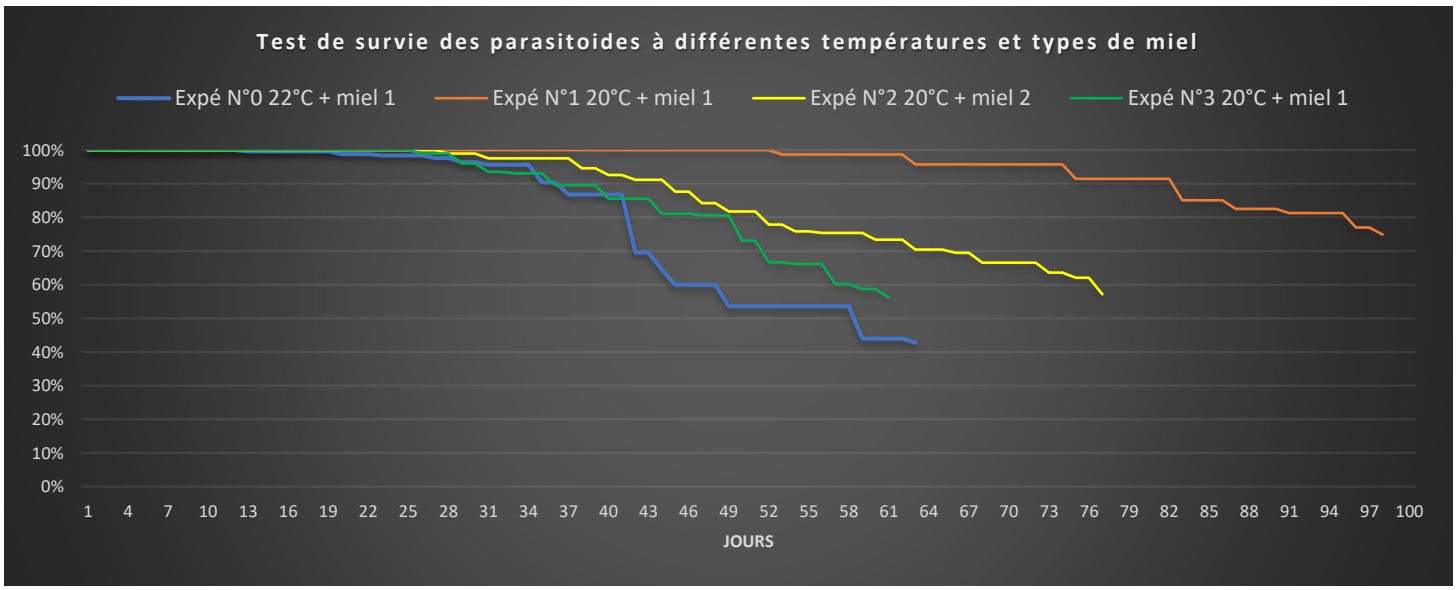
Ci-dessous le tableau bilan de la deuxième série d'expérimentations sur la durée moyenne d'émergence et les taux de parasitisme de *T. mitsukurii* à différentes températures sur les fruits.

	Durée émergence (Jour)	% parasitisme
Nourissage cage T1	**14,0**	**94,0%**
Etuve à 22°C	13,5	96,1%
Pièce climatique (+/- 25°C)	14,0	93,9%
Nourissage cage T3	**14,3**	**93,9%**
Pièce climatique (+/- 25°C)	14,3	93,9%
Nourissage cage T4	**14,8**	**91,0%**
Pièce climatique (+/- 25°C)	14,8	91,0%
Total général	**14,3**	**93,1%**

Les taux de parasitisme des œufs frais sur fruits sont un peu plus élevés puisqu'ils restent dans les cages (nourrissage pour maintien de la population de *Trissolcus*) jusqu'à l'émergence donc tous les œufs viables sur les ooplaques finissent par être parasités.



Le graphique ci-dessus, présente l'évaluation de la longévité de 9 ooplaques, réalisé de février à avril avec une température d'évaluation à 22°C. Le test a été arrêté au bout de 63 jours avant la mort de tous les individus ce qui est très encourageant. Sur l'ensemble des ooplaques, nous avons en moyenne un taux de 50% d'individus encore vivants au bout de 58 jours à 22°C.



Plusieurs petites expérimentations dans l'élevage ont été réalisées pour affiner le temps de survie des *T. mitsukurii* en fonction de la température et du type de miel utilisé pour les nourrir. Le graphique ci-dessus montre un taux de survie élevé pour toutes les modalités au-delà de 58 jours. En revanche, lors du suivi, on a pu constater qu'un manque de miel (asséché pendant le week-end par exemple dans l'étuve) entraine vite une mortalité importante. C'est une information à prendre en compte pour la future réalisation des lâchers sur le terrain.

5. Conclusions de l'essai

Les précédents travaux de l'Areflec sur la punaise diabolique *Halyomorpha halys* nous ont permis de voir qu'il y a des parasitoïdes présents naturellement en Corse et une amplification des parasitoïdes locaux pourrait permettre de réguler un peu les punaises diaboliques dans les zones cultivées ou non cultivées (maquis).
L'objectif principal de cette année consistait à mettre en place un pilote d'élevage du parasitoïde *Trissolcus mitsukurii* présentant un intérêt pour la lutte contre *Halyomorpha halys.* Il s'agissait également d'évaluer son potentiel comme agent de lutte biologique de la punaise en vue de futurs lâchers expérimentaux dans l'environnement en Corse. Cette démarche s'inscrit dans une anticipation de l'autorisation nationale d'introduction des parasitoïdes spécifiques de *H.halys* : *Trissolcus japonicus* ou *Trissolcus mitsukurii*.

Tout d'abord, cette année, l'élevage de punaises a été optimisé avec un nombre d'ooplaques doublé pour permettre de réaliser des expérimentations sur *T. mitsukurii* Il peut encore être optimisé afin de pouvoir évaluer les coûts d'un futur élevage de production.
Cette première année du pilote d'élevage de *Trissolcus mitsukurii* a permis d'évaluer son temps de développement et son potentiel de parasitisme à différentes températures. Les résultats sont très encourageants quelle que soit la température : sur œufs frais le taux de parasitisme est supérieur à 84% et 52,1% sur œufs congelés. Le taux élevé de parasitisme sur œufs frais compense le problème d'émergence des punaises dans les cages. Une surveillance accrue est tout de même nécessaire afin d'éliminer rapidement les larves de punaises, opération chronophage en temps et en manipulation en particulier lorsque les œufs ne sont pas collectés tous les jours (week-ends et le manque de main-d'œuvre).
Concernant la longévité des parasitoïdes sur l'ensemble des expérimentations, nous avons des taux de survie supérieurs à 50% après plus 58 jours en fonction de la température et du type de miel utilisé pour les nourrir, information capitale pour la future réalisation des lâchers sur le terrain.
En 2025, il faudra affiner ces données avec d'autres paramètres pour améliorer et amplifier l'élevage et anticiper de futurs lâchers dans l'environnement. L'autorisation éventuelle de lâchers du parasitoïde permettra de tester son l'efficacité sur le terrain (en manchons ou cages).