

AGROCAMPUS
OUEST

CFR Angers

CFR Rennes



Année universitaire : 2017-2018

Spécialité :

Horticulture

Spécialisation (et option éventuelle) :

Protection des Plantes et Environnement en Horticulture

Mémoire de fin d'études

d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage

de Master de l'Institut Supérieur des Sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage

d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)

Projet RhizoDia : essais en protection du cassis par *Rhizobius lophantae* contre la cochenille blanche du mûrier

Par : Simon DAUFFOUIS



Soutenu à Angers le 07/09/2018

Devant le jury composé de :

Président : Nicolas CHEN

Autres membres du jury (Nom, Qualité) :

Maîtres de stage : Philippe GUIGNEBAULT – Nicolas RIS

Tom Hebbinckuys – Arexhor Pays de la Loire

Enseignant référent : Bruno JALOUX

Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation
«Patrimoine-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France»
disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>



Confidentialité

Non Oui si oui : 1 an 5 ans 10 ans

Pendant toute la durée de confidentialité, aucune diffusion du mémoire n'est possible ⁽¹⁾.

Date et signature du maître de stage ⁽²⁾ :

A la fin de la période de confidentialité, sa diffusion est soumise aux règles ci-dessous (droits d'auteur et autorisation de diffusion par l'enseignant à renseigner).

Droits d'auteur

L'auteur⁽³⁾ **Nom Prénom** DAUFFOUIS Simon

autorise la diffusion de son travail (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui Non

Si oui, il autorise

la diffusion papier du mémoire uniquement⁽⁴⁾

la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

la diffusion papier et électronique du mémoire (joindre dans ce cas la fiche de conformité du mémoire numérique et le contrat de diffusion)

(Facultatif) accepte de placer son mémoire sous licence Creative commons CC-By-Nc-Nd (voir Guide du mémoire Chap 1.4 page 6)

Date et signature de l'auteur :

Autorisation de diffusion par le responsable de spécialisation ou son représentant

L'enseignant juge le mémoire de qualité suffisante pour être diffusé (immédiatement ou à la fin de la période de confidentialité)

Oui Non

Si non, seul le titre du mémoire apparaîtra dans les bases de données.

Si oui, il autorise

la diffusion papier du mémoire uniquement⁽⁴⁾

la diffusion papier du mémoire et la diffusion électronique du résumé

la diffusion papier et électronique du mémoire

Date et signature de l'enseignant :

(1) L'administration, les enseignants et les différents services de documentation d'AGROCAMPUS OUEST s'engagent à respecter cette confidentialité.

(2) Signature et cachet de l'organisme

(3) Auteur = étudiant qui réalise son mémoire de fin d'études

(4) La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option)) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé

Remerciements

Je tiens à remercier en premier lieu Philippe Guigneault, mon maître de stage pendant ces 6 mois. Non seulement ce fut un encadrant compétent et expérimenté, mais il m'a fait profiter de toute sa connaissance de la filière fruitière et des acteurs de ce milieu. Pendant mon stage à la Morinière, j'ai aussi eu la chance de côtoyer Anne, Anthony, Benjamin, Cécile, Christian, Christine, Delphine, Fanny, Mattéo, et Richard – les aider à l'occasion fut un plaisir, et je remercie chacun et chacune pour toutes les conversations édifiantes (pendant les comptages notamment) et les bons moments que nous avons passé.

Mes remerciements vont aussi à Nicolas Ris et Philippe Kreiter, qui m'ont accueilli à l'INRA d'Antibes pour une semaine. Merci de leur relecture de ce mémoire, ainsi que pour leur expertise en matière de statistiques et connaissances générales concernant nos 2 insectes d'intérêt. Merci aussi à Sylvie Warrot, dont la persévérance à vouloir faire marcher les PCR est admirable, et dont la pédagogie m'a permis de mieux comprendre beaucoup d'aspects de la biologie moléculaire.

Les conseils pertinents de Bruno Jaloux m'ont permis de garder du recul sur l'expérimentation sur laquelle je travaillais, et je le remercie pour m'avoir guidé pendant cette dernière ligne droite à Agrocampus Ouest Angers.

Enfin, ce stage n'aurait pas été le même sans Charlotte, Julie, Méganne, Marjolaine, Maxime et Nicolas, mes collègues stagiaires et apprenti(e)s. Les 6 mois où nous avons partagé le même bureau et la même table - l'entraide et les moments de détente – sont passés très vite grâce à eux, et je leur souhaite à tous bonne chance dans leurs vies personnelles et professionnelles respectives.

Table des matières

1.	Introduction.....	1
1.1.	La Station Fruitière Expérimentale de la Morinière	1
1.1.0.	Historique	1
1.1.1.	Activité et objectifs	1
1.1.2.	Financements et partenaires	1
1.2.	La culture de cassis	2
1.2.0.	Importance commerciale	2
1.2.1.	Caractéristiques techniques et biologiques	2
1.2.2.	Principaux bioagresseurs	3
1.3.	La situation Cassis et <i>P. pentagona</i>	4
1.3.0.	<i>Pseudaulacaspis pentagona</i>	4
1.3.1.	Lutte contre ce ravageur	6
1.3.2.	<i>Rhizobius lophantae</i> (Blaisdell)	8
1.3.3.	Capacité de prédation et d'adaptation de <i>R.lophantae</i>	9
1.4.	Le Projet Rhizodia	11
1.4.1.	Montage et Objectifs du Projet	11
1.4.1.	Travaux effectués de 2012 à 2015	12
1.4.2.	Annonce du plan du mémoire	13
2.	RhizoDia 2016 – 2018.....	13
2.1.	Introduction	13
2.2.	Matériels et Méthodes	14
2.2.1.	Dispositif expérimental	14
2.2.2.	<i>Pseudaulacaspis pentagona</i>	15
2.2.3.	<i>Rhizobius lophantae</i>	15
2.2.4.	Traitement statistique	17
2.3.	Résultats	18
2.3.1.	Cycle de la cochenille	18
2.3.2.	Infestation des parcelles	19
2.3.3.	Densité de population	20
2.3.4.	Hivernation des <i>R. lophantae</i>	20
2.3.5.	Frappages	20
2.3.6.	<i>R.lophantae</i> d'introduction	21
2.3.7.	Analyses génétiques	21
2.4.	Travaux exploratoires & résultats complémentaires	21
2.4.1.	Influence du climat	21
2.4.2.	Rendements	22
3.	Discussion.....	22
3.0.	Discussion des résultats	22
3.0.1.	Cycles de <i>P.pentagona</i>	22
3.0.2.	Infestation à l'échelle de la parcelle	22
3.0.3.	Densité de cochenilles vivantes sur rameaux infestés	23
3.0.4.	Hivernation des <i>R.lophantae</i>	24
3.0.5.	Frappages en saison	24
3.0.6.	<i>R.lophantae</i> d'introduction	25
3.0.7.	Analyses génétiques	25
3.1.	Pertinence des mesures et observations	25
3.2.	Influence mutuelle proie/prédateur	27
3.3.	Influence du climat	28
3.3.1.	Adaptation de <i>R.lophantae</i> au climat	28

	3.3.2. Remontée de <i>P.pentagona</i> vers le Nord – causes et limites	28
	3.3.3. Données météo de Saint-Epain	29
	3.4. Impacts des pesticides	30
	3.5. Aspects technico-économiques	31
4.	Conclusions sur le projet.....	32
	4.1. Limites du projet	32
	4.2. Réussites du projet	33
	4.3. Quels verrous techniques ?	34
	4.4. Quelles perspectives de transpositions ?	35
	4.5. Quelles leçons tirer de <i>Rhizodia</i> ?	35

Liste des Annexes

I	Calendriers de traitements des producteurs
II	Exemple de plan d'expérimentation chez le producteur
III	Positionnement des mesures et interventions pendant les 3 ans du projet
IV	Résumés des modèles statistiques utilisés pour l'analyse des données en 2018
V	Table des dates des cycles de <i>P.pentagona</i>

Liste des Tables

1	Présentation synthétique des parcelles expérimentales
2	Résumé des 3 ans de notation d'infestation des buissons en Mars
3	Résumé des tests ANOVA pour les différents modèles utilisés dans ce rapport
4	Interprétation des résultats de l'analyse génétique
5	Etat initial des parcelles en Mars 2016 (Source : Gouvriou, 2016)

Liste des Figures

- 1 Situation géographique de la station de la Morinière (source : Géoportail)
- 2 Organigramme simplifié de la Morinière (S.Dauffouis)
- 3 Production européenne de cassis (S.Dauffouis – fond de carte Wikimedia Commons)
- 4 Fruits du cassissier (photographie : la Morinière)
- 5 Stades phénologiques du cassis (Le Cassis, monographie du CTIFL, 2001)
- 6 Résumé du cycle biologique de *P.pentagona* en région Pays de la Loire (Trillot et al., 2001)
- 7 Femelle de *P.pentagona* dans son bouclier cireux (Simon Dauffouis)
- 8 Carte de la répartition géographique de *P.pentagona* (OEPP, 2018)
- 9 Forme adulte de *R.lophantae* (source : http://www.coleo-net.de/coleo/bilder/rhizobius_lophanthae_hab.jpg)
- 10 Carte des sites expérimentaux du Val de Loire (Simon Dauffouis – fond de carte Géoportail)
- 11 Planche de notation de l'infestation des buissons (source : la Morinière)
- 12 Evolution de l'infestation à l'échelle de la parcelle – Sites 1 à 4
- 13 Evolution de l'indice d'infestation moyen à l'échelle de la parcelle – Sites du Val de Loire
- 14 Sachets de conditionnement pour lâchers de *R.lophantae* (Source : Simon Dauffouis)
- 15 Bandes cartonnées pour relevés hivernaux des *R.lophantae* (source : la Morinière)
- 16 Fagots de bambous pour relevés hivernaux des *R.lophantae* (source : la Morinière)
- 17 Frappage de cassissier pour collecte de *R.lophantae* (source : Simon Dauffouis)
- 18 Boîtes d'observation des *R.lophantae* à la Morinière (source : Simon Dauffouis)
- 19 Graphique des dates clefs des cycles de *P.pentagona* et des lâchers de *R.lophantae*
- 20 Evolution de la densité d'infestation - sites 1 à 4
- 21 Moyennes des racines des densités de cochenilles (cochenille/dm²) sur les 3 ans du projet
- 22 Somme des *R.lophantae* récupérés en abris hivernaux en Mars 2017
- 23 Somme des *R.lophantae* récupérés en abris hivernaux en Mars 2018
- 24 *R.lophantae* comptés lors de frappages sur les sites du Val de Loire
- 25 *R.lophantae* comptés lors de frappages sur les sites 2 et 3
- 26 *R.lophantae* comptés lors de frappages sur le site 1
- 27 Planche anatomique du dimorphisme sexuel chez *R.lophantae* (photographies Simon Dauffouis, la Morinière)
- 28 Dimorphisme sexuel chez *R.lophantae* (Stathas et al., 2002)
- 29 Extrait commenté de l'arbre phylogénétique des analyses génétiques de 2018
- 30 Evolution des températures minimales et maximales mesurées à la station la Morinière sur les 3 ans du projet RhizoDia
- 31 Cumuls des rendements en tonnes par hectare des sites du Val de Loire
- 32 Evolution de l'écart de rendement moyen entre les parcelles Introduction et Référence pendant les 3 ans de RhizoDia
- 33 Comparaison de la densité de cochenilles vivantes et de la présence de *R.lophantae* sur les 4 sites du Val de Loire
- 34 Comparaison de la densité de cochenilles vivantes et de la présence de *R.lophantae* sur le Site 2

Liste des abréviations

A.D.N : Acide DésoxyriboNucléique, molécule porteuse de l'information génétique chez les êtres vivants.

A.F.I.D.E.M : Association Française Interprofessionnelle des Fruits et Légumes à Destinations Multiples.

A.proclia : *Aphytis proclia* (Walker 1839).

A.R.E.F.L.E.C : Association de Recherche et d'Expérimentation sur les Fruits et Légumes en Corse.

B.P.E : Bonnes Pratiques d'Expérimentation.

C.O.I : gène mitochondrial codant pour la protéine nommée Cytochrome C Oxydase.

C.T.I.F.L : Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes.

E.berlesei : *Encarsia berlesei* (Howard 1906).

G.I.S : Groupement d'Intérêt Scientifique.

I.B.A : International Blackcurrant Association.

I.D.F.e.L : Initiative Développement Fruits et Légumes.

I.N.R.A : Institut National de la Recherche Agronomique.

O.P : Organisations de Producteurs.

P.C.R : « Polymerase Chain Reaction », méthode de biologie moléculaire permettant de multiplier en grande quantité un brin précis d'A.D.N.

P.pentagona : *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni Tozzetti, 1886).

R.lophantae : *Rhizobius lophantae* (Blaisdell 1892).

Référence (-) : classe des parcelles sans traitement anti-cochenilles.

Référence (+) : classe des parcelles traitées à l'anti-cochenille (chlorpyriphos-méthyl).

1. Introduction

Le projet RhizoDia, sujet principal de ce rapport, fait l'objet d'une coopération entre le CTIFL, la Station Expérimentale de la Morinière, l'INRA de Sophia-Antipolis, l'entreprise Koppert et la Chambre d'Agriculture de Côte-d'Or. Le GIS « Fruit » concourt aussi à son financement. Ce stage a donc bénéficié de l'encadrement de Philippe Guigneault de la Morinière, et de Nicolas Ris de l'Institut Agrobiotech (Centre INRA PACA).. La majorité des tâches expérimentales étant assurée par la Morinière, le choix est fait dans ce rapport de présenter uniquement cette structure, qui s'occupe aussi de cette problématique depuis 2013.

1.1. La Station Fruitière Expérimentale de la Morinière

1.1.0. Historique

La Station Expérimentale de la Morinière a été fondée en 1980, près de Saint-Épain (37800) en Indre-et-Loire (cf. Fig.1). Elle est créée à l'initiative de professionnels de la production fruitière de la région, et les premières cultures qui y sont plantées sont des vergers de pommes et de poires. En 1982, le réseau d'irrigation est installé, et 2 bassins de rétention d'eau sont creusés pour l'alimenter. 5 ans plus tard, une unité de conservation comprenant un laboratoire d'analyse et 6 chambres froides est construite, pour accompagner la création d'un Groupe Technique Qualité Conservation. En 1996 le Groupe Technique Petits Fruits est constitué pour répondre à la demande des producteurs, et 0.3 ha de cassissiers sont plantés sur le domaine de la station. Des groseilliers seront rajoutés quelques années plus tard. En 2000, un Groupe Technique Verger Agrobiologique est créé, et une surface initiale de 0.8 ha de pommiers et poiriers est plantée (aujourd'hui la surface en Agriculture Biologique représente environ 3 ha) et agréés par Ecocert. En 2010, dans le cadre du plan Ecophyto, la Morinière monte un réseau DEPHY Ecophyto avec une dizaine de producteurs du Val de Loire. Aujourd'hui la station couvre 65 hectares, dont 36 hectares plantés en pommiers, poiriers, cassissiers et groseilliers. Deux structures sont impliquées dans le fonctionnement de la Morinière : l'Initiative Développement fruits et Légumes (IDfel) pour la direction administrative et le Centre Interprofessionnel des Fruits et Légumes (CTIFL), ayant la responsabilité technique. La Commission d'Orientation et des Programmes (COP), constitué de professionnels adhérents, définit les orientations des actions à mener sur la station. Un conseil de gérance constitué d'une dizaine de membres, des responsables professionnels, des membres de l'INRA ou du CTIFL, décident des grands investissements et des grandes orientations de la station.

1.1.1. Activité et objectifs

L'objectif de la Station Expérimentale de la Morinière est de fournir un appui technique aux producteurs, *via* la mise en place d'expériences et l'acquisition de références. Des journées techniques, des réunions et des comités de pilotages permettent d'assurer la remontée des demandes des producteurs et la transmission des résultats de la station. Les différents groupes techniques de la station répondent à différents enjeux (cf. Fig. 2) pour soutenir les producteurs sur tous les aspects de la filière. Aussi, 3 axes de travail prioritaires ont été définis à l'échelle de la Morinière : 1 – Qualité du produit pour le consommateur, 2 – Méthodes de production respectueuses de l'environnement, 3 - Maîtrise et réduction des coûts de production. Afin d'assurer un bon transfert des résultats et des techniques aux professionnels de la région, la station est équipée de façon semblable à une exploitation arboricole classique.

1.1.2. Financements et partenaires

Pour financer ses activités, la structure bénéficie de plusieurs sources de fonds : une cotisation des producteurs adhérents, des fonds publics émanants de FranceAgriMer, des conseils

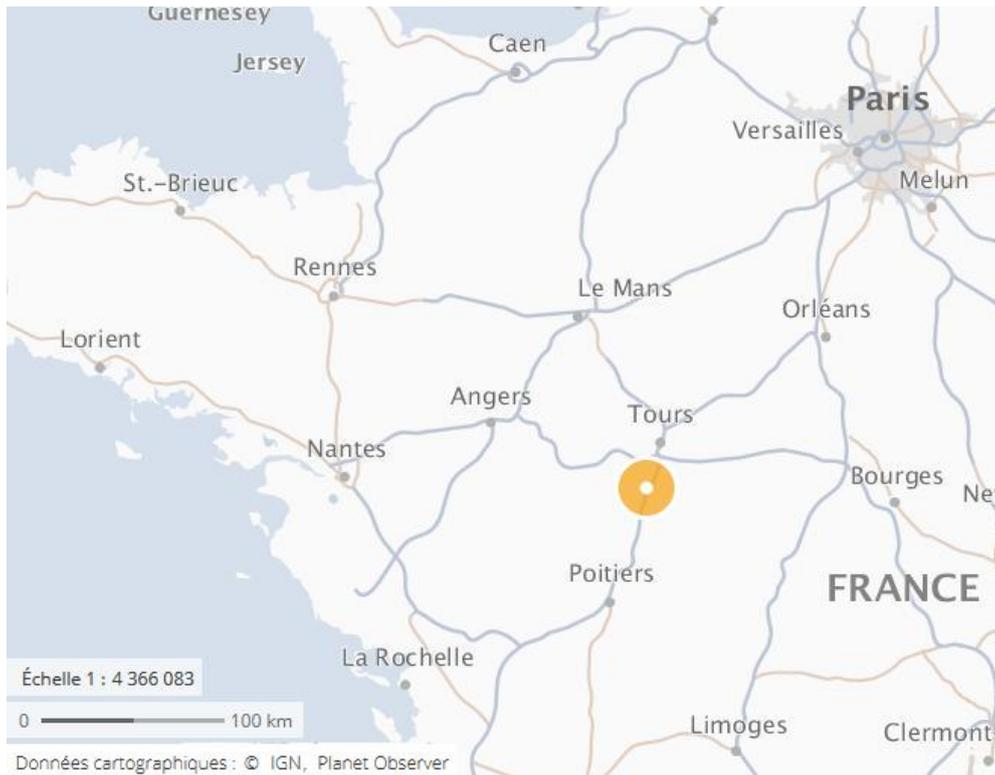


Figure 1 : Situation géographique de la station de la Morinière (source : Géoportail)

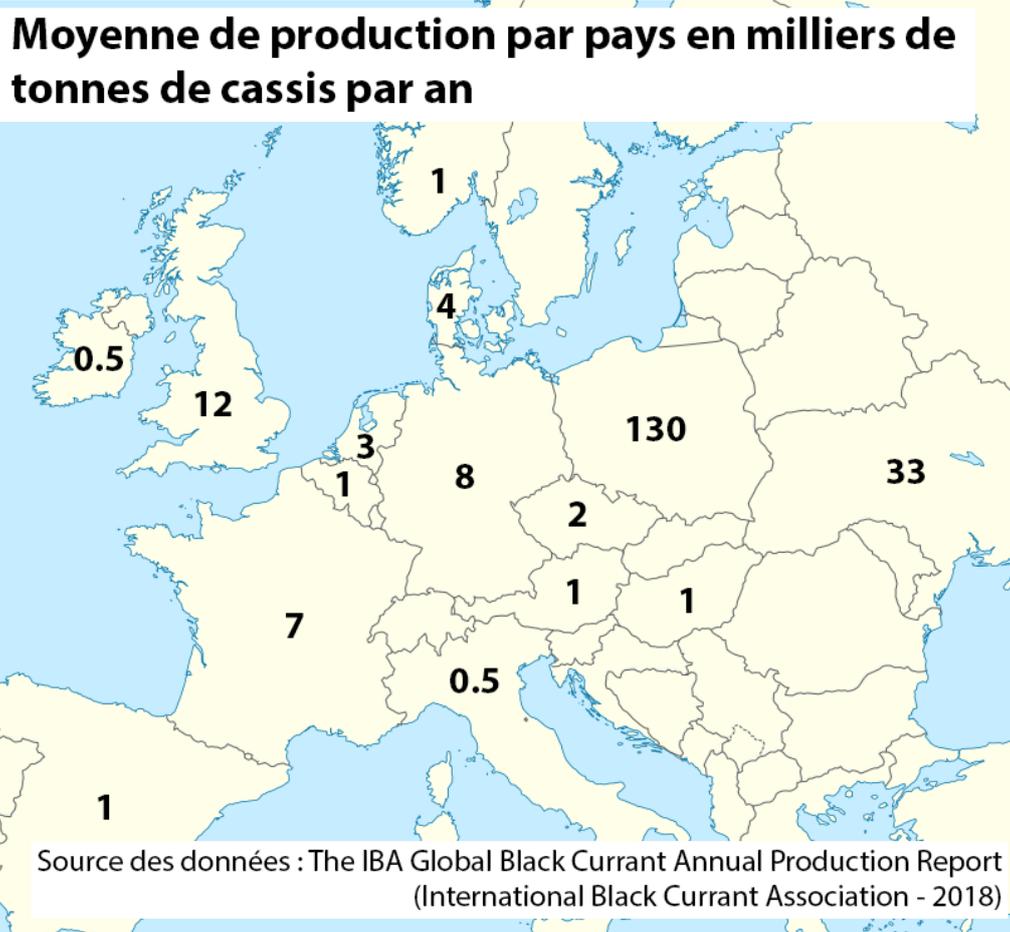


Figure 3 : production européenne de cassis (S.Dauffouis – fond de carte Wikimedia Commons)

régionaux des Pays de la Loire, du Centre Val de Loire, de Poitou-Charentes et des Hauts de France. La récolte de pommes et de poires est également en grande partie vendue, la Morinière étant membre de la coopérative Vergers d'Anjou, pour une production qui peut atteindre 1400 tonnes à l'année, pommes et poires confondues (comm. pers. Guigneault, 2018). La Station est aussi agréée pour effectuer des essais BPE, ce qui lui permet de réaliser des essais sous contrats avec des firmes privées. Les essais sur lesquels les techniciens et ingénieurs de la Morinière travaillent peuvent être menés en coopération avec des structures extérieures (OP, INRA, etc). Un partenariat permanent est pour l'instant en place avec le CTIFL, des employés de cet organisme étant présents en continu sur la station.

1.2. La culture de cassis

1.2.0. Importance commerciale

La culture du cassissier ou cassis est d'importance secondaire à l'échelle française, avec une surface cultivée d'environ 2500 hectares (en stagnation depuis 2009) et une production moyenne d'environ 7000 tonnes par ans, qui classe la France en troisième producteur européen. Du fait de sa faible surface de culture, le cassis est considéré comme une production mineure ou « orpheline » (Dalstein et al., 2016). En 2017, la production sur le territoire était de 8160 tonnes. La grande majorité de la récolte annuelle est destinée à la transformation, la principale production française étant celle de liqueur de cassis. Au total la filière génère un chiffre d'affaires d'environ 100 millions d'euros. Les 3 variétés majoritairement cultivées en France sont Blackdown, Noir de Bourgogne et Andéga, et les principales régions de production sont le Val de Loire (40-50% du tonnage), la Vallée du Rhône (20-30%) et la Bourgogne (10-30%). La variété Noir de Bourgogne est presque exclusivement destinée à la liquoristerie, alors que les 2 autres variétés sont destinées à la transformation en d'autres produits. A l'échelle nationale, la majorité de l'expérimentation se penche sur les problématiques de la cochenille *P.pentagona*, du phytopte *Eriophyes ribis*, de l'antrachnose, de la maîtrise des adventices et des escargots. A l'échelle Européenne, la production annuelle avoisine les 200.000 tonnes et la surface de culture est d'environ 51.000 hectares. La Pologne, qui produit en moyenne 130.000 tonnes par an, est le leader incontesté de la culture du cassissier en Europe (cf. Fig. 3). La filière cassis dans son ensemble fait aujourd'hui face à quelques enjeux communs : la production a tendance à diminuer pour des raisons diverses, certains ravageurs comme la cochenille blanche du mûrier (*Pseudaulacaspis pentagona*) et le phytopte (*Eriophyes ribis*) posent des problèmes phytosanitaires. Ou encore, certains atouts pour la santé du cassis méritent d'être diffusés auprès du grand public pour faire remonter sa popularité dans certains pays. (AFIDEM, 2018 ; IBA, 2018 ; Sharma, 2018).

1.2.1. Caractéristiques techniques et biologiques

La plupart des variétés de cassissiers cultivés aujourd'hui appartiennent à l'espèce *Ribes nigrum*, une Grossulariacée originaire des milieux continentaux d'Europe Centrale, de Sibérie et de l'Himalaya. Le cassissier s'adapte bien à tous les types de sols (sauf les sols calcaires sur lesquels il chlorose rapidement) et possède un système racinaire traçant qui n'explore pas sous 40 centimètres de profondeur. Son sol optimal est bien pourvu en argile, en limon et en matière organique, avec un pH compris entre 6.2 et 7.2. Il s'agit d'une espèce basitone, buissonnante, non épineuse, d'une hauteur comprise entre 1 et 2 mètres. Une spécificité du cassissier est son besoin en froid : des périodes à basses températures sont nécessaires à la levée de sa dormance hivernale – mais la plante est également sensible aux gelées printanières, particulièrement celles qui peuvent toucher ses fleurs ouvertes non pollinisées. Du fait de ce besoin en froid, on peut assister à des baisses de production dans les régions occidentales ou méridionales dans lesquelles elle est cultivée. Son fruit se présente en grappes, et est la plupart du temps noir, simple, charnu et polysperme (cf. Fig. 4). Les pousses de l'année sont la plupart du temps non fructifères.

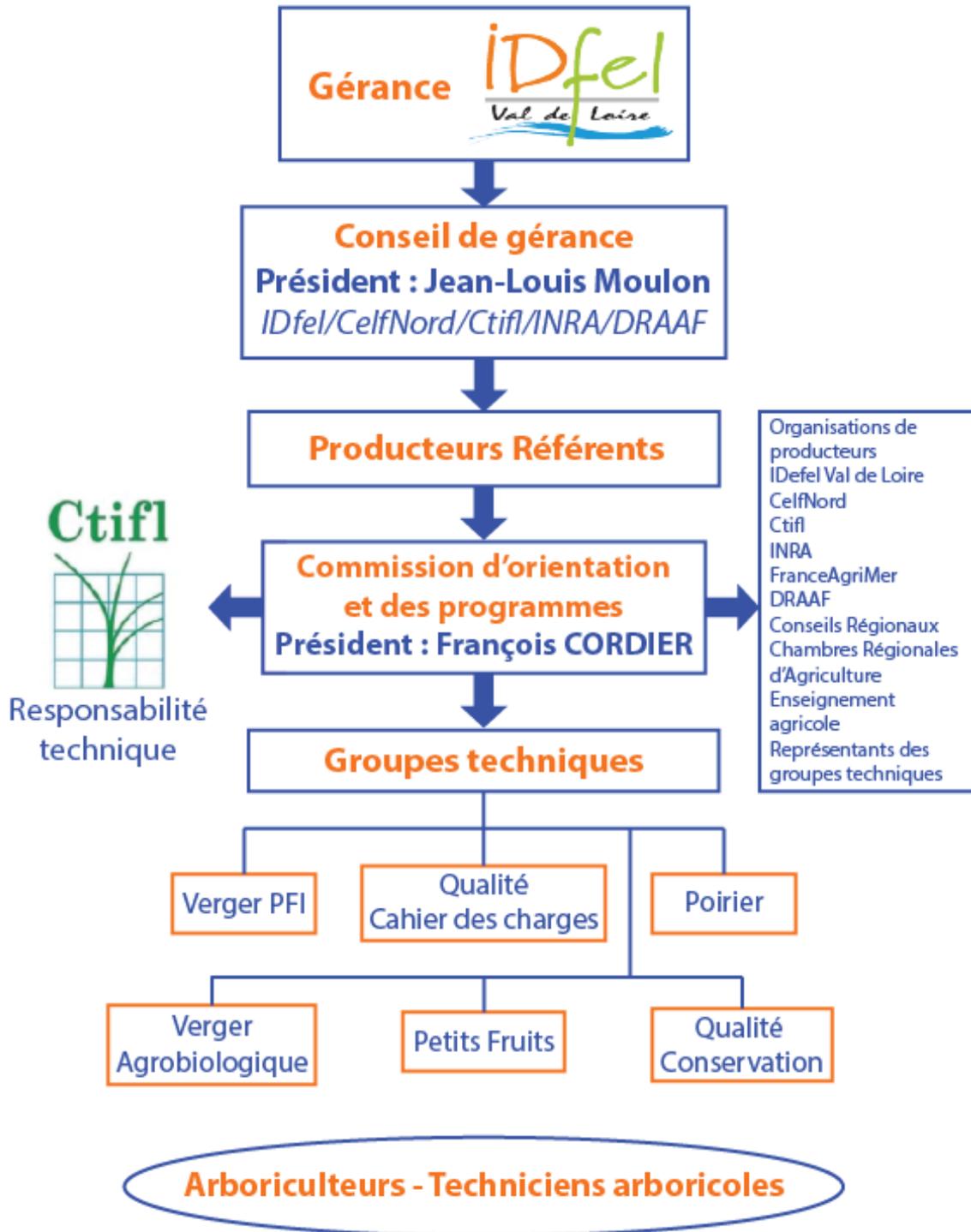


Figure 2 : Organigramme simplifié de la Morinière (S.Dauffouis)

Le cassissier est planté de Novembre à Mars, sous forme de bouture simple ou racinée, espacée de 40 à 60 centimètres sur le rang, avec un espace inter-rang compris entre 2,80 mètres et 3,20 mètres. La densité équivalente est donc comprise entre 6000 et 7000 pieds/hectare. La pollinisation est principalement entomophile, ce qui nécessite parfois d'importer des ruches dans les parcelles en culture si la faune locale est insuffisante. A la période de floraison et en post-récolte, le cassissier est particulièrement exigeant en eau et peut nécessiter une irrigation. La récolte est principalement mécanisée, ce qui nécessite une taille de formation du buisson, mécanisée elle aussi – la taille manuelle étant souvent considérée comme trop coûteuse. Les rameaux vieillissent assez rapidement, et la taille régulière est donc nécessaire pour stimuler le renouvellement des branches et un maintien de la production. La récolte a lieu de fin Juin à fin Juillet selon la variété et le climat considéré. Elle se raisonne grâce à plusieurs critères : couleur du fruit, indice réfractométrique (mesure du taux de sucre du fruit) et calcul d'Actions Chaleur. Cette dernière méthode consiste à convertir les données de températures journalières en « Actions Chaleur » grâce à des abaques, à partir du stade F1 (cf. Fig. 5), qui correspond à la première fleur ouverte sur 50% des grappes portées par le buisson. Pour chaque variété, une valeur de référence donne la somme d'Actions Chaleur correspondant à la maturité optimale pour la récolte (Trillot et al., 2001).

1.2.2. Principaux bioagresseurs

Cette partie est vouée à exposer brièvement quelques bioagresseurs importants de la culture de cassis en France. Le ravageur auquel est entièrement consacré ce mémoire est abordé dans la partie suivante.

- Oïdium : (*Sphaerotheca mors uvae* Schw.) L'oïdium du cassissier est présent en France depuis 1913. Il présente un mycélium blanc qui se développe sur les feuilles (de façon assez visible) et produit des conidies sources d'infestations secondaires. Les étés chauds et humides favorisent le développement de cette maladie. Des variétés comme Andega y sont résistantes.
- Anthracnose : (*Drepanopeziza ribis*) attaque le limbe des feuilles et provoque une chute très précoce du feuillage. Une forte humidité et des températures printanières douces (entre 16°C et 24°C) permettent un développement rapide et invasif de ce champignon.
- Phytoptes : (*Eriophyes ribis* Westwood) Il s'agit d'une espèce d'acarien de très petite taille (de 100 à 250 µm), infestant et se développant dans les bourgeons des cassissiers. Il est présent sur tout le territoire français. Un bourgeon contaminé peut contenir plusieurs milliers d'acariens et est reconnaissable à sa taille : en début de printemps il double voire triple de volume comparé à un bourgeon sain. Ils peuvent aussi transmettre le virus de la réversion du cassis, entraînant d'importantes baisses de rendement.
- Pucerons : 3 espèces sont majoritairement présentes – *Hyperomyzus lactucae* L., *Aphis schneideri* CB. et *Cryptomyzus ribis* L. Ces espèces s'attaquent principalement aux feuilles du cassis, causant boursoufflures et recroquevillements. *A. schneideri* est l'un des plus nuisibles, il provoque un raccourcissement des entrenœuds avec un arrêt de croissance. Certaines espèces peuvent transmettre des viroses impactant fortement le rendement.
- Cécidomyies des feuilles : (*Dasyneura tetensi*) Il s'agit d'un diptère s'attaquant à l'extrémité des pousses végétatives des buissons. Cette espèce enroule les feuilles de l'apex des branches et y pond ses œufs. La croissance des jeunes buissons s'en trouve généralement fortement affectée.

(Trillot et al., 2001 ; Monet, 1989 ; Comm. pers. Guigneault, 2018.)

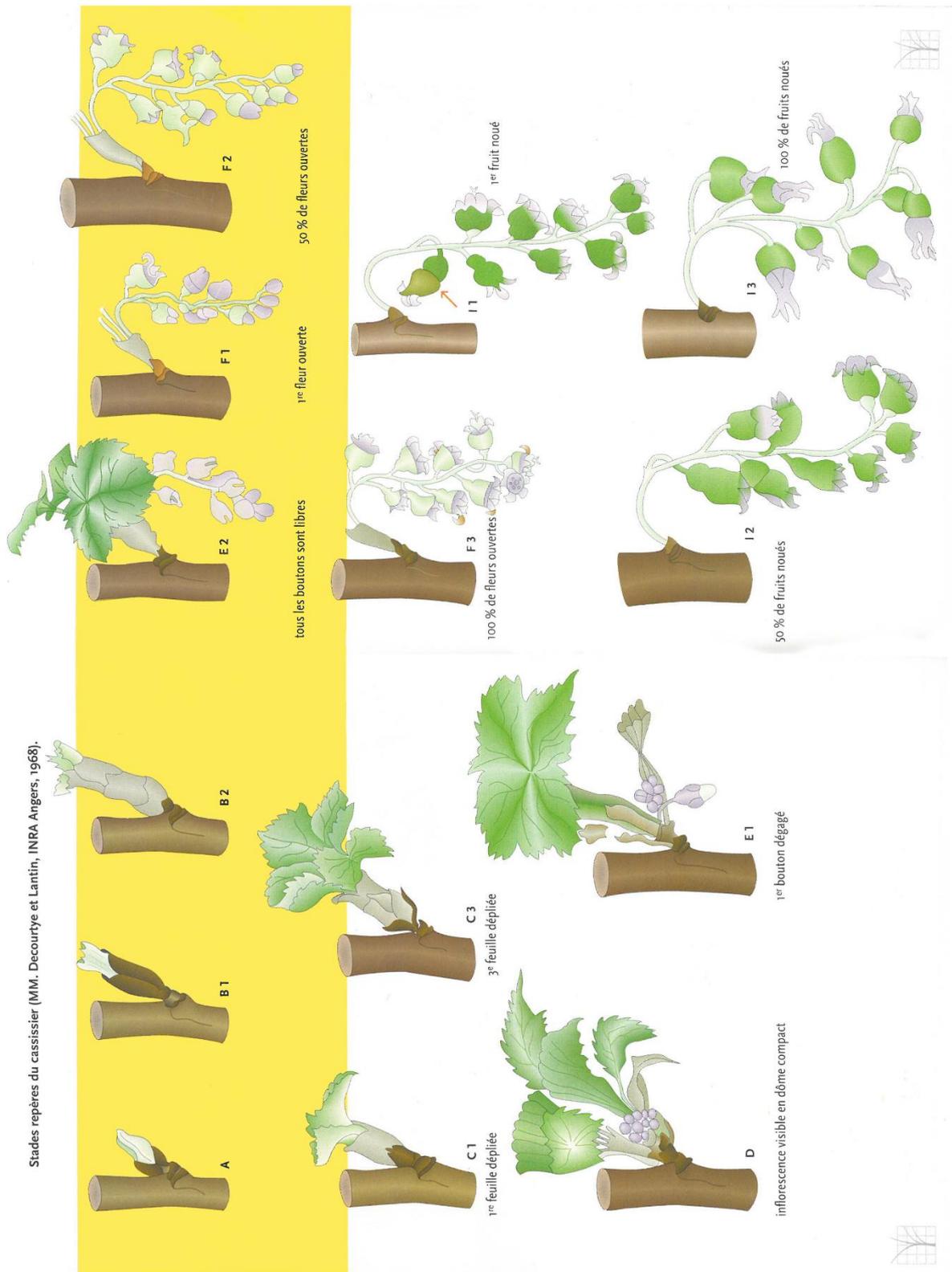


Figure 5 : stades phénologiques du cassis (Le Cassis, monographie du CTIFL, 2001)

1.3. La situation Cassis et *P. pentagona*

La culture de cassis, comme évoqué précédemment, est dite « orpheline ». Etant donné qu'elle ne représente pas un marché très important, peu de substances phytosanitaires ont été homologuées ces dernières années pour un usage sur cassissier. *Pseudaulacaspis pentagona*, la Cochenille Blanche du mûrier, est un insecte ravageur prenant une grande importance ces dernières années. On estime aujourd'hui que 50% des exploitations sont touchées par cet insecte, et les dégâts qu'il provoque peuvent pousser les producteurs à arracher leurs arbustes sans possibilité de replantation, mettant en danger toute la filière. En effet, les exploitants ne disposent pas aujourd'hui de moyen de lutte efficace (Dalstein *et al.*, 2016 ; *comm. pers.* Guignebault, 2018). Les détails concernant ce ravageur, ses caractéristiques et les moyens de lutte à la disposition de la filière sont détaillés dans cette partie du rapport.

1.3.0. *Pseudaulacaspis pentagona*

Pseudaulacaspis pentagona (Targioni Tozzetti 1886) est un insecte de la famille des Diaspididae, membre de la superfamille des cochenilles qui comprend près de 7500 espèces (Williams, 2008). Il s'agit d'un insecte piqueur-suceur dommageable à de nombreuses plantes d'intérêt (Kreiter, 1997). Originaire de l'Asie du Sud-Est, il s'est dispersé dans le monde pendant la deuxième moitié du 19^{ème} siècle (Balachowsky, 1951). Comme toutes les diaspididae il est caractérisé par un bouclier cireux, de forme circulaire ou pseudo-circulaire, qui protège la majorité des stades de son cycle biologique (Dalstein *et al.*, 2016). *P.pentagona* présente aussi un fort dimorphisme sexuel. La femelle est très réduite (elle ne présente pas de pattes), complètement à couvert sous son bouclier, et elle est fixée sur sa plante-hôte. Le mâle est un insecte long d'environ 1 mm, orangé, et il présente 2 ailes. Comparativement à la femelle, il ne vit que sur une courte période, pendant laquelle il cherche activement à se reproduire (Yonce & Jacklin, 1974).

Cycle biologique de *Pseudaulacaspis pentagona* (résumé en figure 6)

Les œufs sont pondus, dans nos régions, à partir de Avril / début Mai (Dalstein *et al.*, 2016). On peut alors déjà distinguer les mâles des femelles : les œufs de couleur blanche donneront principalement des mâles alors que ceux des femelles sont orangés (Brown & Benett, 1957). Des œufs roses, assez fréquents, peuvent donner des larves des 2 sexes. La durée de la ponte varie entre 20 jours à 26°C et 50 jours à 13°C (à température constante) (Ball *et al.*, 1980). La femelle pond alors entre 50 et 200 œufs selon les conditions environnementales, avec un sex-ratio autour de 1:1. Peu après la fin de la ponte, celle-ci meurt. L'éclosion des œufs commence début Mai, 3 à 5 jours après la ponte si la température avoisine constamment les 26°C, jusqu'à 10 jours après la ponte à 15°C. La température seuil de développement de la cochenille est estimée à environ 10°C. (Brown & Benett, 1957 ; Hank & Denno, 1993 ; Erkiliç & Uygunvers, 1997). Il est à noter que la première ponte, effectuée par les femelles hivernantes, est souvent plus importante que la ponte estivale (*comm. pers.* Kreiter, 2018). Sortant des œufs, le premier stade larvaire est mobile ; il se déplace quelques heures puis se fixe sur sa plante-hôte pour y planter son rostre. Il s'agit du seul stade mobile de *P.pentagona* exception faite du mâle adulte, et il est nommé « crawler » (« rampant ») dans la littérature anglophone. Ces larves mobiles ne sont actives qu'une douzaine d'heures, et par conséquent leur rayon de dispersion est assez réduit ; néanmoins les larves femelles vont se disperser plus loin que les larves mâles, qui restent relativement près de leur lieu de ponte (les larves conservent au passage la couleur de leur œuf d'origine). Ce sont donc les femelles qui vont propager l'infestation aux branches et buissons voisins, par déplacement actif ou par transport passif (par le vent par exemple, comme décrit par Quayle (1916) et Mathys (1953)). Il s'agit aussi du stade le plus sensible à un traitement chimique ou à la prédation, du fait de l'absence de protection par un bouclier (Dalstein *et al.*, 2016 ; Benassy, 1958a ; Van Duyn & Murphey,



Figure 4 : fruits du cassissier (photographie : la Morinière)

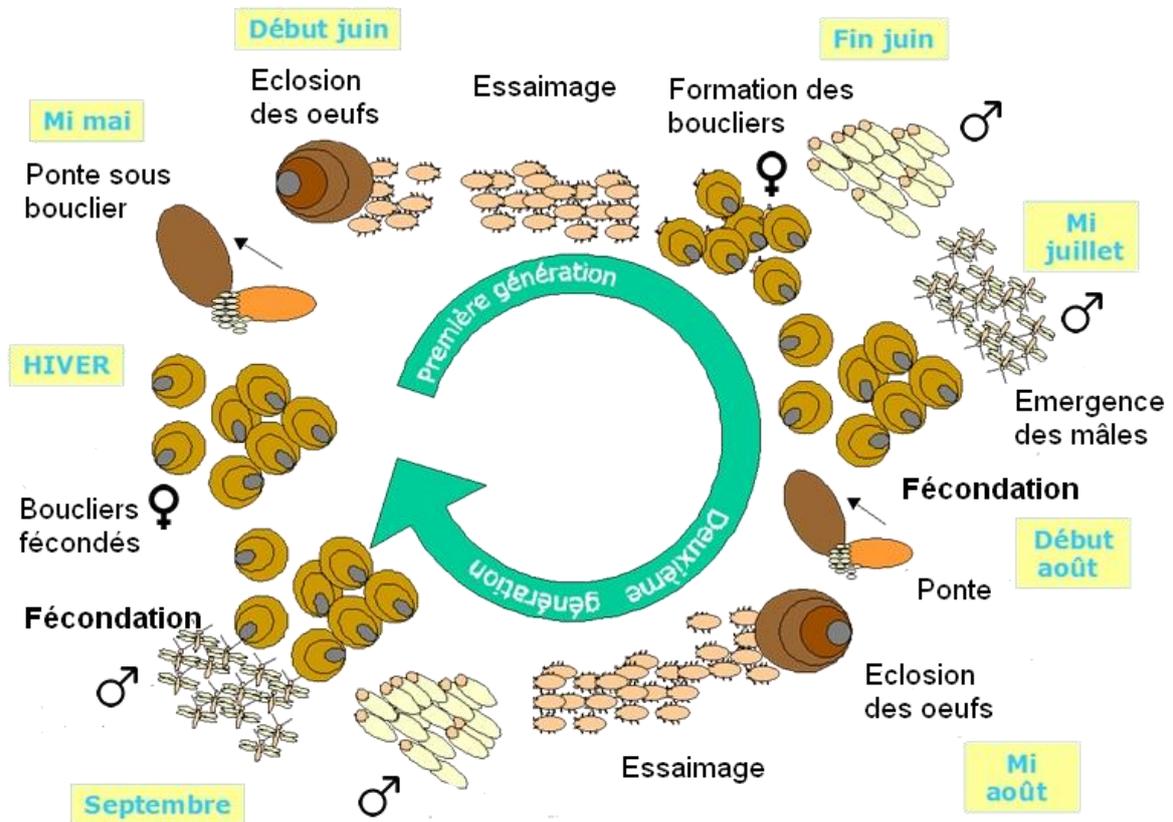


Figure 6 : résumé du cycle biologique de *P. pentagona* en région Pays de la Loire (Trillot et al., 2001)

1971 ; Kuitert, 1967 ; Hanks & Denno, 1993). Les larves en question profitent parfois de la protection offerte par les boucliers des générations de cochenilles précédentes en se glissant en dessous – créant ainsi un empilement pouvant atteindre 7 générations successives – et augmentant leur résistance aux agressions extérieures. Cela résulte aussi à des encroutements bien visibles sur les branches infestées, contenant des boucliers vides et des cochenilles vivantes – rendant ainsi difficile une évaluation visuelle de l'infestation réelle (Van Duyn & Murphey, 1971 ; Nicolas, 1988).

Le deuxième stade larvaire, fixe, est celui pendant lequel les larves femelles élaborent leur bouclier cireux et blanc crème – ce bouclier incorpore alors la mue du stade précédent. Les mâles quant à eux forment des *puparia* en forme de gaine blanche, dont les amas sont bien visibles sur les branches touchées (Van Duyn & Murphey, 1971).

Après ce deuxième stade larvaire, les deux sexes atteignent leur stade adulte. Les femelles effectuent leur dernière mue quelques heures avant l'émergence des mâles, à la mi-juillet. Dès leur sortie de mue les mâles vont chercher à féconder les femelles. S'il s'agit de cochenilles de la première génération estivale, le cycle va alors recommencer. En revanche, s'il s'agit de la deuxième génération, les femelles fécondées vont entrer en hibernation pour donner naissance à la première génération du printemps suivant (Van Duyn & Murphey, 1971 ; Hanks & Denno, 1973 ; Yonce & Jacklin, 1974). Il est à noter que cette cochenille est incapable de se reproduire par parthénogénèse ; l'accouplement est obligatoire pour la reproduction, et la détermination du sexe de la descendance est chromosomique (Benassy, 1958a). Aussi, lors d'un examen d'une branche infestée, on peut différencier les cochenilles vivantes des mortes ou des mourantes de par leur couleur. Les femelles saines ont une teinte variant de jaune citron à jaune orange (Baggioni *et al.*, 1993) (cf. Fig 7).

Ces cycles peuvent s'étaler sur de longues périodes. En effet, les cochenilles sont sensibles aux conditions climatiques très locales : Schmutterer (1952) a noté un décalage pouvant atteindre 2 à 3 semaines entre des individus exposés au Sud et au Nord de la même branche sur pêcher. L'espèce de la plante hôte, outre les conditions climatiques, joue un rôle important dans le cycle de l'insecte et dans sa survie hivernale. *P.pentagona* est un insecte dit « de foyers », ayant une agressivité très hétérogène dans son infestation des différentes plantes d'une parcelle, et dans les branches d'une même plante infestée (Benassy, 1958a ; Nicolas, 1988). Le cycle va se répéter en un nombre variable de générations selon la région géographique où la cochenille se développe. 4 générations ont été observées en Floride (USA) (Kuitert, 1967), 3 en Turquie ou à Antibes, 2 à Lyon (Erkiliç & Uygun, 1995 ; Nicolas, 1988) et seulement 1 à Nancy (Kreiter & Marro, 1997).

Répartition géographique de la cochenille blanche du mûrier

En 1937, Ferris présentait déjà *P.pentagona* comme un insecte à répartition géographique pratiquement cosmopolite. Il l'a décrit comme s'attaquant à tous types de végétaux ligneux, sauf peut-être aux conifères. Un recensement fait par Borkhsenius en 1966 liste 46 pays sur les 5 continents attaqués par la cochenille. En 1988, une carte publiée par CAB International établissait un état des lieux mondial, montrant que *P.pentagona* était présente sur les côtes Est de tout le continent américain, en Europe et autour de la Méditerranée, en Europe Centrale, au Moyen-Orient et autour de la Mer Noire, en Egypte, en Afrique du Sud et à Madagascar, en Australie, dans les îles d'Océanie, en Australie, en Asie du Sud-Est et de l'Est ainsi que dans de nombreuses îles du Pacifique. Il était alors considéré comme un ravageur de nombreux arbres fruitiers. Il a fait ponctuellement l'objet d'études plus locales, qui font état des plantes qu'il infeste et des dégâts qu'il cause : sur pêchers en Turquie où il cause des pertes importantes (Erkiliç & Uygun, 1995) ou sur mûriers, cassissiers, groseilliers et noyers en Suisse (Baggioni *et al.*, 1993). Selon un état de l'art établi par Kreiter en 1997, *P.pentagona* s'attaquerait à 241 plantes, réparties dans de nombreuses régions du globe. La figure 8 expose une carte de l'OEPP qui montre la répartition mondiale du ravageur telle qu'elle est connue aujourd'hui.



Figure 7 : Femelle de P.pentagona dans son bouclier cireux (Simon Dauffouis)

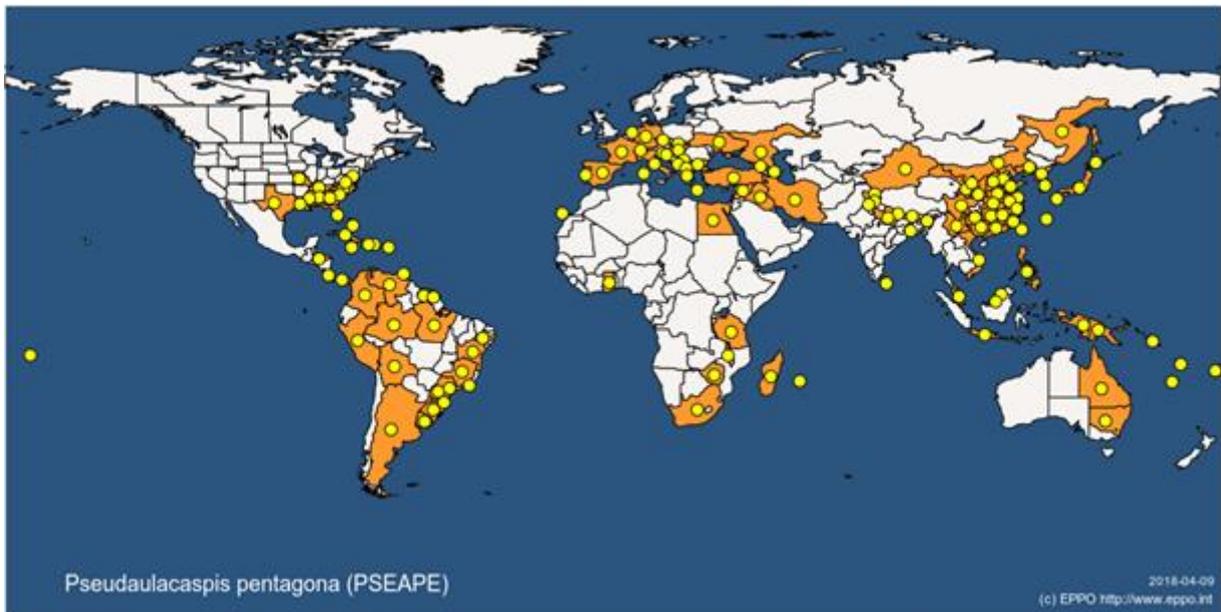


Figure 8 : carte de la répartition géographique de P.pentagona (OEPP, 2018)

Historique de l'infestation en Europe et en France

Le premier foyer de *P.pentagona* a été signalé en Europe en 1886, au Nord de l'Italie. Elle s'est naturellement propagée dans les régions environnantes grâce aux cultures de mûriers, jusqu'à atteindre la France Méditerranéenne (Berlese, 1910 ; Balachowsky, 1951). Du fait de la première culture sur laquelle elle a fait des dégâts notables, elle fut communément appelée « cochenille blanche du mûrier ». Elle fut observée pour la première fois en France par Vayssière en 1918 sur pêchers et brugnoniers près de la frontière italienne le long de la côte. La cochenille s'est étendue à partir de ce point, et en 1958 Benassy relevait des attaques de *P.pentagona* sur pêchers dans le Bassin Méditerranéen et dans la région Lyonnaise. Dans le Roussillon, Nicolas faisait état en 1988 d'attaques sur amandiers, pêchers, et kiwi. Après une période de stagnation, elle a été signalée en recrudescence dans les vergers de pêchers du Sud-Est en 1997 (Chabrière *et al.*). Puis en 1997, Kreiter & Marro relevaient sa présence dans le Nord de la France. Un autre signalement a été fait en Charentes en 1998, et *P.pentagona* aurait fait son apparition dans le Val de Loire autour de l'an 2000, les premiers essais la concernant à la Morinière étant engagés en 2002 et 2003 (comm. pers. Guigneault, 2018). La cochenille blanche du mûrier est alors devenue problématique dans les cultures de cassissiers en France. Au début des années 2000, elle était qualifiée de « principal ravageur » des cultures de cassis dans la région Rhône-Alpes (L'Iserine, 2002). Son impact sur cette culture est difficilement quantifiable, mais il est important : cet insecte piqueur-suceur prélève de la sève, affaiblissant d'abord le buisson, réduisant sa productivité, puis le conduit à une mort prématurée. Les parcelles infestées, représentant environ 50% de la surface cultivée, dépérissent rapidement et la perte de rendement peut atteindre 50% en 2 ans. Dans le Val de Loire et en Bourgogne, régions productrices de cassis, *P.pentagona* a deux générations par an (Dalstein *et al.*, 2016).

1.3.1. Lutte contre ce ravageur

Dans un premier temps, on peut citer quelques méthodes de prophylaxie indispensables pour lutter contre *P.pentagona*. Il convient d'observer régulièrement sa parcelle, d'arracher les pieds gravement touchés et de tailler les branches infestées. Guyot et Quilici (1987) recommandent de détruire les déchets de taille en verger en les brûlant et d'éliminer les plantes spontanées potentiellement hôtes aux alentours des parcelles. Si les foyers sont peu nombreux, un broissage soigneux des plantes infestées semble endiguer efficacement la propagation de la cochenille (Baggioni *et al.*, 1993), même si cela semble peu réalisable sur cassissier. Ces efforts sont nécessaires, mais Nicolas (1988) souligne l'importance de la protection phytosanitaire en pépinière ; en effet de jeunes plants ou greffons infestés peuvent être les sources d'un inoculum primaire.

En 2018 seulement 2 substances actives sont homologuées contre la cochenille sur cassissier, en plus d'huiles blanches appliquées en hiver (et partiellement efficaces selon Dalstein *et al.*, 2016). Il s'agit du chlorpyrifos-méthyl et du thiaclopride (ANSES, 2018a).

- Huile de paraffine – 400 g/L. Noms commerciaux : Polithiol®, Ovipron Super®, Ovithiol®. (Société : UPL Europe Ltd.) Fonctions : Insecticide, acaricide. Limité à une application par an. (ANSES, 2018c) La bouillie de ce produit est sensé recouvrir les branchages des cassissiers pour asphyxier les cochenilles ciblées. L'efficacité au verger n'est pas suffisante pour contenir les infestations de *P.pentagona* (Com.pers. Guigneault, 2018).
- Chlorpyrifos-méthyl – 225 g/L. Noms commerciaux : Reldan 2M®, Exaq 2M®, Zertell 2M®. (Société : DOW Agrosociences SAS) Fonction : Insecticide. Spécialité similaire à Pyrinex M®. Limité à une application par an, en post-récolte (ANSES, 2018b). Le chlorpyrifos-méthyl est de la famille des organo-phosphorés, il s'agit d'un insecticide à large spectre actif sur le système nerveux des insectes. L'efficacité au verger n'est

pas suffisante pour contenir les infestations de *P.pentagona* (Com.pers. Guigneault, 2018).

- Thiaclopride – 480 g/L. Noms commerciaux : Calypso®, Alanto®. (Société : Bayer SAS) Fonction : Insecticide. Limité à 2 applications par an, avec un délai avant récolte de 3 jours (ANSES, 2017). Le thiaclopride est un organochloré de la classe des Néonicotinoïdes, actif sur le système nerveux des insectes. L'efficacité au verger n'est pas suffisante pour contenir les infestations de *P.pentagona* (Com.pers. Guigneault, 2018).

Plusieurs auteurs, dont les acteurs de RhizoDia, constatent que les traitements insecticides sont insuffisants pour éradiquer la cochenille (Yonce & Jacklin, 1974 ; Dalstein *et al.*, 2016). Dans les années 1980 le niveau d'infestation remonte dans les vergers de pêcheurs du Roussillon. Fratantuano (1988) est confronté à l'inefficacité des insecticides et décrit quelques facteurs responsables de cet échec : les produits pulvérisés ne peuvent pas atteindre le cœur de l'arbre à cause du feuillage, les producteurs ne font pas assez d'observations pour déduire la date d'essaimage (et donc positionner leurs traitements), et les traitements à l'huile blanche ont été abandonnés pendant quelques années de cette période. De plus, il souligne l'importance du rôle des pépiniéristes, qui n'auraient pas effectué de contrôle sanitaire suffisant.

Face à cette efficacité pour le moins partielle, il convient d'examiner le rôle des auxiliaires de culture, les arthropodes naturels prédateurs ou parasites de *P.pentagona*. En effet, cette cochenille cosmopolite est accompagnée de tout un cortège d'ennemis naturels, répartis dans les différentes régions du monde. *Adalia bipunctata* (L.) est relevée comme étant prédatrice de *P.pentagona* en Pennsylvanie. 10 espèces du genre *Chilocorus* (Coccinellidae) sont aussi prédatrices, réparties en Amérique, en Europe, en Asie et en Afrique. La coccinelle asiatique *Harmonia axyridis* semble aussi s'attaquer à la cochenille en Corée. Une autre coccinellidae, *Rhyzobius lophantae*, est relevée sur les deux continents américains, ainsi qu'en Europe Méditerranéenne, en Europe Centrale, en Russie, en Géorgie, mais aussi à l'île de la Réunion et dans les Bermudes. Deux espèces du genre *Scymnus* sont actives en Europe Centrale et au Japon. Concernant les parasitoïdes, 4 espèces du genre *Aphytis* sont réparties de façon cosmopolite dans les régions peuplées par *P.pentagona* (Kreiter & Panis, 1998).

L'action d'insectes auxiliaires a aussi été relevée dans certaines concernant un contexte précis. Par exemple, à la Réunion la population indigène de parasites des genres *Aphytis* et *Prospaltella* se développent (sur Géraniums et pêcheurs) sur *P.pentagona*, ainsi que des prédateurs comme *Chilocorus sp.* et *Rhyzobius lophantae* en moyenne et basse altitude (Guyot & Quilici, 1987). Dans le Roussillon, les populations *Aphytis proclia* et *Encarsia berlesei* réduisent significativement les populations de *P.pentagona* dans les vergers de pêcheurs plantés en variétés précoces et peu traitées aux insecticides (Nicolas, 1988). Concernant la culture de cassis, 3 insectes ont aussi été relevés dans le Val de Loire et en Bourgogne : *Aphytis proclia*, *Encarsia berlesei* et *Rhyzobius lophantae* (Dalstein *et al.*, 2016).

Parmi les ennemis naturels qui viennent d'être cités, *Encarsia berlesei* (Howard 1906) (anciennement *Prospaltella berlesei*) a déjà été utilisé en lutte biologique contre *P.pentagona*. Il s'agit d'un hyménoptère Chalcidoidea-Aphelinidae endophage spécifique à *P.pentagona*, originaire du Japon tout comme son hôte. Il fut introduit à grande échelle dans la région Milanais en 1908. Son acclimatation fut un succès, et en moins de 5 ans il s'est propagé dans la majorité des aires de reproduction de la cochenille ; la nuisibilité de cette dernière fut fortement réduite, et l'efficacité d'*E.berlesei* fut jugé satisfaisante (Benassy, 1958, Balachowsky, 1951). En 1911, Berlese (*in* Benassy, 1958) estimait que ce parasitoïde pouvait s'adapter à son hôte sous tous les climats ; et effectivement *E.berlesei* s'implanta avec succès dans tous les pays où on l'introduit pour contrôler *P.pentagona* (Suire *in* Benassy, 1958). Il faut toutefois considérer que l'installation d'une population pérenne d'un parasite n'est pas garante d'un contrôle suffisant contre un ravageur. Pour ne citer qu'un exemple, *E.berlesei* a été introduit en 1977 dans la province de Guilan, en Iran. Le parasite s'y est

installé avec succès – et donc avec une action de contrôle suffisante – dans seulement 50% des vergers de pêchers où il a été lâché (Hababian, 1981).

Plusieurs facteurs peuvent influencer la réussite du contrôle d'un ravageur par un parasite. Dans les vergers français, bien que s'étant installé de façon pérenne, *E.berlesei* s'est révélé être d'une efficacité inégale. Introduit dans le Bassin Méditerranéen et dans le Lyonnais, l'Aphelinidae s'est montré efficace dans la première région seulement. En effet, malgré un taux de parasitisme atteignant 50% voire 60% en cumulant *E.berlesei* et *Aphytis proclia* (ectoparasite aussi présent sur *P.pentagona* en Méditerranée), la population de cochenille pullule et provoque d'importants dégâts sur pêchers dans le Lyonnais. Plusieurs facteurs ont pu être responsables de cet échec. Premièrement le climat des deux régions diffère : une génération d'*E.berlesei* printanière supplémentaire est présente dans le Bassin Méditerranéen, s'attaquant de façon précoce à *P.pentagona* – de façon générale le Lyonnais est exposé à des températures plus fraîches, ce qui pourrait expliquer un retard du cycle de développement du parasitoïde. Deuxièmement *Aphytis proclia*, cité plus haut, est le parasite Aphelinidae le plus répandu en Méditerranée, et est moins spécifique qu'*E.berlesei* et il peut donc représenter une concurrence pour ce dernier. Troisièmement, le parasitoïde est sensible aux pesticides de la classe des organophosphorés. Ces insecticides à large gamme couramment utilisés et ont pu freiner l'action des Aphelinidae dans les vergers traités de façon intense. De façon plus secondaire, les huiles de pétroles utilisées en traitement hivernal, tuant environ un tiers des cochenilles hivernantes, tue à la même occasion un tiers des endoparasites *E.berlesei* hivernants. Benassy (1958a) considère que la simple fécondité d'un ennemi naturel n'est pas le seul paramètre à tenir en compte dans l'efficacité du contrôle d'un ravageur. Une étude préalable de l'écologie de ce parasite et de son hôte (sous tous les climats) est nécessaire, ainsi que l'examen du spectre d'action des pesticides utilisés dans les vergers concernés (Benassy, 1958a ; Benassy, 1958b ; Benassy, 1962 ; Kreiter *et al.*, 2007).

1.3.2. *Rhizobius lophantae* (Blaisdell)

Cette Coccinellidae, mentionnée plusieurs fois dans la partie précédente, présente plusieurs intérêts pour ce qui est de la lutte contre *P.pentagona*. Après une présentation de l'insecte et de sa biologie, les raisons de sa sélection pour le projet RhizoDia seront explicitées. (Les orthographes *Rhizobius lophanthae* et *Rhizobius lophantae* sont toutes deux valables et utilisées dans la littérature sur le sujet.)

Des populations pérennes de ce prédateur de *P.pentagona* ont été observées dans différentes régions géographiques où se développe la cochenille. Pour reprendre les exemples précédents, on a observé l'activité de régulation de la cochenille par *R.lophantae* dans les vergers de pêchers en Turquie (Erkiliç & Uygun, 1995), en Géorgie Centrale aux U.S.A (Yonce & Jacklin, 1974), à la Réunion sur pêchers et géraniums (Guyot & Quilici, 1987) et en Italie du Sud (Viggiani, 1989 .in Bagglioni *et al.*, 1993). D'autres exemples d'introductions de la coccinelle, ses succès et ses échecs seront abordés dans la partie 3 *Discussion* de ce rapport.

Rhizobius lophantae (cf. Fig. 9) passe par 5 stades larvaires et un stade nymphal avant l'émergence de l'adulte. La température impacte significativement son cycle, de l'œuf à la ponte suivante : de 86,6 jours à température constante de 15°C, il passe à 27,2 jours à 30°C (Stathas *et al.*, 2002). La température seuil pour son développement est comprise entre 7,6°C et 9,3°C (Stathas, 2000b). En conditions contrôlées (25°C, humidité relative 65%), la fécondité moyenne d'une *R.lophantae* est de 663 œufs pondus pendant sa vie, soit entre 18 et 25 œufs par jour en moyenne (Stathas, 2000a). Des observations menées par l'AREFLEC en Corse (Leboulanger, 2010) montrent que la fécondité moyenne de *R.lophantae* est de 68 œufs dans des températures comprises entre 21°C et 26°C et une humidité relative entre 60% et 80%, sur la proie de substitution *Aspidiotus nerii* (Bouché), sur pommes de terres et courges. La coccinelle pond ses œufs sous le bouclier de sa proie, les protégeant de certains aléas climatiques et traitements chimiques. Cela constitue un véritable avantage car cet auxiliaire

Rhizobius lophanthae (Photo: A. Haselböck)



Figure 9 : Forme adulte de R.lophantae
(Source : http://www.coleo-net.de/coleo/bilder/rhizobius_lophanthae_hab.jpg)

serait sensible aux insecticides organochlorés ; le chlorpyrifos-méthyl, utilisé sur cassissier contre la cochenille, appartient à cette famille. Les carbamates sont une autre catégorie de pesticides à laquelle *R.lophantae* est sensible (Smith & Cave, 2006 ; ANSES, 2018b ; Bellows & Morse, 1996).

A leur éclosion, les larves néonates de *R.lophantae* dévorent la cochenille présente sous le bouclier, bien qu'elles présentent une préférence pour les œufs plutôt que pour les jeunes larves de *P.pentagona* (Kreiter & Pannis, 1998 ; Cividanes & Gutierrez, 1996).

Le régime alimentaire de cette coccinelle sur une autre espèce de cochenille diaspine (*Aspidiotus nerii*) a été étudié par Stathas (2000b). La consommation de cochenilles croît d'un stade larvaire à l'autre, avec un net pic de consommation au 5^{ème} et dernier stade larvaire (24 ou 25 cochenilles adultes, contre 7,5 au stade précédent).

Chez les adultes, la femelle consomme entre 8,5 et 12 cochenilles par jour, et pond entre 18 et 25 œufs par jour selon les sources. Le mâle ne consomme quant à lui que 7 œufs par jour (Stathas *et al.*, 2002 ; Cividanes & Gutierrez, 1996). Les coccinelles adultes ont une espérance de vie moyenne de 63,4 jours si elles sont fécondées, contre 119,4 jours sans fécondation (Stathas, 2000a).

R.lophantae se nourrirait préférentiellement sur les premiers et seconds stades des larves de cochenilles diaspines : ceux-ci ont des boucliers fins et souples, alors que les stades suivants sont sclérosés et plus épais, plus coriaces (Honda & Luck, 1995). La coccinelle est ensuite capable d'hiverner à tous les stades (Rubstov *.in* Stathas *et al.*, 2002).

Cet auxiliaire se présente comme un candidat intéressant pour lancer une campagne de lutte biologique par augmentation. En effet, les essais menés par l'AREFLEC ont montré une réduction de l'infestation par *P.pentagona* après des lâchers en vergers de pêchers, pour une densité de 20000 coccinelles/hectare. De plus, une entreprise hollandaise en commercialise déjà, et il semble que *R.lophantae* puisse résister à des conditions de transport : elle atteint un taux de 50% de mortalité au bout de 7 jours sans nourriture (Leboulanger, 2010). De nos jours, la plupart des sachets de conditionnement comprennent une source énergétique comme du miel, ce qui permet de rallonger cette espérance de vie. En termes d'élevage, cette coccinelle se révèle d'ailleurs plus facile à élever en masse que d'autres auxiliaires potentiels, comme les parasites cités dans la partie précédente de ce rapport (Kreiter *et al.*, 2002). Sa fécondité en laboratoire est impressionnante, et elle reste élevée sur le terrain, ce qui lui assure une multiplication rapide. De plus, bien que *R.lophantae* soit originaire d'Australie, elle est déjà naturalisée en France. Elle ne rentre donc pas dans les critères des insectes soumis à autorisation avant introduction (Cloupeau *et al.*, 2008).

Pour l'instant, aucun parasite ou parasitoïde n'a été relevé sur cette coccinelle, et sa stratégie de ponte sous les boucliers de cochenilles lui offre une bonne protection contre les insecticides (Smith & Cave, 2006). De plus, sa température seuil de développement est comprise entre 7,6 et 9,3°C (Stathas, 2000), ce qui lui permet d'être active avant l'essaimage de *P.pentagona* dont la température seuil est de 10°C. Pour finir, elle a de meilleures chances de s'adapter aux conditions de froid que les micro-hyménoptères *A.proclia* et *E.berlesei* cités précédemment, elle est déjà disponible à la vente et elle est polyphage sur cochenilles diaspines bien qu'elle présente une préférence pour les genres *Aulacaspis* et *Pseudaulacaspis*. Cela représente un avantage pour se pérenniser dans un milieu aux ressources limitées, dans l'éventualité où une de ses proies est absente (Greathead, 1973 *.in* Dalstein *et al.*, 2016 ; Deo, 1997 *.in* Dalstein *et al.*, 2016).

1.3.3. Capacité de prédation et d'adaptation de *R.lophantae*

Plusieurs éléments de biologie indiquent donc que *R.lophantae* est *a priori* le candidat idéal pour être agent de biocontrôle sur *P.pentagona*, mais d'autres viennent contrebalancer cette première impression, en complément de certains retours d'expérience sur cette Coccinellidae.

Premièrement, sa capacité de prédation sur *P.pentagona* n'est comparativement pas aussi bonne que d'autres Coccinellidae comme celles du genre *Chilocorus*. En effet ces dernières présentent des mandibules hautement spécialisées leur permettant de se nourrir aisément de cochenilles diaspinées à boucliers épais comme *Aonidiella aurantii* (Honda & Luck, 1995), alors que *R.lophantae* est pourvu de mandibules « généralistes », semblables à ceux portés par les coccinelles aphidiphages (Hodek, 1973 .in Honda & Luck, 1995). De ce fait, les cochenilles ayant les boucliers les plus fins sont les plus vulnérables contre *R.lophantae*, mais cette dernière peut en revanche rencontrer des difficultés pour se nourrir de cochenilles aux boucliers épais et sclérosés. Cela justifie donc au moins en partie sa préférence pour les stades les plus jeunes et vulnérables de *P.pentagona*, pendant la ponte, l'essaimage ou le premier stade larvaire fixe. Cela indique aussi que cette coccinelle serait plus efficace sur de jeunes buissons récemment plantés et infestés, et qui ne présentent pas encore d'empilements de boucliers coriaces.

R.lophantae a été introduite dans de nombreux pays avec un succès mitigé. Clausen (.in Honda & Luck, 1995) a émis l'hypothèse en 1940 que la réussite de l'utilisation de *R.lophantae* comme agent de biocontrôle est liée aux caractéristiques morphologiques de la cochenille ciblée. Aussi, Hagen (1974, .in Honda & Luck, 1995) a défini une liste de caractéristiques qui facilitent grandement le contrôle d'un ravageur par une Coccinellidae :

1- Elle est tolérante au même climat que sa proie.

C'est un des points qui peut être mis en doute pour *R.lophantae*, ce qui est développé en partie 3.4 Influence du climat de ce rapport.

2- Elle est spécifique à sa proie.

Dans le cas de *R.lophantae*, elle n'est pas totalement spécifique à sa proie, car elle s'attaque à plusieurs cochenilles diaspinées (Gordon, 1985 .in Honda & Luck 1995). En théorie, cela lui permettrait de changer de ressource si *P.pentagona* venait à manquer. Or, il n'a pas été observé d'autres cochenilles diaspinées dans les parcelles expérimentales.

3- Elle utilise tous les stades de sa proie,

R.lophantae s'alimente plus difficilement sur les stades les plus avancés de *P.pentagona*, ce point n'est donc pas entièrement validé.

4- Elle est hautement agile,

Les expériences préliminaires menées en 2014 ont montré que séparer les parcelles expérimentales de 10 m était insuffisant. En effet, un secteur de 100 m de rayon autour des points de lâchers a été nettoyé. Cela montre l'importante capacité de dispersion de la coccinelle (Dalstein *et al.*, 2016). Sa mobilité a aussi été visuellement constatée en 2018. Il est raisonnable, du fait de sa taille, de sa capacité de vol et de sa vitesse de déplacement au sol (observée cette année) de considérer *R.lophantae* comme « agile ».

5- Son cycle est synchronisé avec celui de sa proie,

Etant donné l'absence d'œufs ou de larves observés pendant les 3 ans du projet, qui est peut-être dû à une mauvaise méthode de prélèvement, on ne peut conclure sur le cycle de *R.lophantae* en parcelles.

6- Elle a un stade reproducteur ayant une longue espérance de vie et une haute fertilité, Son espérance de vie est comprise entre 63,4 jours si elle est fécondées, contre 119,4 jours sans fécondation (Stathas, 2000a), et sa fécondité en laboratoire atteint les 600 œufs, elle est donc considérée comme ayant une bonne capacité reproductrice.

7- Elle n'a pas d'ennemis naturels.

Aucun parasite ni prédateur n'a été directement observé en vergers de cassis.

Table 1 : Présentation synthétique des parcelles expérimentales

	Localisation	Variété	Parcelle	Distance entre deux parcelles	Date plantation
Site 1	Villevêque (49)	Blackdown	Référence	700 mètres	2012
			Introduction		2011
Site 2	Villevêque (49)	Noir de Bourgogne	Référence	5300 mètres	2011
			Introduction		2009
Site 3	Chambellay (49)	Noir de Bourgogne	Référence	1000 mètres	2011
			Introduction		2010
Site 4	Thorée-les-Pins (72)	Noir de Bourgogne	Référence	500 mètres	2010
			Introduction		
Site 5	Merceuil (21)	Noir de Bourgogne	Référence	1200 mètres	2010
			Introduction		



*Figure 10 : carte des sites expérimentaux du Val de Loire
(Simon Dauffouis – fond de carte Géoportail)*

1.4. Le Projet Rhizodia

1.4.1. Montage et Objectifs du Projet

Face au problème posé par *Pseudaulacaspis pentagona* les producteurs sont à la recherche de solutions de lutte biologique concrètes, efficaces et abordables. Différents acteurs se sont concertés autour du projet Rhizodia. Le CTIFL est porteur du projet et l'équipe « Recherche et Développement en Lutte Biologique » de l'institut de Sophia-Antipolis apporte son expertise dans l'analyse génétique des *R. lophantae* et des auxiliaires retrouvés sur le terrain. La Station Expérimentale de la Morinière coordonne les phases d'expérimentation et se charge des relevés dans la région Val de Loire, tandis que la Chambre d'Agriculture Côte-d'Or se charge de la région Bourgogne. La société Koppert, spécialiste dans la fourniture d'arthropodes auxiliaires des cultures, fournit les insectes nécessaires à l'expérimentation.

Le projet étant inscrit dans la démarche Ecophyto 2, l'Agence France Biodiversité concourt à son financement. De plus, l'AFIDEM finance des déplacements liés au projet ainsi qu'un dédommagement destiné aux agriculteurs ayant accepté que des essais se déroulent sur leurs parcelles.

Utiliser un insecte prédateur spécifique pour réguler les populations d'un ravageur permettra de réduire l'utilisation de produits phytosanitaires. Il devient de plus en plus intéressant d'apprendre à se passer de ces substances, toutes pratiques agricoles confondues. Même les produits autorisés en agriculture biologique peuvent avoir des impacts néfastes sur la faune auxiliaire (Biondi *et al.*, 2012). Préserver une telle faune est d'une importance non négligeable, le service rendu à l'humanité par les insectes auxiliaires sont estimés à hauteur de 4,5 milliards de dollars pour le seul territoire des Etats-Unis d'Amérique (Losey & Vaughan, 2006). La lutte chimique contre des insectes ravageurs peut aussi être limitée par les phénomènes de résistance apparaissant dans ses populations, ainsi que par les impacts létaux et sublétaux qu'ont les pesticides sur les insectes auxiliaires (Consoli *et al.*, 1998).

Ce projet explore donc une problématique de lutte biologique, un terme générique qui sous-tend 3 stratégies. La première, dite « de conservation » consiste à intégrer dans l'environnement de la parcelle des éléments (comme des haies) favorisant le maintien des auxiliaires dans le milieu. La deuxième, dite « par augmentation », consiste en des lâchers massifs d'un auxiliaire déjà présent dans le milieu visé. La troisième méthode, celle de lutte biologique « classique », est celle « par acclimatation ». Elle consiste à apporter dans un milieu un agent de lutte biologique exogène, le plus souvent originaire de l'aire d'origine du ravageur visé. Par rapport à cette terminologie, le projet RhizoDia a pour ambition de tester l'efficacité d'une méthode de lutte biologique par augmentation contre un ravageur.

L'objectif de ce projet est de répondre à la question suivante : ***Rhyzobius lophantae* peut-il être utilisé en tant qu'agent de contrôle biologique contre *Pseudaulacaspis pentagona* sur cassis ?** En plus d'évaluer son efficacité dans ce rôle, il a été jugé intéressant d'observer la capacité d'installation d'une population de *R. lophantae* sous le climat du Val de Loire. En effet, selon son adaptabilité, deux rôles pourront être attribués à cette coccinelle : celui de traitement ponctuel pouvant être réété au besoin, ou celui de population prédatrice installée en permanence sur les parcelles de cassis. Il sera aussi intéressant d'observer les effets potentiels des traitements insecticides sur la population de *R. lophantae*. En cas de succès du projet, des propositions de transposition de techniques pourraient être formulées pour d'autres cultures, comme les vergers de pêcheurs, cerisiers et kiwis, eux aussi touchés par ce ravageur. Son objectif final est d'aboutir à la mise en place d'un schéma de lutte biologique utilisable par les producteurs.

0	1	2	3
			
<p>Arbuste sain Sans trace d'infestation</p>	<p>Début d'infestation 1 rameau touché à sa base</p>	<p>Infestation installée 1 ou 2 rameaux touchés sur leur longueur</p>	<p>Infestation importante Plus de 2 rameaux touchés sur toute leur longueur</p>

Figure 11 : planche de notation de l'infestation des buissons (source : la Morinière)

1.4.1. Travaux effectués de 2012 à 2015

La Station Expérimentale de la Morinière travaille sur la problématique de *P.pentagona* depuis 2012, avec des essais menés de façon préliminaire au projet RhizoDia en lui-même. La première série d'essais (2012-2014) a été effectuée sur micro-parcelles, et *in vitro*. L'objectif de cette série était de mettre en place un protocole pertinent pour démontrer l'efficacité de *R.lophantae* contre *P.pentagona* sur cassis. Les aspects examinés étaient ceux de la densité de coccinelles à introduire, du mode de lâchers, et de la surface des parcelles expérimentales. Des essais préliminaires ont donc été menés en 2012, en conditions contrôlées *in vitro* et sous filets insect-proof en micro-parcelles de 4 à 10 buissons. Les observations réalisées en boîtes et en extérieur (avec une densité de 5050 à 12650 individus/hectares) n'ont pas pu démontrer d'effet de prédation de *R.lophantae* ni de *Chrysoperla carnae* sur les populations de cochenilles.

En 2013, au vu de l'absence d'effet observable l'année précédente, de plus grandes densités de coccinelles ont été lâchées sur des micro-parcelles de 15 à 25 buissons (dont au moins 10 contaminés). Sur les modalités allant de 1 à 5 lâchers de *R.lophantae* dans la saison, seule celle incluant 5 lâchers s'est révélée efficace après le second essaimage de *P.pentagona*.

En 2014, avant les premiers lâchers, des frappages sur buissons ont révélé la présence de *R.lophantae* sur l'ensemble des micro-parcelles de l'année, situées près des sites de lâchers de 2013. L'hypothèse que les coccinelles aient pu se maintenir pendant l'hiver et se disperser sur l'ensemble de la parcelle utilisée l'année précédente a été formulée. Cette observation, bien qu'encourageante, empêche toute distinction entre les parcelles de lâchers et la parcelle Témoin. On prend alors conscience de la capacité de dispersion de la coccinelle : il faudra à l'avenir éloigner la parcelle Témoin de la parcelle d'Introduction. Pour ce qui est de l'efficacité de la coccinelle à proprement parler, la chute nette du pourcentage de cochenilles vivantes entre le premier et le second essaimage est encourageante, la prédation de *R.lophantae* semblant avoir agi sur l'ensemble des parcelles.

La deuxième série d'essais s'effectue à plus grande échelle. Le choix de *R.lophantae* comme agent de lutte biologique est acté, mais la méthode de lâchers est encore testée, dans l'optique de réduire le temps nécessaire aux lâchers.

En 2014 toujours, en parallèle du test en micro-parcelles, des essais sont conduits en grands blocs. Sur des parcelles expérimentales de 85 buissons sur 4 rangs, 4 modalités sont testées en plus d'un témoin, avec des lâchers de coccinelles allant 25250 individus/hectares à 101000 individus/hectares, et avec 1 à 5 lâchers selon la modalité. Cette fois encore, il a été constaté que *R.lophantae* s'est dispersée sur toutes les modalités, compromettant les résultats. En revanche, la densité de cochenilles vivantes chute nettement entre Juillet et Octobre, ce qui pourrait s'expliquer par une forte pression de prédation de *R.lophantae* sur *P.pentagona*. Le deuxième essaimage n'a pas été observé, alors que sur des parcelles voisines non traitées par lâchers il s'est révélé bien présent. Au printemps suivant, en 2015, on constate que dans cette parcelle les coccinelles ont pu se maintenir malgré l'hiver. Une zone assainie d'un rayon de 100 mètres environ autour des zones de lâchers est observée, soulignant encore la mobilité de l'insecte et l'intérêt de parcelles expérimentales éloignées. De façon générale, cet essai semble montrer une efficacité supérieure de l'utilisation de *R.lophantae* en comparaison avec les pesticides utilisés précédemment.

En 2015 donc, un essai plus simple comprenant une parcelle témoin et une parcelle de lâchers distantes de 5 kilomètres (afin de prendre en compte la mobilité des coccinelles) est mené. Lors des 2 essaimages de la cochenille, des *R.lophantae* provenant de l'AREFLEC sont introduits pour une densité de 4000 individus/hectare. Les résultats observés ne sont pas significatifs, ce qui pourrait s'expliquer de par la différence initiale d'infestation entre les deux

parcelles (celle d'Introduction étant plus touchée) et la faible densité de coccinelles lâchée en comparaison des années précédentes.

Ces essais préliminaires au projet RhizoDia ont permis de mettre en évidence la mobilité et de la pérennité de *R.lophantae*. Néanmoins, son efficacité n'était que partiellement prouvée, et le manque d'analyses génétiques empêchait alors de tirer des conclusions sur l'origine (naturalisées ou d'élevage) des coccinelles relevées.

1.4.2. Annonce du plan du mémoire

Premièrement, les deux premières années du projet seront exposées, puis les Matériels et Méthodes déployés de 2016 à 2018 seront expliqués. Ensuite, les résultats obtenus en 2018 seront exposés de façon concise et descriptive, avant d'être mis en perspective avec les années précédentes et discutés avec l'appui de bibliographie supplémentaire. La Discussion a pour ambition d'aborder tous les points notables du projet, ses points forts comme ceux qui sont encore sujets à doutes en 2018, ainsi que des observations plus exploratoires qui mènent à certaines conjectures. Enfin, la Conclusion ambitionne de résumer les réussites et les échecs du projet, d'estimer quels éléments peuvent être appliqués à d'autres cultures que le cassis, et de définir quelles sont les perspectives pour approfondir le sujet de *P.pentagona* sur cassis.

2. RhizoDia 2016 - 2018

2.1. Introduction

2016 est la première année du projet RhizoDia à proprement parler. Grâce à un ensemble initial de 5 sites expérimentaux et un protocole décrit plus en détail dans la partie 2.2 *Matériels et Méthodes* de ce rapport, l'efficacité de prédation de *R.lophantae* est comparée à l'efficacité des traitements insecticides classiques, et les populations de la coccinelle aussi bien que de sa proie sont suivies par le biais de plusieurs mesures. Les résultats à la fin de cette année sont mitigés, avec seulement 3 sites sur 5 réellement colonisés par la coccinelle. On observe aussi une grande variation de la population de la cochenille et de l'auxiliaire d'août à octobre, avec un fort pic estival qui chute nettement à l'automne, tel que relevé lors des frappages et notations d'octobre. Aussi, les analyses génétiques n'ont pas permis en 2016 de démontrer l'origine des coccinelles relevées lors des frappages, les coccinelles d'élevage et celles retrouvées sur le terrain étant retrouvées de façon mixte dans 2 taxons distincts.

Les résultats de 2017 ont été analysés site par site, ce qui a été justifié de par l'hétérogénéité des parcelles et l'infestation très faible comparée à 2016. Ce bas niveau d'infestation a d'ailleurs été source d'inquiétude, car il a été craint qu'on ne puisse observer de résultats significatifs sur aucun site. Les abris hivernaux ont eu le plus de succès sur le site 3, les autres sites présentant une forte hétérogénéité : les abris du site 1 n'ont relevé aucun *R.lophantae*, et les autres sites ne semblent héberger que quelques coccinelles. De plus, mis à part sur le site 4, très peu de *R.lophantae* ont été relevés lors des frappages de la saison. L'hypothèse est alors formulée que les calendriers de traitement n'ont pas d'impact sur la présence de nos auxiliaires en parcelle. De nouveau, les analyses génétiques des auxiliaires ne semblent pas pouvoir déterminer l'origine (élevage/nature) des *R.lophantae* retrouvés dans les parcelles d'expérimentation. Pour ce qui est de l'évolution de la population de *P.pentagona*, l'évaluation visuelle des parcelles montre une stabilisation, voire une diminution du degré d'infestation sur tous les sites expérimentaux en comparaison de 2016. Cette tendance est confirmée par l'évaluation de la densité de cochenilles vivantes sur les rameaux infestés, qui a chuté en fin 2016 et qui stagne pendant toute la saison 2017 à un niveau très bas.

Les discussions et critiques autour des résultats de 2016 et 2017 seront abordés simultanément avec celles de 2018, dans la partie 3 *Discussion* de ce rapport.

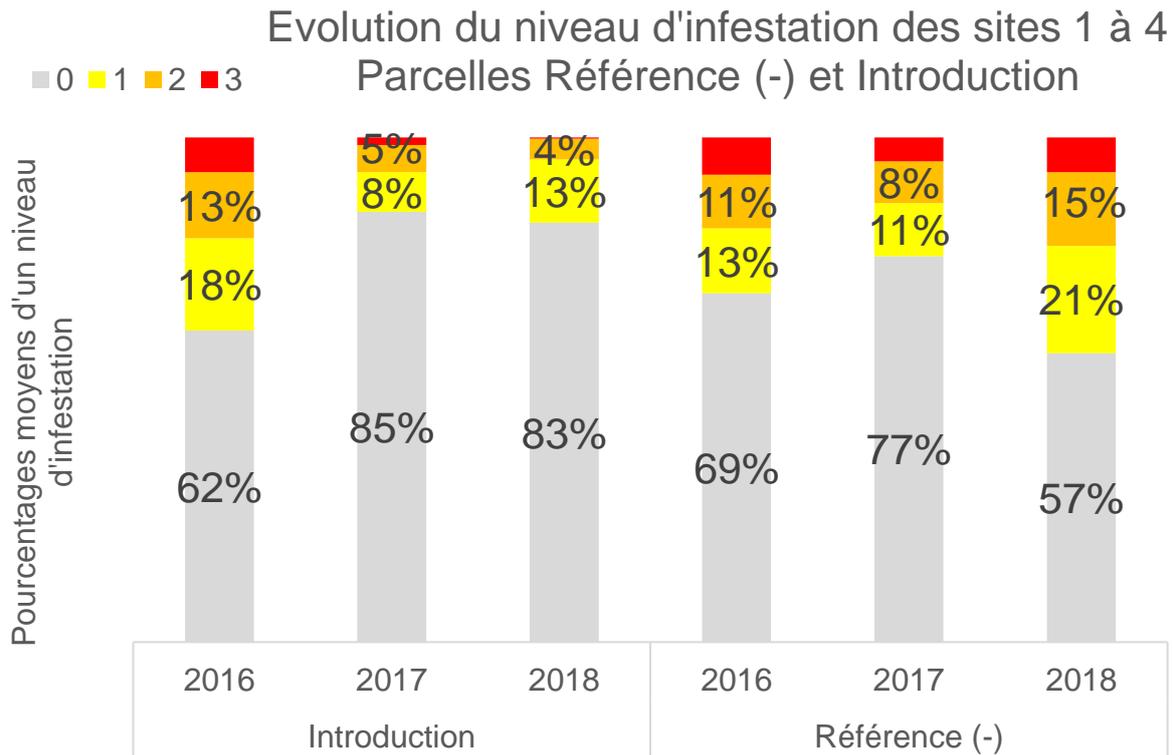


Figure 12 : Evolution de l'infestation à l'échelle de la parcelle – Sites 1 à 4
 Classe 0 : buissons sains – Classe 1 : Buisson infesté à la base – Classe 2 : Buisson infesté sur 1 ou 2 rameaux – Classe 3 : Buisson infesté sur 2 rameaux ou plus.

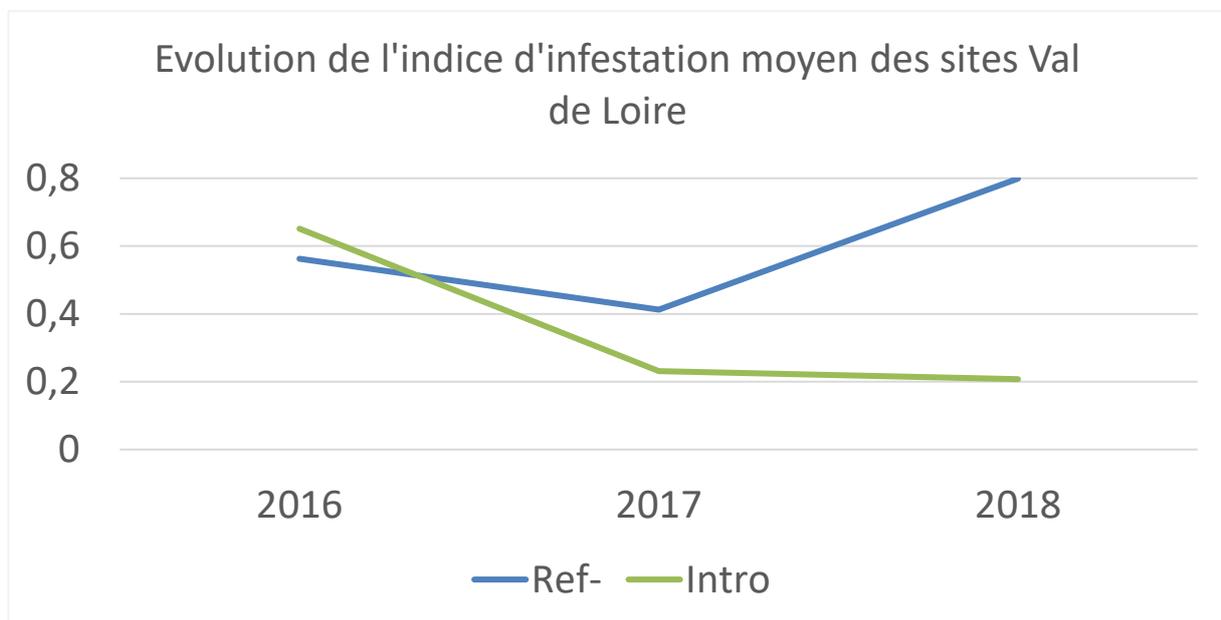


Figure 13 : Evolution de l'indice d'infestation moyen à l'échelle de la parcelle – Sites du Val de Loire
 Ref- : Moyenne de l'indice d'Infestation des parcelles de Référence (-) – Intro : Moyenne de l'indice d'Infestation des parcelles d'introduction de R.lophantae

2018 est la troisième et dernière année du projet RhizoDia. Après une année 2017 marquée par une faible infestation des parcelles – et donc un manque de matière à observer – cette saison semble marquer une remontée de l’infestation. 2018 est donc l’occasion de compléter et de compiler les données déjà obtenues les 2 années précédentes. Des conclusions statistiques concernant l’efficacité de *R.lophantae* devront être tirées, ses limites analysées, et des perspectives d’utilisation sur d’autres cultures débattues.

2.2. Matériels et Méthodes

2.2.1. Dispositif expérimental

Le projet RhizoDia s’appuie sur des parcelles d’essai chez le producteur, listées dans la Table 1. Dans le Val de Loire, 4 sites expérimentaux ont été trouvés grâce à la collaboration de 4 producteurs, basés à Villevêque (49), Chambellay (49), et Thorée-les-Pins (72) (cf figure 10). Chaque site, caractérisé par une situation géographique et une variété, comprend 3 parcelles expérimentales, chacune couvrant environ 0,5 hectares.

- Une parcelle de Référence Positive (Ref+), où le traitement anti-cochenille classique est appliqué, comme décrit dans l’Annexe I comportant les calendriers de traitements des producteurs. Il est à noter que ces traitements sont appliqués sur le second essaimage, en post-récolte, généralement au mois d’Août.
- Une parcelle Référence Négative (Ref-), où les producteurs n’appliquent aucun anti-cochenille, mais peuvent appliquer les autres traitements insecticides. Il s’agit d’une surface faisant au minimum 0,2 hectare, accolée à la parcelle de Référence Positive.
- Une parcelle d’Introduction (Intro), significativement éloignée des 2 autres, où les *Rhizobius lophantae* sont introduits. L’éloignement entre une parcelle d’Introduction et de Référence d’un même site est compris entre 500 mètres et 5300 mètres. Cet écart géographique est sensé empêcher le déplacement actif des coccinelles lâchées d’une parcelle à l’autre. Mis à part de potentiels traitements aux huiles de paraffines et à base de *Bacillus thuringiensis*, aucun traitement insecticide n’est autorisé lieu dans ces parcelles.

Les 3 modalités présentées ci-dessus sont celles initialement prévues au lancement du projet en 2016. Un problème de communication avec les producteurs a cependant entraîné une complication. En effet, le producteur du site 4 n’a traité sa parcelle de Référence positive à aucun moment de l’expérience : celle-ci est donc devenue une parcelle Référence Négative supplémentaire. Concernant les 3 autres sites, ils ont subi les interventions anti-cochenilles estivales comme convenu en 2016, mais les producteurs des sites 2 et 3 ne les ont pas reproduits en 2017. Ainsi, le producteur chargé du site 1 est le seul ayant respecté les consignes initiales concernant la parcelle de « Référence positive ». Afin de refléter ces irrégularités de traitement, les parcelles n’ayant subi que le traitement qu’en 2016 seront étiquetées « Référence + », et celles qui l’ont subi en 2016 et en 2017 seront étiquetées « Référence ++ ».

Le cinquième site, celui de Merceuil (21) en Bourgogne, a été écarté de l’étude en fin d’année 2017, et ce pour plusieurs raisons. L’infestation, en premier lieu, devenait trop importante et ne permettait plus d’envisager une récolte, ni un retour à la normale – elle a d’ailleurs été arrachée en début 2018. De plus, les résultats obtenus sur ce site étaient plus irréguliers, et pouvaient être qualifiés « d’aberrants » en comparaison de ceux obtenus dans le Val de Loire.



Figure 14 : sachets de conditionnement pour lâchers de R.lophantae (Source : Simon Dauffouis)



Figure 15 : bandes cartonnées pour relevés hivernaux des R.lophantae (source : la Morinière)

2.2.2. *Pseudaulacaspis pentagona*

2.2.2.1. *Suivi du cycle*

Afin de positionner les interventions, l'évolution du cycle biologique de *Pseudaulacaspis pentagona* a été suivie. Le premier suivi s'est étalé de fin avril à mi-Mai (pour suivre la première génération de l'année) et le deuxième de fin Juillet à Mi-Août (pour suivre la deuxième génération). Ce suivi consistait à récolter des rameaux infestés en parcelle (à la Morinière ou chez un producteur) et à soulever les boucliers présents afin de constater l'état de la cochenille, ainsi que la présence éventuelle d'œufs ou de larves mobiles. Une fois qu'une centaine de cochenilles vivantes a été examinée, un pourcentage de ponte ou d'éclosion était déduit de ces observations, nous permettant d'estimer l'étape du cycle de *P.pentagona* à un instant t.

2.2.2.2. *Echelle parcellaire*

Notre premier objectif était d'estimer la gravité d'infestation de chacune des parcelles en sortie d'hiver, avant l'introduction des auxiliaires. Pour cela, 4 blocs de 50 buissons ont été définis dans chaque parcelle (un exemple de plan comprenant les blocs est visible en Annexe II). En 2016, 2017 et 2018 au mois de Mars, une notation visuelle des 4 blocs (soit 200 buissons) a permis de suivre l'évolution de *P.pentagona* en termes de proportion de buissons attaqués, et de gravité de l'infestation sur chaque buisson noté. Pour cela, il a été conçu un système de notation qui a permis de classer chaque buisson en 4 catégories. La catégorie 0 correspond à un buisson sain, la catégorie 1 à un buisson infesté à sa base, la catégorie 2 à un buisson ayant 1 à 2 rameaux infestés, et la catégorie 3 à un buisson étant infesté sur plusieurs rameaux (cf. Fig. 11).

Ces données sont exploitées de deux façons différentes. D'abord, on peut estimer le pourcentage moyen (sur les 4 blocs) représenté par chaque classe, pour obtenir une représentation visuelle de l'état sanitaire de la parcelle – comme sur la figure 12 par exemple. Aussi, nous avons créé un indice nous permettant d'obtenir une seule « note » pour représenter l'état de la parcelle. Il est calculé de la façon suivante :

$$\text{Indice} = (p1 \times 1) + (p2 \times 2) + (p3 \times 3)$$

p1 : pourcentage moyen de buissons de classe 1 au sein des 4 blocs (200 buissons).

p2 : pourcentage moyen de buissons de classe 2 au sein des 4 blocs (200 buissons).

p3 : pourcentage moyen de buissons de classe 3 au sein des 4 blocs (200 buissons).

Ainsi, plus l'indice est élevé, plus la parcelle représentée est considérée comme infestée. C'est cet indice qui est utilisé dans la figure 13, pour représenter l'évolution des niveaux d'infestation.

2.2.2.3. *Echelle populationnelle*

En complément d'une évaluation visuelle de l'infestation, il est nécessaire de connaître la proportion de cochenilles vivantes sur les rameaux qui, extérieurement, semblent infestés. En effet, les boucliers blanchâtres typiques de *P.pentagona* peuvent rester plusieurs années sur la branche infestée, longtemps après la mort de l'insecte, et ainsi fausser l'évaluation visuelle de l'infestation. Afin de mesurer une variable comparable entre des branches de différentes longueurs, diamètres et état d'infestation, le choix a été fait de relever la « densité de cochenilles vivantes ».

Si on veut considérer la source primaire d'infection en début d'année, il faut comptabiliser les insectes vivants en Avril, car il s'agit de ceux ayant survécu à la période hivernale, mais sans la mortalité qui accompagne la fin des pontes (Benassy, 1958). Donc à trois périodes de l'année (en mars-avril, en juin-juillet, en septembre-octobre) 20 rameaux de cassis infestés sont prélevés aléatoirement dans chaque parcelle. Chaque rameau est examiné de l'apex vers la base, en soulevant 50 boucliers de cochenilles. Chacun de ces boucliers sont notés comme



Figure 16 : fagots de bambous pour relevés hivernaux des R.lophantae (source : la Morinière)



Figure 17 : frappage de cassissier pour collecte de R.lophantae (source : Simon Dauffouis)

étant vide, ou contenant un insecte mort, ou contenant un insecte vivant. La longueur sur laquelle ces 50 boucliers sont observés en notée, ainsi que le diamètre moyen de la section de branche examinée. Ainsi, la surface d'écorce supportant les 50 boucliers est calculée, et le nombre de cochenilles vivantes sur cette aire y est rapporté. L'unité de mesure de l'infestation à l'échelle d'une branche est donc le nombre de cochenilles vivantes au dm², ou « densité de cochenilles » plus simplement.

$$\text{Densité} = \frac{\text{Nb de cochenilles vivantes}}{\pi \cdot D \cdot L}$$

Où : D = Diamètre moyen de la branche
L = Longueur du tronçon

Les 3 périodes où l'on effectue cette mesure correspondent à la sortie de l'hiver, puis à l'état de la population un mois après le premier essaimage, et ensuite un mois après le deuxième essaimage, avant l'hivernation.

2.2.3. Rhyzobius lophantae

2.2.3.1. Méthode de lâcher

Les *R.lophantae* ont été lâchés deux fois par an, aux dates précédant l'essaimage de la cochenille (cf. Fig. 19). Cette période est choisie du fait que la coccinelle se nourrit préférentiellement du stade mobile de la cochenille et de ses premiers stades larvaires. Au sein de chaque parcelle d'Introduction, un plan de lâcher a été défini pour libérer les coccinelles en points répartis de façon homogène. Tout en tenant compte du plan initial, il est préférable de placer les sachets de *R.lophantae* sur des buissons contaminés. Ces sachets en papier, montrés en figure 14, contiennent 200 individus ; on atteint la densité de 2500 coccinelles sur 0,5 hectares, soit 5000 coccinelles/hectare. D'après Dalstein *et al.* (2016) l'opération de récolte (mécanique) semble avoir un impact négatif non négligeable sur la population de *R.lophantae*. Le lâcher d'août permet donc de renforcer la population de la coccinelle avant le début du deuxième essaimage de *P.pentagona*. Les expériences préliminaires menées en 2014 ont montré qu'il était nécessaire d'éloigner les parcelles Témoins et d'Introduction d'au moins 500 mètres, ce qui justifie l'écart géographique des parcelles choisies, quitte à créer de l'hétérogénéité dans leurs environnements parcellaires.

2.2.3.2. Hivernation

Afin d'estimer les populations de *R.lophantae* survivant d'une saison à l'autre, des abris hivernaux sont disposés de façon homogène dans toutes les parcelles expérimentales au mois d'octobre, afin d'être relevés au printemps suivant vers le mois de Mars. Ces pièges, visibles sur les figures 15 et 16, sont des bandes de carton ondulé enroulées autour de branches de cassis contaminées, et des fagots de bambous tenus par un élastique. Au sein de chaque parcelle sont posées 20 bandes cartonnées et 10 fagots de bambous (chaque fagot étant constitué de 10 bambous). Dès leur prélèvement, ces pièges sont ouverts et décortiqués pour analyser la faune hivernante.

2.2.3.3. Présence en saison

Un frappage consiste à battre les branches d'un buisson de cassis au-dessus d'un parapluie japonais, (une toile tendue blanche de 0.90m²) pour observer la faune présente dans l'arbuste, comme montré en figure 17. L'objectif de cette manipulation est d'estimer l'évolution de la population de *R.lophantae* aux 4 périodes suivantes : au printemps avant le premier lâcher de coccinelles, pendant le premier essaimage, avant le second lâcher de coccinelles, puis

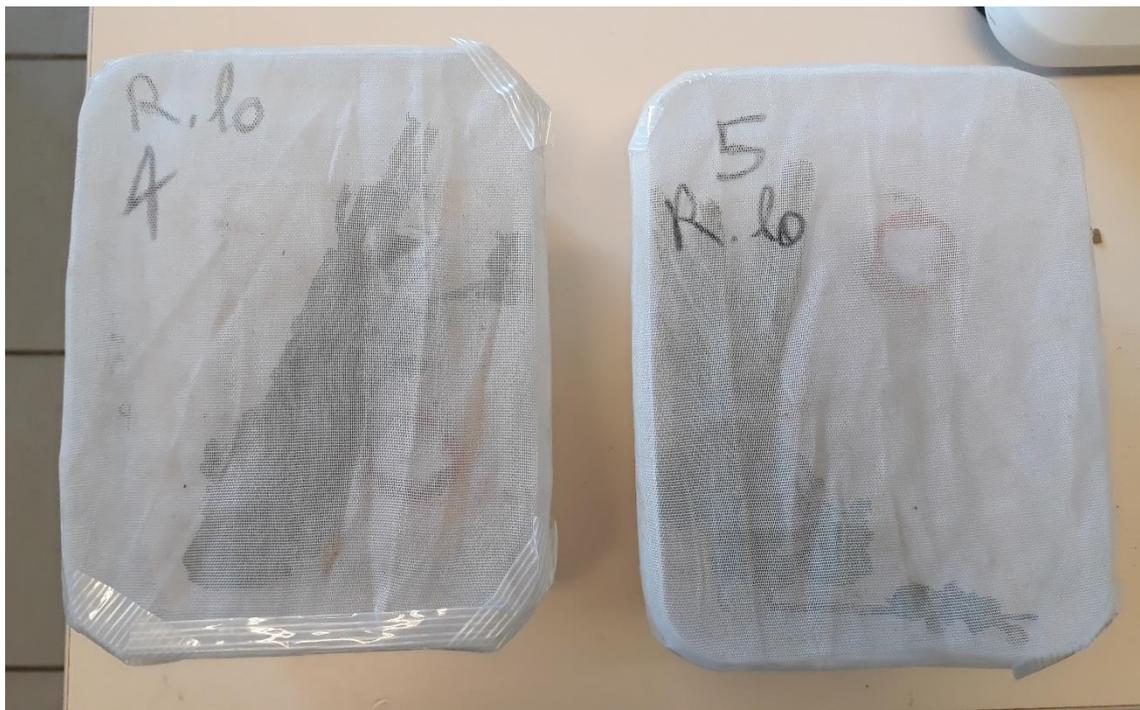


Figure 18 : boîtes d'observation des *R. lophantae* à la Morinière (source : Simon Dauffouis)

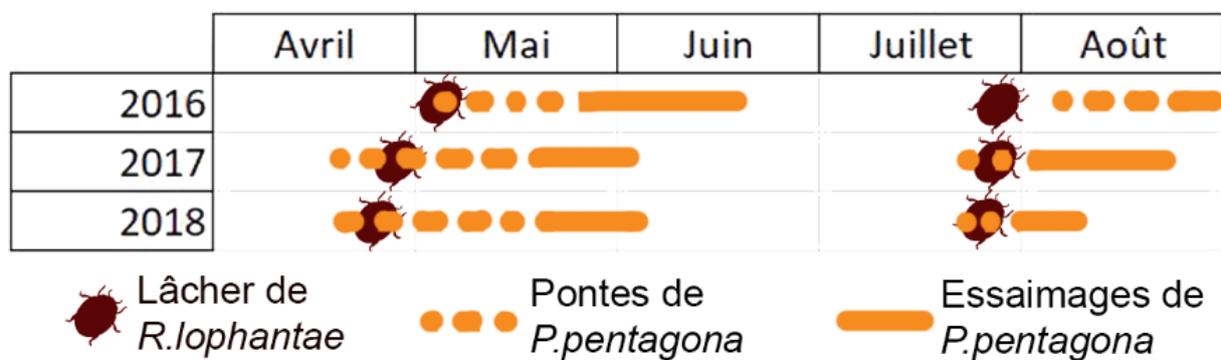


Figure 19 : graphique des dates clés des cycles de *P. pentagona* et des lâchers de *R. lophantae*

pendant le second essaimage. A chaque période, 20 buissons étaient choisis et subissaient un frappage. Il s'effectuait préférentiellement sur des buissons contaminés : *R.lophantae* étant une prédatrice spécifique des cochenilles diaspines, il est très rare de les retrouver sur des buissons sains (comm.pers. Guigneault, 2018).

2.2.3.4. *R.lophantae* d'introduction

Pour s'assurer de la capacité à se reproduire des *R.lophantae* qui ont été fournis, certaines observations simples ont été mises en place. Tout d'abord, un échantillon de 2 sachets a subi un comptage pour estimer le nombre d'insectes présents dans le sachet. Aussi, un échantillon d'une cinquantaine d'individus a été collecté à partir de 5 sachets différents et examiné afin de définir la proportion de mâles et de femelles dans les sachets de conditionnement. Enfin, une autre cinquantaine d'individus, venant de différents sachets, ont été placés en boîtes d'élevage afin d'observer une éventuelle reproduction et ponte d'œufs. Ces boîtes, montrées en figure 18, étaient aérées, placées à température ambiante, étaient pourvues d'un abreuvoir et étaient regarnies chaque semaine d'un fagot de branches de cassis infestées par *P.pentagona*. Les

Le positionnement des notations pour les différents sites et les 3 années successives sont présentées en Annexe 3.

2.2.3.5. Détermination génétique

Certains *R.lophantae* observés pendant les relevés d'abris hivernaux et pendant les frappages en saison ont été capturés. Plongés dans de l'alcool, placés en piluliers et référencés, ces spécimens ont pu être ramenés à l'INRA de Sophia-Antipolis pour analyses au sein de l'unité Recherche et Développement en Lutte Biologique. L'objectif de la caractérisation moléculaire était de pouvoir distinguer génétiquement deux groupes : les *R.lophantae* d'élevage introduits, et les *R.lophantae* naturalisés, déjà présents sur place avant les introductions.

Pour cela, 25 échantillons de coccinelles issus de parcelles différentes, capturées de 2015 à 2017 ont subi un protocole d'analyse. 2 échantillons sont issus des premiers battages de 2016 avant toute introduction, 1 échantillon provient d'un frappage de 2016 sur une parcelle ayant reçu des coccinelles en 2015, 5 échantillons collectés en 2015 viennent des 2 sites de Villevêque (dont 2 sont sensé être issus de la faune locale) et 17 échantillons proviennent des frappages de 2017 en parcelles d'Introduction et de Référence sur les 4 sites du Val de Loire. Chaque échantillon comprenait entre 2 et 4 coccinelles. Le gène choisi pour ce séquençage est le gène mitochondrial du cytochrome oxydase (COI), particulièrement utilisé pour la caractérisation moléculaire des insectes (Zhang & Hewitt, 1997).

Premièrement, l'ADN de ces échantillons a été extrait grâce à un kit d'extraction d'ADN ZyGem®. Ensuite le gène sélectionné est amplifié par PCR, et la réussite de cette opération est évaluée grâce à un système QIAxcel® par observation de la migration de brins d'ADN. La troisième étape est confiée à l'entreprise Beckman Coulter, spécialisée en services génomiques, qui effectue les séquençages du gène amplifié. Une fois les séquences reçues, elles sont réalignées via le logiciel Mega 6, puis comparées aux séquences de la base de données GenBank ; il s'agit d'une base de données rassemblant toutes les séquences nucléotidiques accessibles publiquement. Un arbre phylogénétique est alors construit par la méthode de Neighbor-Joining sur le logiciel Mega 6. La distance évolutive qui sépare deux individus est quantifiée grâce à la méthode de Kimura à deux paramètres.

2.2.4. Traitement statistique

Les données sont consignées et mises en forme sur le logiciel Excel2013®. Les analyses statistiques des résultats sont ensuite effectuées sous le logiciel R version 3.5.1. Les packages utilisés sous R sont « Rcmdr », « MASS » et « multcomp ». Deux jeux de données incluant

Table 3 : résumé des tests ANOVA pour les différents modèles utilisés dans cette analyse

Données décrites	Modèles utilisés	Facteurs du modèle	Significativité
Infestation : buissons sains/total	G.L.M : Loi Binomiale	Site	***
		Modalité	***
		Année	***
		Site:Modalité	***
		Site:Année	***
		Modalité:Année	***
		Site:Modalité:Année	***
Infestation : buissons faiblement infestés/tous infestés	G.L.M : Loi Binomiale	Site	***
		Modalité	***
		Année	***
		Site:Modalité	***
		Site:Année	***
Densité de cochenilles sur rameaux infestés	G.L.M : Loi de Poisson	Site	***
		Période	***
		Modalité	***
		Site:Période	***

Evolution de la densité moyenne de cochenilles vivantes au dm² sur rameaux infestés - Sites 1 à 4

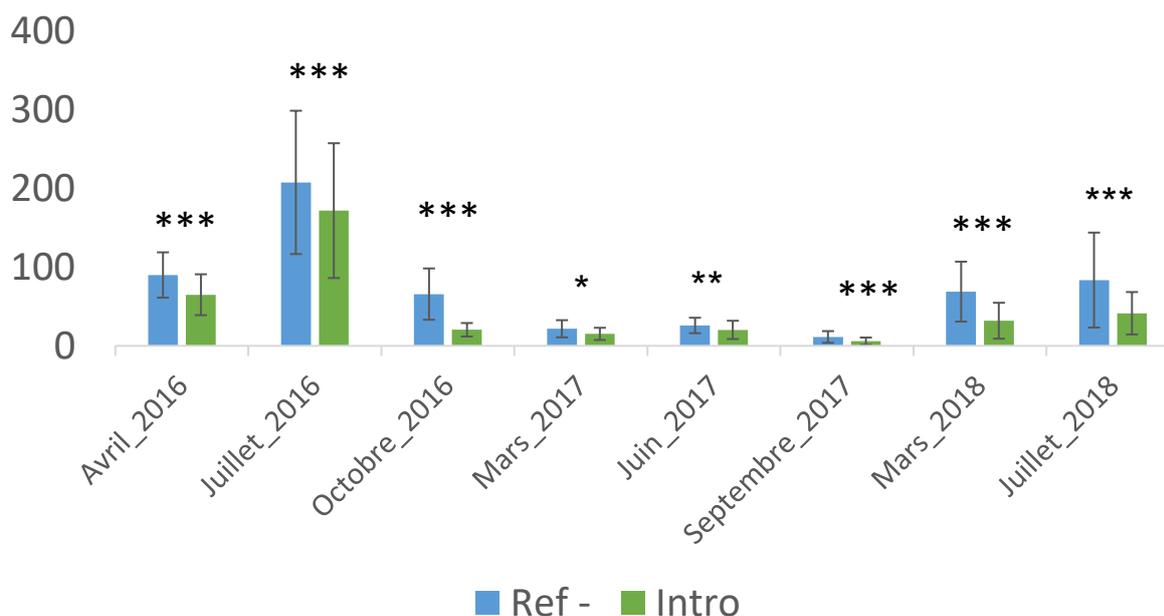


Figure 20 : Evolution de la densité moyenne d'infestation - sites 1 à 4
Ref : Parcelles de Référence (-) – Intro : Parcelles d'introduction des R. Iophantae

des données collectées en 2018 et celles collectées les deux premières années du projet ont été traités :

- Les données d'infestation des buissons par *P. pentagona* à l'échelle de la parcelle.
- Les données de densité de cochenilles vivantes sur rameaux infestés.

Les données d'infestation ont finalement été traitées en deux temps : tout d'abord, le rapport entre le nombre de « Buissons sains » (note 0) et « Tous les buissons » (notes de 0 à 3) a été examiné. Ensuite, le rapport entre le nombre de « Buissons faiblement infestés » (note 1) sur « Tous les buissons infestés » (note 1 + note 2 + note 3) a été traité. Dans les deux cas, la distribution attendue correspond à une loi Binomiale ce qui nous a conduit à utiliser des Modèles Linéaires Généralisés (fonction de lien Logit).

Les variables potentiellement explicatives sont « Site », « Moda » et « Anne ». En effet, les différents sites sont éloignés géographiquement et sont cultivés par des exploitants ayant des pratiques qui peuvent varier. La Modalité de Traitement, déclinée en 3 classes (Introduction de *R.lophantae*, référence sans anti-cochenille, et référence avec anti-cochenille) est le facteur qui est au centre de ces analyses : on cherche à déterminer l'effet des lâchers d'auxiliaires. Quant à l'année de mesure, on se doit de la tenir en compte au vu des variations de climat, du vieillissement des buissons et des variations de populations de cochenilles.

A partir du modèle complet on effectue une sélection de modèle par étapes (« stepwise ») en se basant sur l'AIC (Akaike Information Criterion). Cette étape a pour but d'écarter les facteurs qui sont peu explicatifs au regard des contraintes qu'ils imposent, et traiter les données grâce à un modèle les décrivant au mieux. 2 procédures (« forward » et « backward ») ont été utilisées et se sont révélées cohérentes. A partir du modèle finalement retenu, le bon ajustement du modèle aux données a été vérifié visuellement avant de procéder aux analyses suivantes, grâce aux graphiques montrant l'écart entre les prédictions du modèle et les données réelles.

Une ANOVA de type 2 est ensuite effectuée sur ce modèle pour déterminer quelles variables ont un impact significatif. A partir du résumé de ce modèle (modèles présentés en Annexe IV), les estimations des effets des différentes classes du facteur « Modalité de Traitement » et leurs interactions ont été examinées.

Les comptages de cochenilles vivantes par rameaux infestés ont été rapportées au nombre de cochenilles vivantes par dm², puis arrondis à l'entier le plus proche pour prendre en compte la variabilité de l'aire échantillonnée (les longueurs et les diamètres des branches étant variables). Des analyses exploratoires sur cette variable « densité » se sont révélées insatisfaisantes du fait de sa distribution ni normale, ni « poissonienne ». Nous avons finalement choisi de réaliser l'analyse sur la racine carrée de cette variable « densité », cette nouvelle variable étant modélisée par une loi de Poisson (Modèle Linéaire Généralisé) avec fonction de lien Log.

Les variables ici considérées comme potentiellement explicatives sont les mêmes que celles de l'infestation à l'échelle de la parcelle.

Comme précédemment, nous avons ensuite réalisée les opérations de (i) sélection de modèles, (ii) vérification de qualité de l'ajustement du modèle aux données, (iii) ANOVA, et cette fois nous avons effectué des tests post hoc du type test de Tukey.

2.3. Résultats

2.3.1. Cycle de la cochenille

La figure 19 illustre les dates des étapes du cycle de *P.pentagona* qui ont été observées, ainsi que les dates des lâchers de la coccinelle. Les tables récapitulantes les dates précises sont disponibles en Annexe V. On peut constater que les étapes des 2 cycles de 2017 et 2018 sont

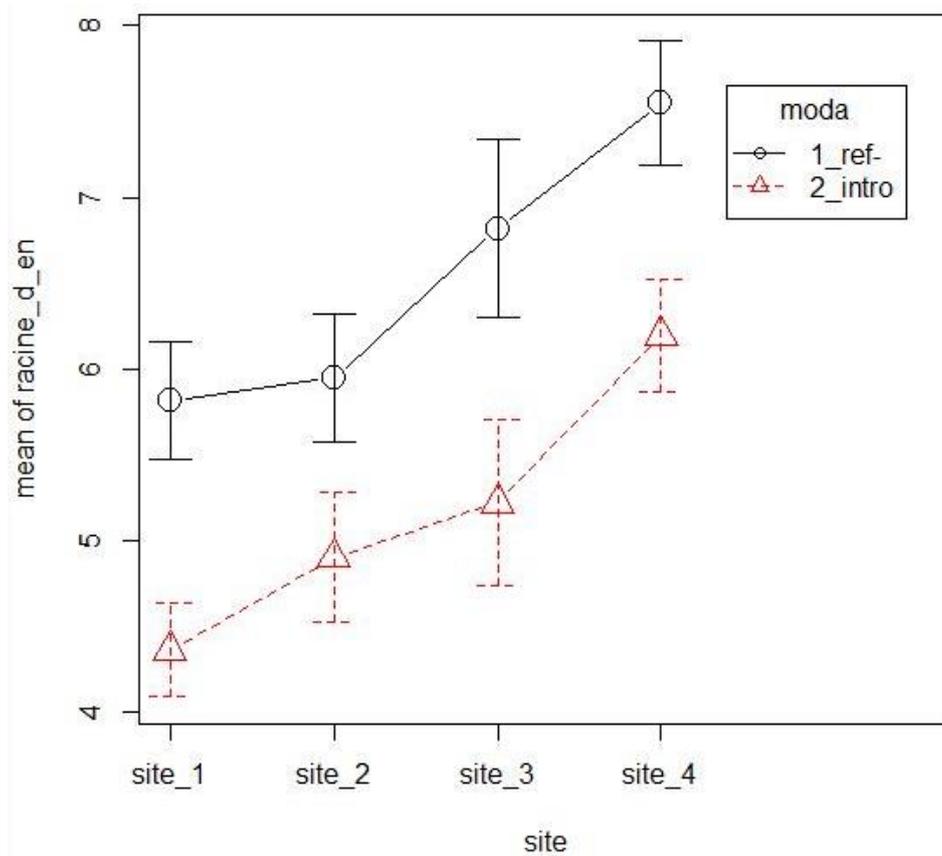


Figure 21 : moyennes des racines des densités de cochenilles (cochenille/dm²) sur les 3 ans du projet
 Moda : modalité de traitement – ref- : Parcelles de Référence Négatives – Intro : Parcelles d'Introduction de *R.lophanthae*. Graphique obtenu sous R statistics.

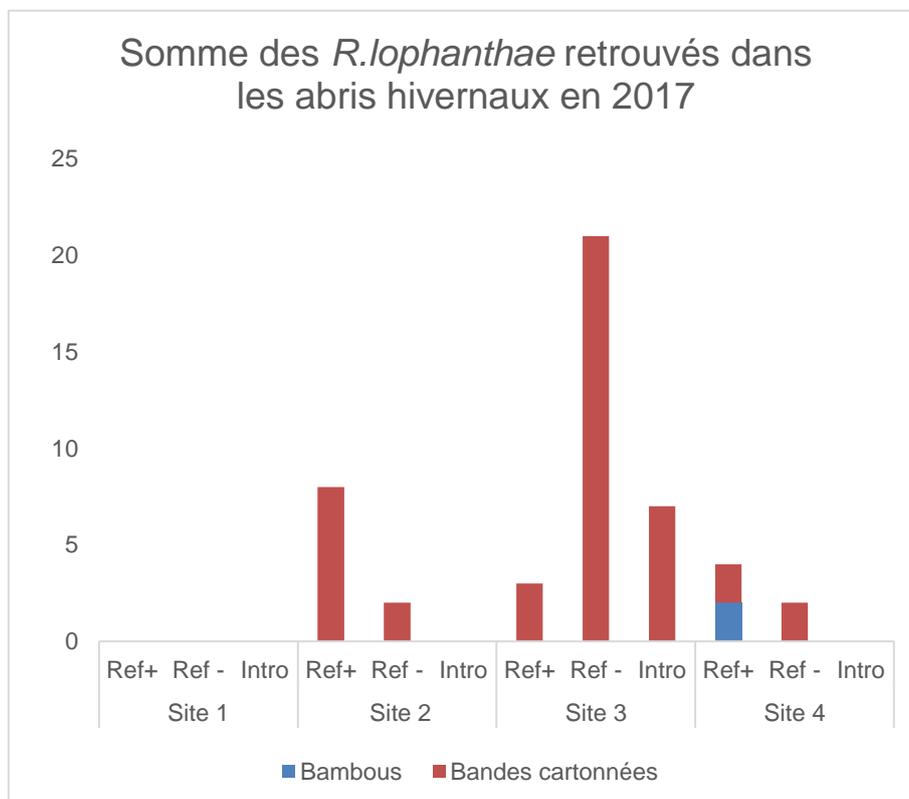


Figure 22 : somme des *R.lophanthae* récupérés en abris hivernaux en Mars 2017

à des dates similaires, et plus précoces que ceux de 2016. Cela a eu comme impact une plus grande précocité des traitements, qui sont sensés intervenir en plein essaimage. Les pontes commencent plus tôt, les essaimages arrivent donc plus vite et les cochenilles se fixent à des dates décalées. Le cycle estival de l'année 2018 a été plus rapide que celui de 2017, ce qui s'explique par les fortes chaleurs qui ont été observées à cette période.

2.3.2. Infestation des parcelles

La figure 13 présente l'évolution de l'indice d'infestation, une donnée créée comme décrit dans la partie 2.5.2.2 de ce rapport. Visuellement (sans apport statistique), elle donne une première impression de l'évolution de l'infestation dans les parcelles d'Introduction et de Référence (-). En effet, il apparaît sur ce graphique que ces deux types de parcelles commencent en moyenne à un indice d'infestation semblable. En revanche, il semble que les parcelles d'Introduction soient plus fortement assainies entre 2016 et 2017, et qu'elles restent à des niveaux stables alors que l'état sanitaire des parcelles de Référence se dégrade à nouveau en 2018. La figure 12 expose l'évolution de l'infestation moyenne observée sur les 4 sites du Val de Loire. On y constate que malgré un léger avantage présent dès 2016, les parcelles d'Introduction sont nettement plus saines à la fin du projet, alors que celles de Référence ont vu leur état sanitaire se dégrader.

Evolution de la proportion de buissons non infestés

A l'échelle des 3 ans de mesures, les parcelles sur lesquelles les *R. lophantae* ont été introduites semblent présenter une proportion plus élevée de buissons sains notamment en 2017 ou 2018 (cf table 2). On peut aussi constater qu'avec des taux de buissons sains similaires en 2016, les parcelles d'Introduction sont plus nettement « assainies » en 2017 que les parcelles de Référence (+23% de buissons sains en Introduction contre +8% et +7% en Références). Aussi, l'infestation des parcelles d'Introduction reste dans l'ensemble stable alors que les taux de buissons sains des parcelles de Référence diminuent très nettement en 2018 (seulement -1% en Introduction contre -20% et -17% en Références). On pourra aussi souligner que les parcelles de Référence (-) et de Référence (+) ont des évolutions très similaires à l'échelle des 4 sites.

D'un point de vue statistique, le modèle semblant décrire au mieux les données est le modèle complet incluant tous les facteurs choisis (Site, Modalité de traitement et Année) et leurs interactions. L'ANOVA met en évidence que tous ces facteurs et interactions sont significatifs (cf table 3) ce qui complique leur interprétation. Ainsi, la modalité « Introduction » a un effet négatif significatif sur le taux de buissons sains contrairement à ce qui est observé. Cette tendance est cependant largement compensée par de nombreuses interactions « modalité – année » (en particulier concernant 2017 et 2018) ou « modalité – site » (en particulier pour le site 2 et 4) compensant voire dépassant cette baisse « basale » (cf. Annexe IV).

Evolution de la proportion de buissons peu infestés parmi les infestés

Pour cette donnée également, on constate une évolution très similaire entre les Parcelles de Référence (-) et Référence (+). Sur la même année, les proportions ne s'écartent jamais de plus de 3%. De plus, sur ces parcelles, on observe seulement une légère augmentation de la part de buissons faiblement infestés : elle progresse d'environ 10% en 3 ans. Concernant les parcelles d'Introduction, elles sont assainies plus nettement : en proportion de buissons faiblement infestés parmi les infestés, elles gagnent 25% de 2016 à 2018. Cette donnée est donc aussi en faveur de la modalité de traitement Introduction de *R. lophantae*.

Concernant l'analyse statistique de ces données, le modèle candidat retenu comprend les facteurs Site, Modalité de Traitement, Année, ainsi que les interactions du facteur Site avec Modalité et Année. L'ANOVA indique que tous ces facteurs et interactions ont un effet

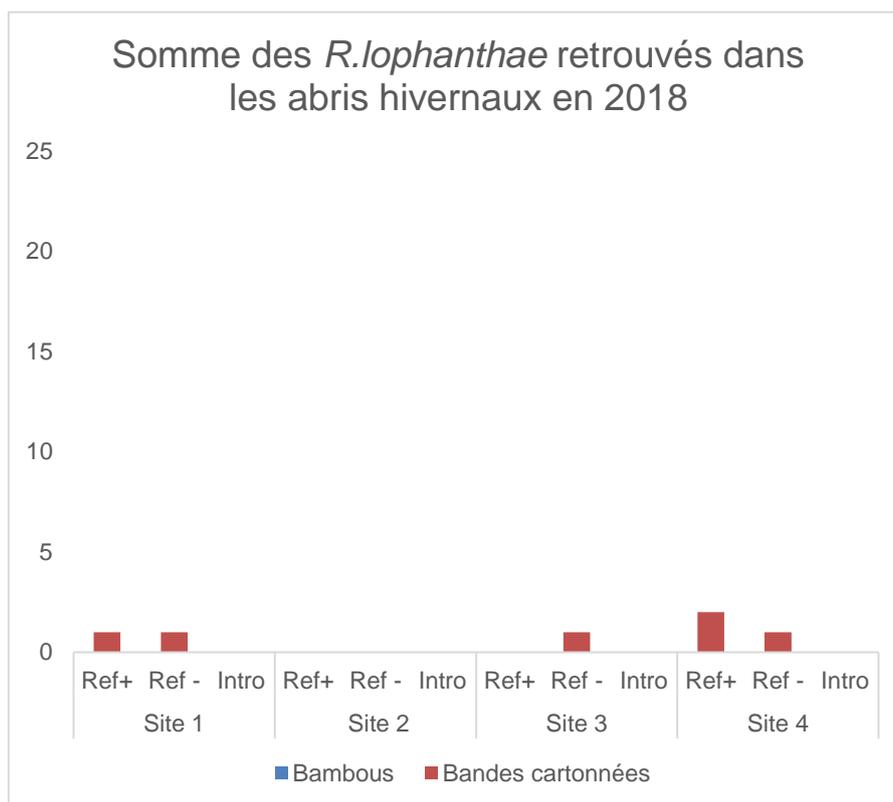


Figure 23 : somme des *R.lophanthae* récupérés en abris hivernaux en Mars 2018

Table 2 : résumé des 3 ans de notation d'infestation des buissons en Mars

Niveau d'infestation des parcelles	Somme des buissons sains	Somme de buissons faiblement infestés	Somme des buissons moyennement infestés	Somme des buissons fortement infestés	Pourcentage de buissons sains sur buissons totaux	Pourcentage de buissons faiblement infestés sur tous infestés
Référence (-)	1623	357	268	152	68%	46%
2016	553	103	85	59	69%	42%
2017	612	84	66	38	77%	45%
2018	458	170	117	55	57%	50%
Introduction	1841	303	181	69	77%	55%
2016	494	146	105	55	62%	48%
2017	682	63	43	12	85%	53%
2018	665	94	33	2	84%	73%
Référence (+)	1544	391	301	159	64%	46%
2016	524	110	102	64	66%	40%
2017	585	90	86	39	73%	42%
2018	435	191	113	56	55%	53%

significatif (cf table 3). En examinant les estimations des effets des différents facteurs (cf. Annexe IV), il apparaît cette fois ci directement que la modalité « Introduction » a un effet positif sur la part de buissons faiblement infestés.

2.3.3. Densité de population

On compare avec la figure 20 les densités de cochenilles moyennes des parcelles de Référence (-) et d'Introduction, sur tous nos sites du Val de Loire. Pour chaque période indiquée sur le graphe, des tests post-hoc sur les modalités (Ref (-) ou Intro) ont été réalisés (test de Tukey). Les symboles (type ***) au-dessus des barres indiquent la significativité des différences entre les 2 modalités. Tout d'abord, on peut constater qu'avant le premier lâcher de *R.lophantae* il y avait déjà une différence significative entre les parcelles d'Introduction et celles de Référence. Malgré cet avantage de départ, on peut voir que l'écart de densité de cochenilles se creuse nettement en fin d'année 2016, avec des parcelles d'Introduction moins densément peuplées. Sur cette période on constate aussi un effondrement de la population de cochenilles, qui va rester faible pendant tout 2017. En début d'année, la significativité remonte jusqu'à redevenir très forte en septembre – une fois encore la parcelle d'Introduction étant moins densément infestée que celle de Référence. L'année 2018 marque quant à elle le retour d'une infestation plus forte, à des niveaux comparables à ceux de début 2016.

L'analyse statistique de ces 3 ans de données a abouti à un modèle de type GLM suivant une loi de Poisson. Le modèle complet incluant les facteurs Site, Modalité de Traitement et Période a été réduit à un modèle candidat via une méthode « Stepwise » basé sur l'AIC. Celui-ci inclut les facteurs Site, Modalité de Traitement et Période, ainsi que des interactions entre le facteur Site et Période. L'ANOVA concernant cette partie est elle aussi intégrée à la table 3, et elle confirme la significativité de tous ces facteurs. Une analyse de l'effet du facteur Modalité et un test post-hoc de comparaison 2 à 2 (Test de Tukey) révèle une réponse très positive de la modalité « Introduction ». En effet, comme montré sur la figure 21, la densité de cochenilles vivantes est plus faible en parcelles d'Introduction qu'en parcelles de Référence. Dans le même temps, le résultat du test de Tukey montre que les 2 modalités de Référence ont des effets similaires à l'échelle des 3 ans de mesures. Pour ce qui est de la densité de population de cochenille, on peut donc simplement ignorer la modalité Référence (+).

2.3.4. Hivernation des *R. lophantae*

Le premier fait qu'on peut constater en observant la figure 22 est la grande hétérogénéité des résultats entre parcelles. En Mars 2017, aucun *R.lophantae* n'a été retrouvé sur le site 1, alors qu'une vingtaine a été comptée sur la parcelle de Référence négative du site 2 (pour ne prendre qu'un exemple). On peut ensuite observer que la grande majorité des insectes collectés proviennent des bandes cartonnées, très peu se réfugiant dans des fagots de bambous.

Quant à la figure 23, elle indiquerait une quasi-disparition des *Rhyzobius lophantae* des parcelles pendant l'hiver de 2017 à 2018. Leur présence est très faible, même comparativement au relevé de début 2017.

2.3.5. Frappages

Si on observe la différence entre les parcelles de Référence Négative et celles d'Introduction (exposées sur la figure 24), on peut constater pour l'année 2016 une nette différence flagrante pour la période d'Août. Les parcelles d'Introduction semblent abriter environ 4 fois plus de *R.lophantae* que les parcelles de Référence. Suite à cela, la population des coccinelles chute et stagne pendant tout 2017, avant de remonter légèrement en 2018. Alors que pendant cette stagnation, les *R.lophantae* semblaient se répartir de façon homogène sur les parcelles

Evolution du nombre moyen de *R.lophantae* comptés lors des frappages - Sites 1 à 4

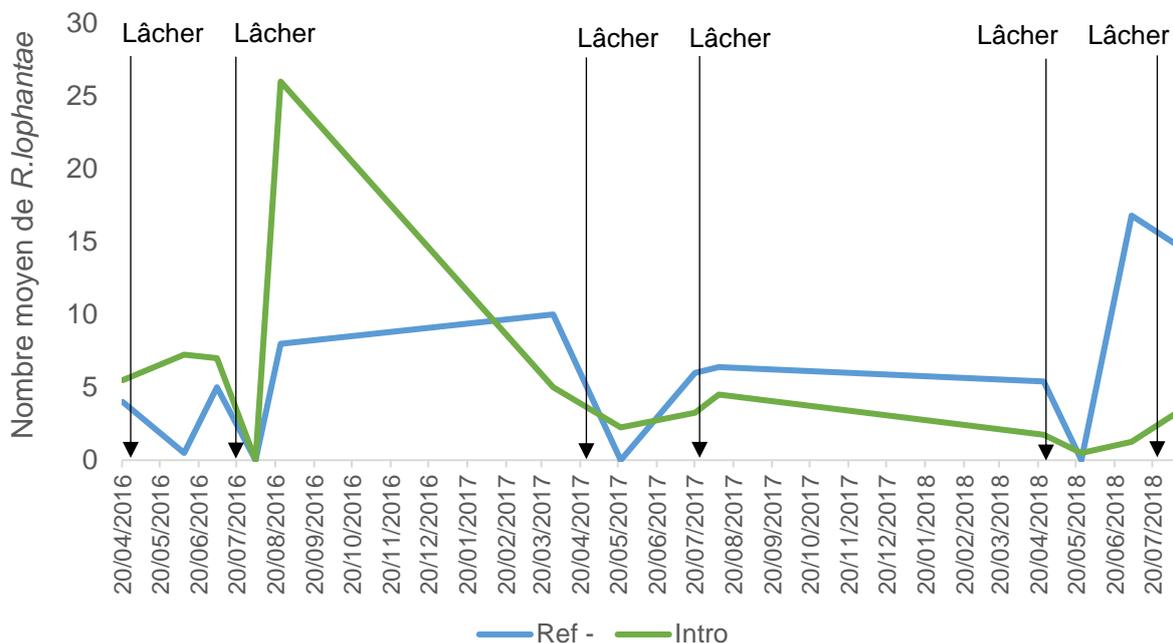


Figure 24 : *R.lophantae* comptés lors de frappages sur les sites du Val de Loire
 Ref- : moyenne pour les parcelles de Référence (-) – Intro : moyenne pour les parcelles d'Introduction de *R.lophantae*

Evolution du nombre de *R.lophantae* comptés lors de frappages - Sites 2 & 3 Chlorpyriphos-méthyl 2016

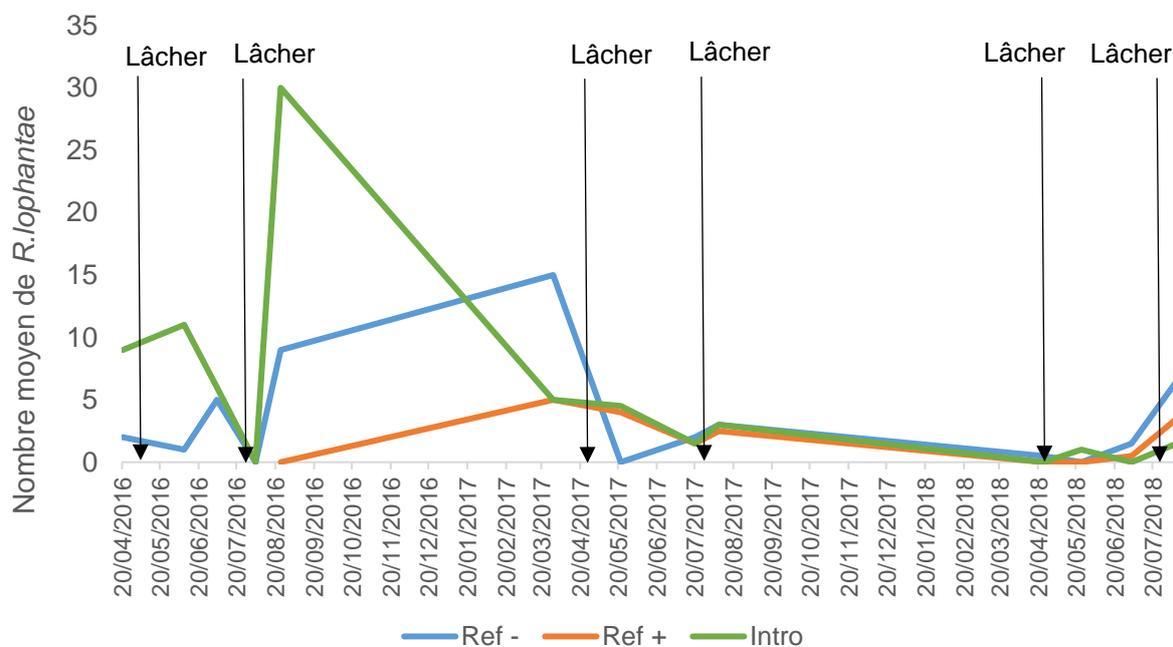


Figure 25 : *R.lophantae* comptés lors de frappages sur les sites 2 et 3
 Ref- : moyenne pour les parcelles de Référence (-) – Intro : moyenne pour les parcelles d'Introduction de *R.lophantae* – Ref + : moyenne pour les parcelles traitées au chlorpyriphos-méthyl en 2016 et 2018

d'Introduction et celles de Référence, il apparaît lors des frappages de Juin 2018 qu'elles sont plus nombreuses dans ces dernières.

Concernant les sites 2 et 3 exposés en figure 25, ceux ayant donc subi un unique traitement en Août 2016, ils semblent suivre une évolution à peu près similaire : un pic important de *R.lophantae* en Août 2016, puis une chute et une stagnation de la population de coccinelles, qui ne semble remonter qu'en Juillet 2018. Il est à noter qu'en Mars 2017 un nombre plus important de coccinelles a été retrouvé en parcelles de Références négatives qu'en parcelles d'Introduction et de Référence positive (données non illustrées). De façon générale, les quantités de *R.lophantae* retrouvées en parcelles Référence positive et parcelles Introduction ont évolué de façon très similaire.

L'évolution de la population de *R.lophantae* sur le site 1 (cf. Fig. 26) est simple : elle est restée basse voire nulle pendant les 3 ans d'expérimentation, restant entre 0 et 2 coccinelles retrouvées par frappe.

2.3.6. *R.lophantae* d'introduction

A partir d'un échantillon de 53 *R.lophantae* récupérés de façon aléatoire dans plusieurs sachets de conditionnement, nous avons établi un sex-ratio approximatif des coccinelles qui sont utilisées pour RhizoDia en 2018 : 49% de mâles et 51% de femelles. Les différences anatomiques entre sexes sont exposées en figure 27, à partir de photographies prises pendant les comptages de sex-ratio. La figure 28, issue de la littérature sur le sujet, permet de mieux percevoir ce dimorphisme sexuel.

Aussi, un contrôle du nombre de *R.lophantae* présents dans les sachets de conditionnement a été effectué. En effet en 2016 des sachets contenant 2 fois moins d'insectes que convenus ont été reçus. Nous avons donc simplement compté le nombre de coccinelles présentes dans 2 sachets pris aléatoirement dans le colis de livraison. Cette année comme en 2017, aucune anomalie n'a été relevée.

Concernant la tentative d'observation de reproduction des *R.lophantae* en captivité, les résultats sont peu probants. Aucun œuf de *R.lophantae* n'a été observé sur les branches infestées qui ont été fournies aux insectes en captivité. La mortalité des auxiliaires semble assez forte, avec 48 individus morts sur les 50 initiaux au bout de 18 jours.

2.3.7. Analyses génétiques

Les échantillons que nous avons réussi à analyser sont tous caractérisés par 2 haplotypes distincts : « haplo01 » et « haplo04 ». Bien qu'en soit ces deux haplotypes soient bien séparés dans l'arbre phylogénique (voir figure 29) que nous avons obtenu, il semble qu'ils regroupent des *R.lophanthae* d'origines diverses (voir table 4). La présence de ces deux clusters distincts peut s'expliquer de plusieurs façons. Soit il s'agit d'une variabilité intra-spécifique montrant l'émergence de deux métapopulations divergentes, soit il s'agit simplement d'un artefact technique, ou encore cela révélerai l'existence de 2 espèces distinctes mais morphologiquement identiques.

Tous les individus ayant été analysés font probablement partie des insectes naturalisés, présents avant lâchers de coccinelles d'élevage. Peut-être que le numéro 6, ayant vu un lâcher de *R.lophanthae* de l'AREFLEC dans une parcelle voisine, est bien un individu introduit.

2.4. Travaux exploratoires & résultats complémentaires

2.4.1. Influence du climat

Les conditions de températures en Avril ont été soupçonnées d'avoir un impact significatif sur le succès des premiers lâchers de chaque année. En effet, elles pourraient être trop froides pour *R.lophantae* et empêcher son développement voir entraîner une forte mortalité lors des

Evolution du nombre de *R.lophantae* comptés lors de frappages - Site 1 - Chlorpyriphos-méthyl 2016 & 2017

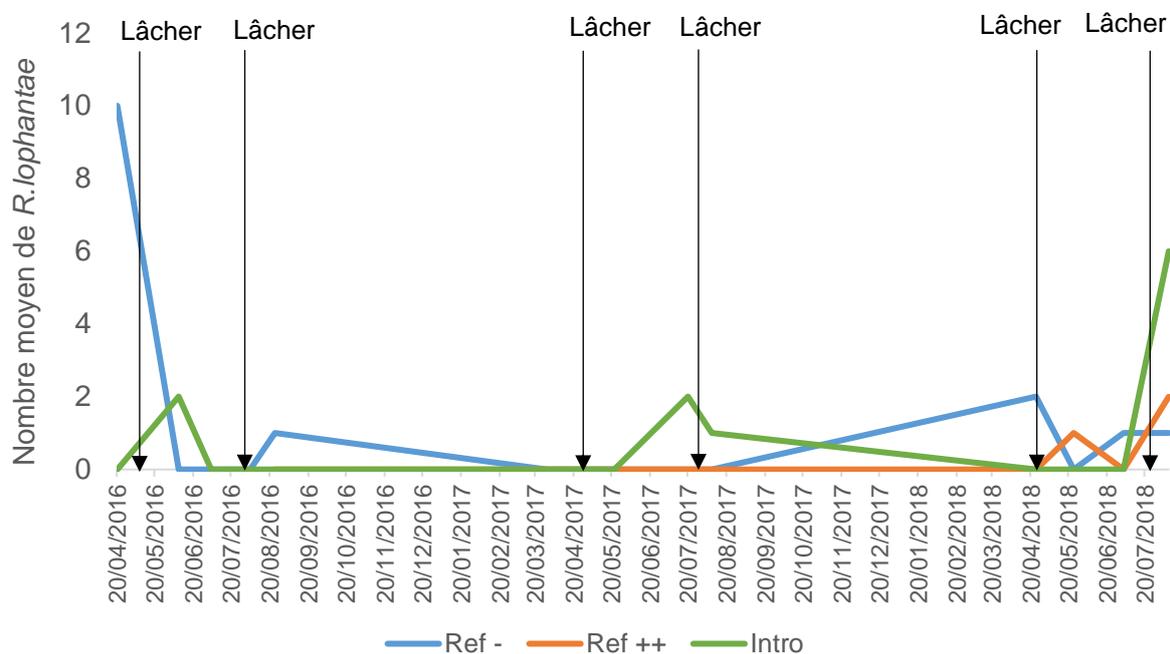


Figure 26 : R.lophantae comptés lors de frappages sur le site 1

Ref - : moyenne pour les parcelles de Référence (-) – Intro : moyenne pour les parcelles d'Introduction de R.lophantae – Ref ++ : moyenne pour les parcelles traitées au chlorpyriphos-méthyl pendant 3 ans

lâchers. Lorsqu'on observe la figure 30 présentant l'évolution des températures, on constate qu'en avril 2016 et 2017 des températures négatives ont été relevés au mois d'Avril voire de Mai.

Pour ce qui est des périodes de froid intense qui pourraient nuire à la population de *P.pentagona* en hiver (cf. partie 3.4 *Influence du climat*), elles semblent être progressivement plus importantes de 2016 à 2018. La température minimale relevée en 2016 est de -4,30°C, celle de 2017 est de -7,10°C, et celle de 2018 est de -8.50°C. Ces périodes de froid ne semblent donc pas corrélées directement avec les populations de cochenilles, qui sont hautes en 2016, basses en 2017, puis remontent significativement en 2018. Le cumul des rendements à l'hectare (en t/ha) sont présentés dans la figure 31. On peut y constater que dès 2015 les parcelles d'Introduction sont moins productives, et que cet écart initial se maintient de 2015 à 2018. La figure 32 expose l'évolution de l'écart de rendement entre les parcelles de Référence et d'Introduction, de 2015 à 2018. On constate très nettement que l'écart qui était proche de 40% en 2015 s'est maintenu pendant toute la durée du projet.

2.4.2. Rendements

Le cumul des rendements à l'hectare (en t/ha) sont présentés dans la figure 31. On peut y constater que dès 2015 les parcelles d'Introduction sont moins productives, et que cet écart initial se maintient de 2015 à 2018. La figure 32 expose l'évolution de l'écart de rendement entre les parcelles de Référence et d'Introduction, de 2015 à 2018. On constate très nettement que l'écart qui était proche de 40% en 2015 s'est maintenu pendant toute la durée du projet.

3. Discussion

3.0. Discussion des résultats

3.0.1. Cycles de *P.pentagona*

Il semble que les dates du cycle de *P.pentagona* se soient décalées de sorte à être plus précoces lors des deux dernières années du projet (cf. Fig. 19). Un adoucissement des températures printanières pourrait en être la cause mais il est impossible de conclure à ce sujet en ne connaissant que les dates de cycles de 3 années consécutives. Néanmoins continuer ces observations permettra de suivre l'éventuelle accélération des cycles, voir l'apparition d'une troisième génération incomplète si le climat se réchauffe dans un futur proche.

Dans les parties suivantes, certaines parcelles seront analysées en groupes : les sites 1 à 4 ont tous respecté les consignes concernant les parcelles Références Négatives et Introduction, le site 1 a reçu un traitement au chlorpyrifos-méthyl les 3 ans du projet, les sites 2 et 3 n'en ont reçu qu'en 2016 et 2017, et le site 4 à aucun moment.

Les manquements commis aux traitements dans les parcelles de Référence (+) ont plusieurs impacts majeurs sur l'expérimentation et les résultats présentés. Premièrement, il n'y a pas de répétition de la modalité « Traitement régulier au Chlorpyrifos-méthyl », et donc pas de possibilité de déduire son impact sur le couple Auxiliaire-Ravageur. Ensuite dans l'analyse des résultats, ceux-ci sont segmentés et doivent être interprétés avec prudence, alors qu'ils auraient dû être plus simples et plus solides à interpréter. En tout cas, l'efficacité qu'aurait pu avoir le traitement n'est sans doute pas atteinte, car il n'y a que peu de différences entre les observations faites en parcelles de Références (+) et (-). Cette absence de contraste pourrait aussi signifier un manque d'efficacité du produit utilisé. Cette possibilité confirme l'utilité du projet RhizoDia, car il est destiné à mettre en place des alternatives aux traitements chimiques.

3.0.2. Infestation à l'échelle de la parcelle

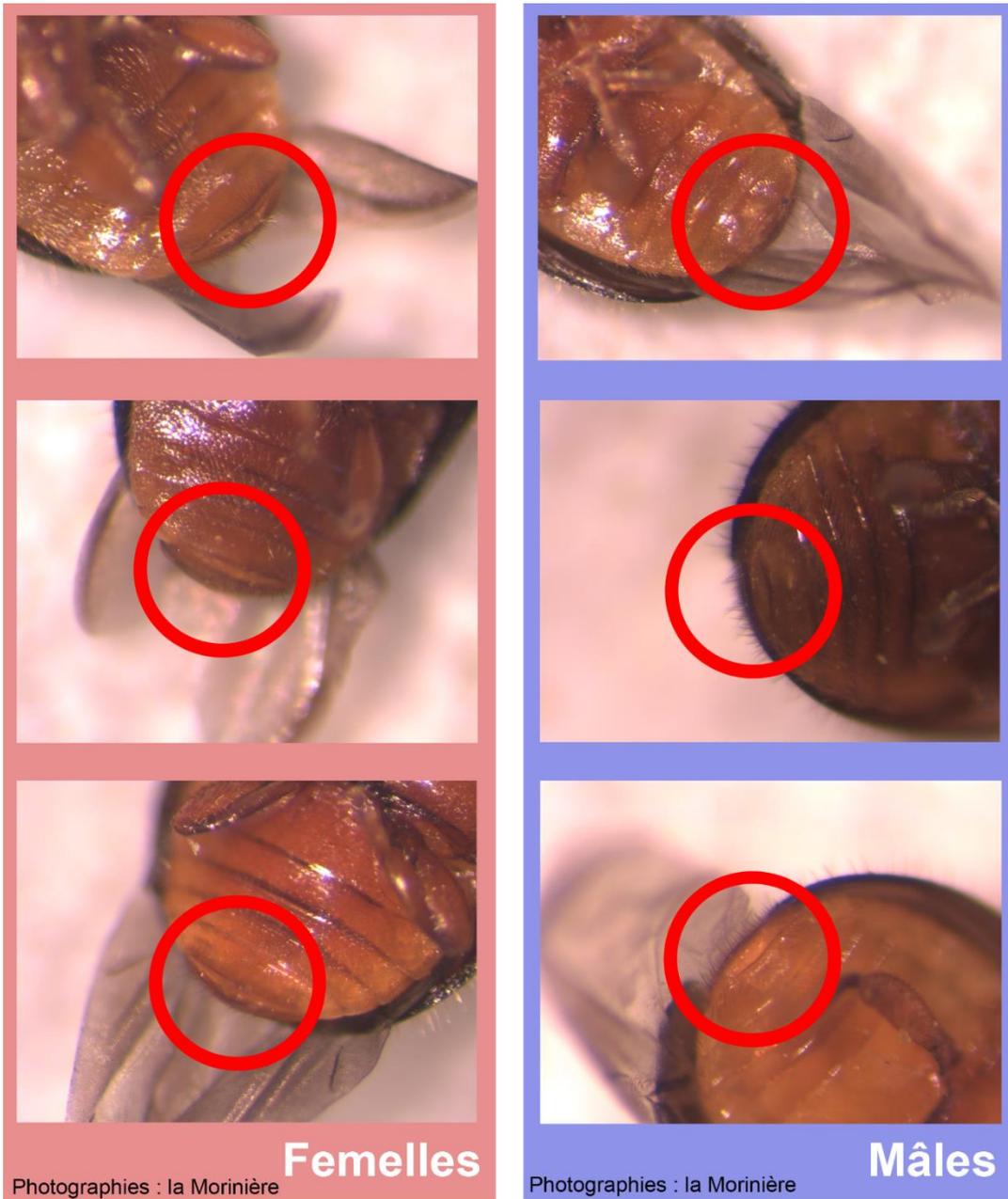


Figure 27 : planche anatomique du dimorphisme sexuel chez *R. lophanthae* (photographies Simon Dauffouis, la Morinière)

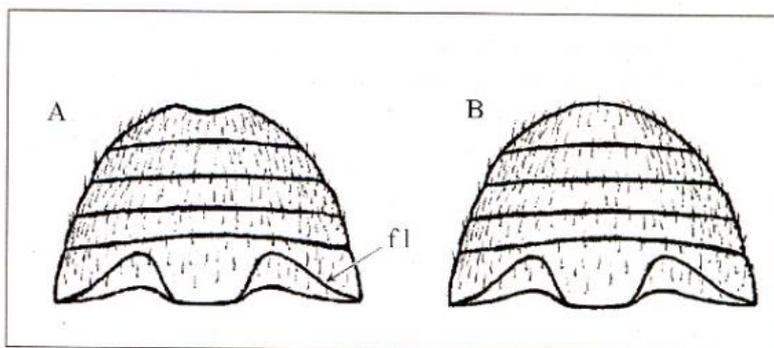


Fig. 2. Venter of abdomen of male (A) and female (B) of *Rhyzobius lophanthae*. fl: femoral line.

Figure 28 : dimorphisme sexuel chez *R. lophanthae* (Stathas et al., 2002)

La mesure de l'infestation à l'échelle de la parcelle est assez encourageante pour ce qui concerne les lâchers de *Rhyzobius lophantae*. Un premier coup d'œil aux données présentées dans la table 2 permet de distinguer qu'en moyenne, celles dans lesquelles on a augmenté la population de cet auxiliaire sont plus saines en apparence. La « part de buissons sains dans chaque parcelle » n'est qu'une des données qui pouvaient potentiellement être traitées. La « part de buissons faiblement infestés sur tous les buissons infestés » amène une information complémentaire sur l'état sanitaire des parcelles, une infestation étant véritablement handicapante pour un buisson lorsque des branches entières sont colonisées et meurent suite à la ponction de sève. Au premier abord, ces deux données tendent à la même conclusion : les buissons des parcelles d'Introduction de *R. lophantae* sont plus fortement nettoyées que les autres en fin 2016, et ne sont pas ré-infestées de la même manière que les parcelles de Référence en 2018. Au sujet de ces dernières, leurs taux de buissons sains (et faiblement infestés) évoluent de façon remarquablement similaire, avec un écart qui ne dépasse jamais les 4% lorsqu'on les compare à la même période. Il s'agit d'un élément supplémentaire qui peut amener à penser que les parcelles de Référence (+) ne constituent qu'une répétition des Références (-).

Lorsqu'on se penche sur l'analyse statistique de ces deux données (taux de buissons sains et part de buissons faiblement infestés sur tous buissons infestés), les Modèles Linéaires Généralisés (ou GLM) qu'on obtient en compilant les 3 ans de données examinées sont assez complexes : ils incluent des interactions entre facteurs qui ne permettent pas la lecture simple des effets de chaque modalité de traitement phytosanitaire. On doit donc examiner les effets estimés des facteurs et de leurs interactions pour les deux GLM. Comme énoncé précédemment dans la partie 2 *Résultats*, les interactions du facteur « Modalité » avec les autres facteurs sont positives et significatives dans le cas des buissons sains. Dans l'observation du taux de buissons faiblement infestés, la modalité « Introduction » a un effet positif bien marqué, mais c'est une interaction qui pose une interrogation. En effet si on se fie au modèle, l'introduction de coccinelles *R. lophantae* sur le site 3 a un impact négatif sur l'état sanitaire de la parcelle. Cette information est cependant aisément écartée, du fait de l'état de la parcelle en question : en effet, des lichens ont poussé en grande quantité sur le bois des buissons peu vigoureux de cette parcelle, empêchant une évaluation visuelle correcte des buissons. Il a d'ailleurs été observé au printemps 2018 que les cochenilles *P. pentagona* étaient capables de se glisser et de se développer sous le lichen, ce qui représente un handicap dans la lutte contre cet insecte.

Les figures 12 et 13 montrent encore, mais de façon plus graphique, que la modalité d'Introduction est efficace. Il faut être conscient que ne sont alors comparées qu'une modalité « ou rien n'est fait contre la cochenille » et une modalité « où on lâche des auxiliaires ». Il s'agit certes d'une comparaison biaisée, mais les ratés de traitements ne permettent pas de comparer avec l'utilisation d'un produit. En tout cas il semble clair, dans le cas des moyennes des différentes classes de buissons comme pour l'évolution de « l'Indice d'Infestation », que l'infestation observable visuellement diminue ou se stabilise là où sont lâchées les *R. lophantae*, contrairement à celles de Référence. Concernant l'apparente stabilisation de l'infestation entre 2017 et 2018, on se doit de rappeler que les boucliers des cochenilles peuvent rester sur place longtemps après la mort de l'insecte. Il est donc nécessaire d'apporter l'analyse de la densité de population dans les branches infestées en complément pour pouvoir tirer des conclusions.

3.0.3. Densité de cochenilles vivantes sur rameaux infestés

Dans l'analyse statistique des 3 ans de données, le modèle candidat de GLM qui a été retenu ne montre pas de significativité dans l'interaction entre la période et le traitement. Cela signifie que la période où la mesure est prise n'influence pas la façon dont le traitement (Introduction ou Référence) influence la densité de cochenilles. Cela confirme le fait que lors de la première mesure, avant même le premier lâcher de coccinelles, les parcelles de Référence et d'Introduction présentaient un écart significatif dans leur densité de cochenilles vivantes. Par

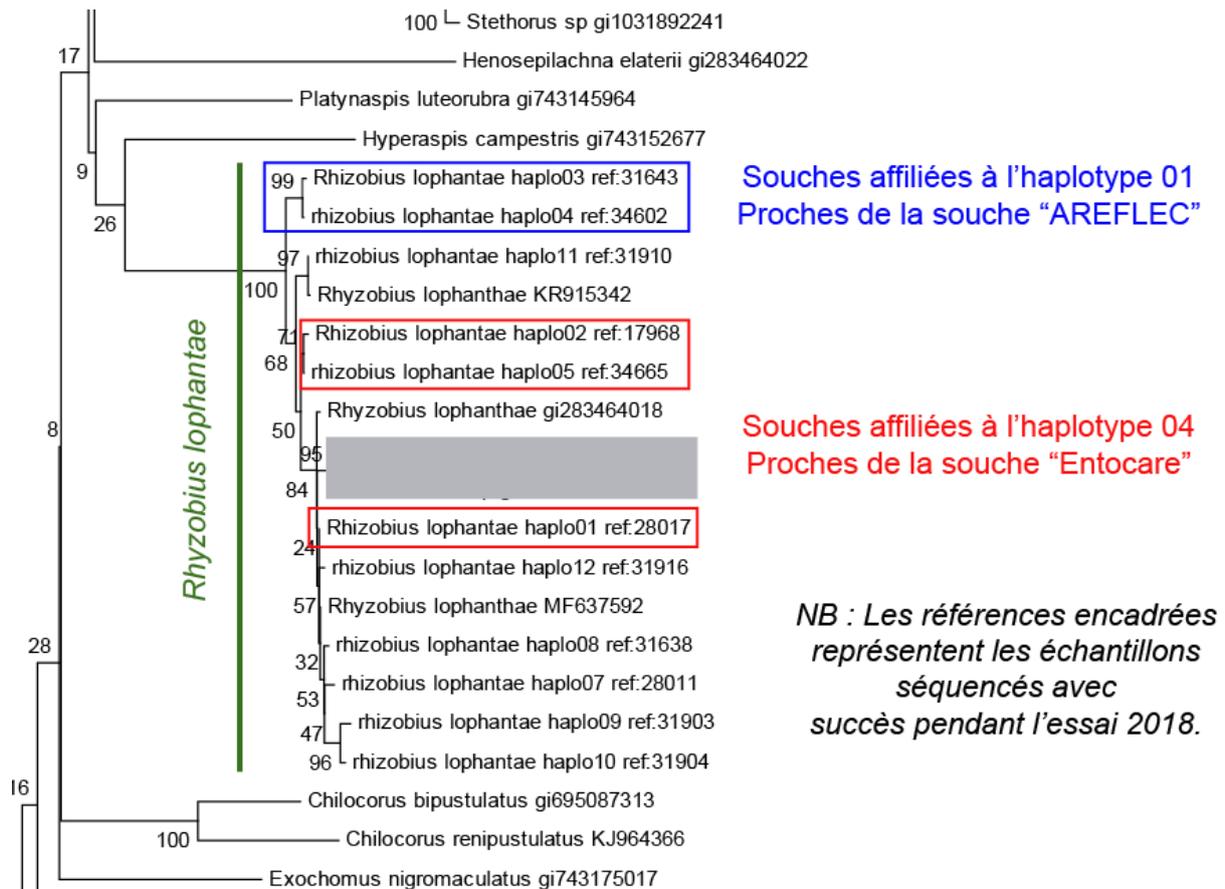


Figure 29 : extrait commenté de l'arbre phylogénétique des analyses génétiques de 2018

Table 4 : interprétation des résultats de l'analyse génétique

N°	Haplotype	Site d'origine	Date	Origine affiliée
1	1	Frappage parcelle 2015	2015	Hollande (commerce)
2	1	Villevêque	20/05/2015	Hollande (commerce)
3	1	Villevêque	20/05/2015	Hollande (commerce)
4	1	Villevêque Blackdown intro coccinelles	20/04/2016	Hollande (commerce)
5	1	Thorée intro coccinelles	20/04/2016	Hollande (commerce)
6	4	Villevêque	20/05/2015	Corse
7	4	Villevêque Référence	02/07/2015	Corse

ailleurs, les tests post-hoc (Tukey) date par date confirment que cette différence est significative tout au long de l'expérimentation.

Cette donnée est donc complémentaire à celle du degré d'infestation. Il semblerait que dès la première mesure, prise avant le premier lâcher, la densité moyenne de cochenilles vivantes soit plus faible dans les parcelles d'Introduction. Cet écart de moyennes reste significatif par la suite de l'année 2016, puis s'estompe après la chute des populations d'octobre 2016, comme indiqué sur la figure 20. La chute en question, qui est visible sur les données d'infestation à l'échelle de la parcelle, est encore plus forte sur ces données de densité et confirme donc cette tendance. En 2018, alors qu'on observe une stagnation de l'infestation dans les parcelles d'Introduction, la densité de cochenilles vivantes révèle une remontée de la population sur l'ensemble des parcelles. Néanmoins, l'écart entre les 2 types de parcelles en fin de 3^{ème} année du projet est clairement plus fort qu'initialement : cet écart était de -28% en avril 2016, et il termine à -54% en mars 2018, en étant de nouveau clairement significatif.

L'une des évolutions les plus marquantes de la population de *P.pentagona* est sa chute de fin 2016 et sa stagnation sur tout 2017. Il est pour l'instant difficile d'évaluer pourquoi la population de la cochenille est restée aussi basse cette année-là, et ce tous sites et parcelles confondus. 2 hypothèses concernant cette évolution sont proposées : soit il s'agit d'une étape d'un cycle pluriannuel naturel chez *P.pentagona* incluant peut-être ses ennemis naturels), soit l'efficacité de prédation de *R.lophantae* a réduit fortement les populations de *P.pentagona* sur toute la région.

3.0.4. Hivernation des *R.lophantae*

L'hétérogénéité et le faible nombre des *R.lophantae* qui ont été relevés dans les abris hivernaux peut avoir deux significations. Premièrement, il se peut simplement que les pièges ne soient pas adaptés au relevé de cet auxiliaire. Il est possible que que l'insecte se réfugie dans les anfractuosités de l'écorce en bas du buisson (comm. pers. Kreiter, 2018), sur une autre plante, voir hors de la parcelle. Deuxièmement, cela pourrait signifier que *R.lophantae* ne s'installe que très irrégulièrement, voire pas du tout dans les parcelles. En effet, alors qu'une densité de 10000 coccinelles/hectare est lâchée chaque année dans les parcelles d'Introduction, aucune n'a jamais été retrouvée dans les abris hivernaux des dites parcelles ! Un autre aspect ressortant nettement des figures 22 et 23 est la différence frappante entre le nombre de coccinelles relevées au printemps 2017 et au printemps 2018. Une piste qui pourrait expliquer ce contraste est la baisse généralisée de la population de cochenilles fin 2016 : n'ayant que peu de proies sur l'année 2017, il se peut que les *R.lophantae* lâchées en parcelles aient eu plus de mal à se reproduire et à se maintenir jusqu'à l'hiver. La relation entre la présence de la coccinelle et de la cochenille sera développée plus loin dans cette discussion, dans la partie 3.2 *Influence mutuelle proie/prédateur*.

3.0.5. Frappages en saison

Si on observe la figure 24, la première phase de lâchers est plutôt encourageante, avec un net pic de présence des *R.lophantae* dans les parcelles d'Introduction comparé aux parcelles de Référence. En revanche, dès 2017 on observe une diminution et une stagnation des populations très similaire à celle de la population de *P.pentagona* décrite dans la partie 3.1.2 *Densité de cochenilles vivantes sur rameaux infestés*. Quant aux frappages de 2018, ils révèlent qu'en moyenne les *R.lophantae* sont plus nombreux dans les parcelles où les lâchers n'ont pas lieu. De plus, aucune remontée immédiate du nombre de coccinelles ne semble avoir lieu systématiquement après les lâchers. Ces différents éléments portent à croire que l'abondance de la population de cet auxiliaire ne dépend ni de la modalité de lâchers (Introduction ou Référence), ni du moment auquel on effectue les lâchers en question. Des éléments de réponse sont proposés en partie 3.2 *Influence mutuelle proie/prédateur*.

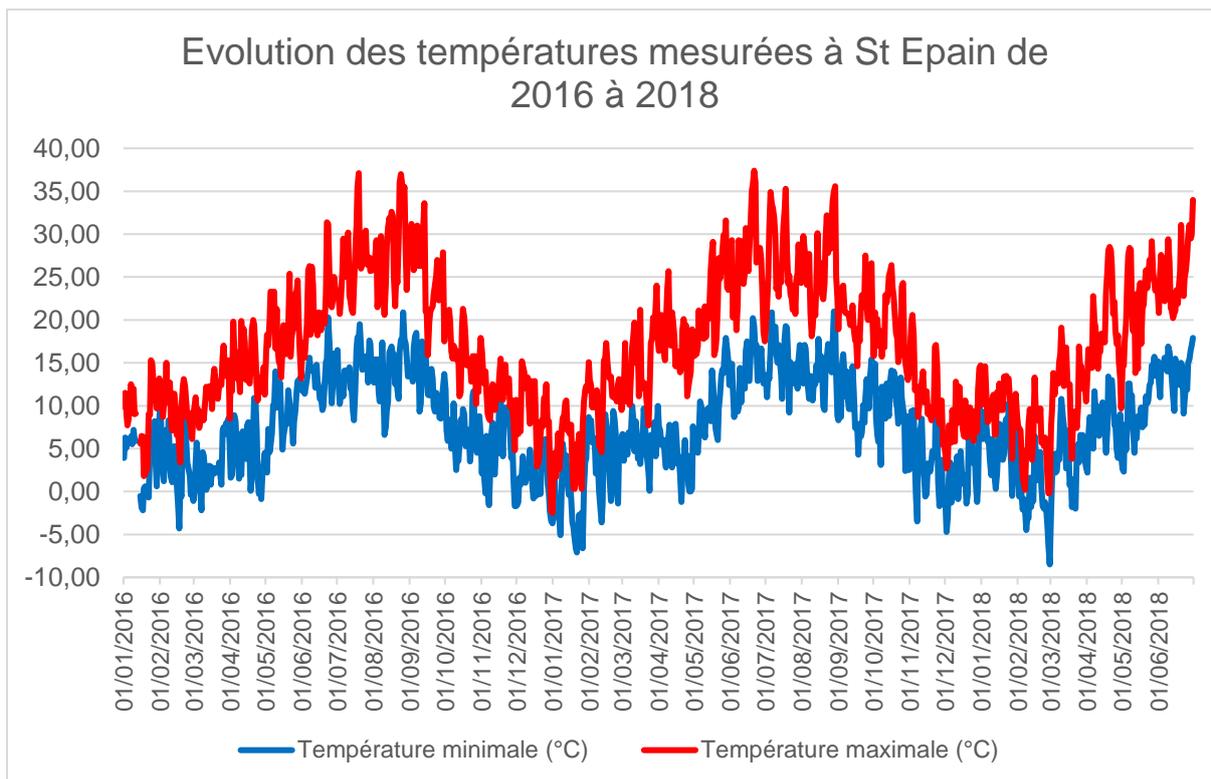


Figure 30 : évolution des températures minimales et maximales mesurées à la station la Morinière sur les 3 ans du projet RhizoDia

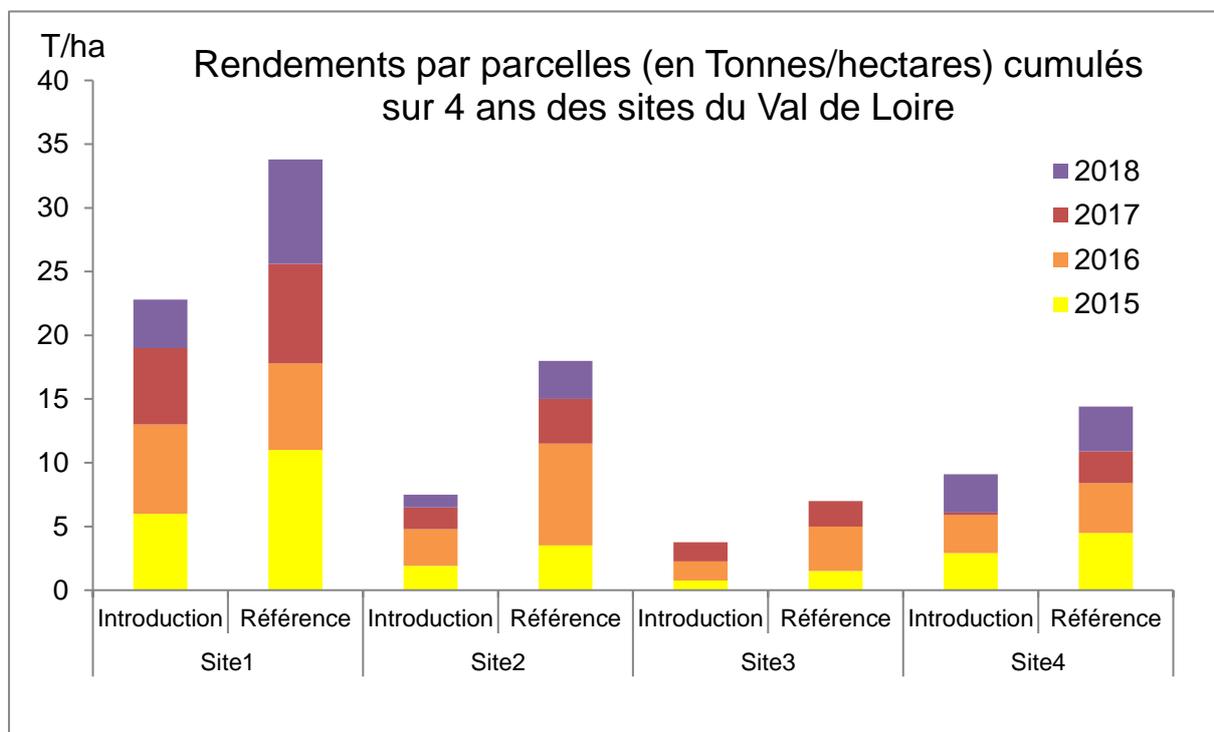


Figure 31 : cumuls des rendements en tonnes par hectare des sites du Val de Loire

3.0.6. *R.lophantae* d'introduction

Une des craintes de l'équipe de la Morinière était que les coccinelles fournies étaient, pour une raison ou pour une autre, incapables de se reproduire. Un des soupçons concernaient les proportions de mâles et de femelles présentes dans les sachets de conditionnement. Sur un échantillon provenant de 5 sachets, le sex-ratio est proche de 1:1 (49% mâles - 51% femelles). L'hypothèse d'un manque flagrant de mâles ou de femelles peut donc être écartée, bien qu'on ne connaisse pas le sex-ratio optimum pour cette espèce. En revanche, malgré les efforts déployés – aération de l'habitat, mise à disposition d'eau, renouvellement des branches infestées – les *R.lophantae* qui ont été gardées sont mortes à un rythme rapide. Au bout de 17 jours les dernières coccinelles ont été relâchées, le taux de mortalité étant de 96% alors que ces coccinelles sont censées avoir une espérance de vie de 63,4 jours si elles sont fécondées, contre 119,4 jours sans fécondation (Stathas, 2000a). Aucun œuf et seulement 1 larve ont été observés sur les rameaux qui ont servi de source de nourriture aux auxiliaires en captivité. L'absence de reproduction de ces individus est surprenante car *R.lophantae* est sensée avoir une forte fécondité. Il est possible de considérer les conditions dans lesquelles elles étaient captives comme exerçant un stress, qui aurait peut-être impacté leur capacité à se reproduire. Une expérience pré-RhizoDia similaire a été tentée en 2013, avec des résultats similaires. Aussi, il n'est maintenant pas possible d'écarter l'hypothèse que les auxiliaires commercialisés ne soient pas aptes à se reproduire.

3.0.7. Analyses génétiques

En cette 3^{ème} et dernière année du projet RhizoDia, les analyses génétiques ont été menées à bien sans réussir à tirer de conclusions. Deux questions cruciales auxquelles elles auraient pu répondre sont restées sans réponses. Les coccinelles introduites survivent-elles à l'hiver ? Les populations que l'on retrouve en saison estivale sont-elles d'origine commerciale ou déjà naturalisée ?

Le problème majeur lié à ces analyses est le suivant : les *R.lophantae* d'élevage et celles présentes naturellement dans les parcelles expérimentales n'appartiennent pas à deux groupes génétiquement distincts. En se basant sur le gène mitochondrial COI, il semble impossible de les classer dans deux clusters génétiques bien délimités.

Concernant 2018 tout particulièrement, certains espoirs étaient fondés sur l'analyse d'échantillons de 2017 sur sites de lâchers et d'échantillons de 2015, prélevés avant tous lâchers. De nombreuses tentatives de PCR ont été nécessaires pour réussir une seule analyse, aux résultats assez mitigés du fait que toutes les coccinelles semblaient appartenir au même cluster.

La qualité des échantillons utilisés en 2018 peut être mise en cause pour ce qui est de la difficulté des PCR : datant de 1 à 3 ans, conservés simplement dans de l'alcool à température ambiante, il est probable qu'ils aient pu subir une certaine dégradation de leur matériel génétique.

Pour d'éventuelles analyses futures, on pourra proposer d'échantillonner directement un groupe de coccinelles d'élevage et un groupe présent sur une parcelle éloignée de nos sites expérimentaux, ou de changer de gène cible. Néanmoins, il est toujours possible que les coccinelles retrouvées dans le Val de Loire et celles issues d'élevages appartiennent en fait à une seule et même métapopulation, et qu'il est donc impossible de les distinguer.

3.1. Pertinence des mesures et observations

De façon générale, il peut être difficile de quantifier la part de prédation imputable à un prédateur donné dans un milieu ouvert mis à part par une observation directe, ce qui peut être très chronophage (Costagama & Landis, 2007). Certaines remarques avaient été formulées en 2016 et 2017 concernant la méthode utilisée pour relever les populations du ravageur et

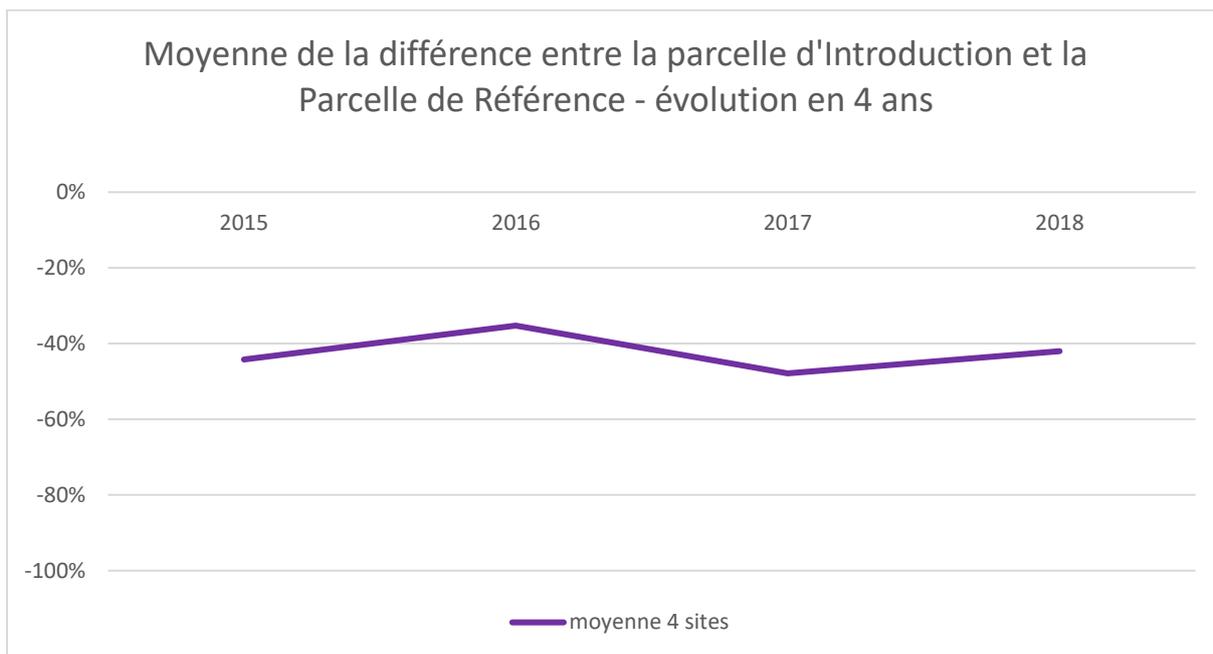


Figure 32 : évolution de l'écart de rendement moyen entre les parcelles Introduction et Référence pendant les 3 ans de RhizoDia

de son parasite. De plus, certains points de détails ont été remis en cause lors de discussions avec P. Kreiter et N. Ris cette année.

Comme évoqué précédemment, une cochenille est protégée par son bouclier lors de son cycle biologique, mais celui-ci reste sur les branches de la plante-hôte même plusieurs mois après la mort de la cochenille. Concernant l'évaluation visuelle de l'infestation d'un ensemble de buissons, cela représente un biais majeur : l'observateur ne peut estimer directement la véritable proportion de cochenilles vivantes (ce qui rappelle l'intérêt de la mesure de densité de cochenilles vivantes). Dans notre cas, une certaine cohérence des mesures est assurée du fait que les mêmes buissons aient été examinés par le même observateur (P. Guigneault) pendant les 3 ans d'expérimentation. Même s'il ne s'agit que d'un examen visuel par un seul observateur – et qui pourrait donc être biaisé – les répétitions des observations de 200 buissons par parcelle, sur les 3 parcelles expérimentales des 4 sites et ce pendant 3 ans sont rassurantes quant à la représentativité des données présentées.

Un autre biais est dû à la méthode de prélèvement des rameaux pour l'évaluation de la densité de cochenilles vivantes. En effet, ces échantillons sont infestés assez gravement pour être facilement repérables -ils sont infestés à des stades des classes 2 ou 3 du barème exposé en figure 11- et ils ne sont donc pas représentatifs de l'infestation de toute la parcelle (ce qui souligne encore l'importance de l'association avec la mesure précédente). De plus certains sont relativement vieux et présentent des empilements de boucliers qui peuvent biaiser la longueur de rameau examiné. Dans le cas idéal, il aurait fallu prélever des rameaux jeunes de 2 ans (et donc récemment infestés), mais la faible vigueur de nombreuses parcelles induit que le renouvellement des branches n'est pas assez rapide pour s'assurer de bons échantillons chaque année. Pour résumer, il est donc important de considérer les 2 mesures de population de cochenilles comme complémentaires. Une option à explorer pour d'éventuels relevés futurs serait l'utilisation de pièges à phéromones. Baggiolini *et al.* (1993) ont rapporté leur succès dans l'utilisation de pièges à phéromones de fabrication Allemande (Maison Trifolio-M, D-6335 Lahnu 2) dans la capture de nombreux mâles de *P.pentagona* lors de leur période de vol en juillet et septembre.

Concernant le relevé de population de *R.lophantae*, la disposition des coccinelles sur le buisson de cassissier peut constituer un obstacle à la bonne mesure de sa présence. En effet, il a été observé que les infestations de cochenilles commencent toujours à la base du buisson, et qu'elle y reste la plus forte même si des rameaux entiers sont touchés. *R.lophantae* étant un prédateur spécialisé, il semble probable qu'il soit présent aussi en plus grande concentration à la base du buisson. Sa taille (2 à 3 mm) le permettant, il y a de fortes chances qu'il puisse se réfugier dans les anfractuosités de l'écorce du buisson, position dans laquelle il est hors d'atteinte pour certains relevés comme le frappeage. Il est donc probable que lorsque des battages de buissons faits en saison (réalisés comme montré sur la figure 17), seule la proportion de coccinelles ayant remonté le long des rameaux sont collectées dans le parapluie japonais. Il est en effet difficile de frapper la base du buisson et de glisser le parapluie japonais sous la base en question – cela constitue un biais qui diminue probablement le nombre de coccinelles comptées par rapport au nombre réellement présent. Il a été suggéré plus tôt au cours du projet RhizoDia d'utiliser un aspirateur à insectes motorisé – ou D-Vac – mais cette option n'a pas été retenue du fait du réflexe naturel qu'on les coccinelles de se laisser tomber de leur branche dès la première secousse.

Pour ce qui est du positionnement des relevés dans le temps, les battages ont lieu lors de l'essaimage de la cochenille. Il s'agit de la période à laquelle *R.lophantae* est le plus apte à se nourrir, et donc à se développer. Dans l'optique de constater l'évolution de la population de coccinelles en fonction de l'essaimage, il serait peut-être intéressant de décaler ces relevés vers la fin de l'essaimage. En effet, cela laisserait le temps aux coccinelles de se reproduire et de se multiplier en fonction des proies disponibles, et donnerait une meilleure idée de son évolution.

Concernant la mesure de la capacité de la coccinelle à hiverner, la grande hétérogénéité des valeurs mesurées et le faible nombre d'insectes relevés en 2018 pose la question de la

pertinence des pièges utilisés. Premièrement, il semble évident que les fagots de bambous soient « l'abri hivernal » le moins pertinent. Les *R. lophantae* ont été bien moins nombreuses à être relevées dans ces pièges en 2017 par rapport aux bandes cartonnées, et aucune n'a été observée dans les bambous en 2018 : inutile donc de les utiliser à nouveau dans de futurs projets pour mesurer la présence de cet auxiliaire. Ensuite il se peut que les coccinelles choisissent un emplacement plus bas, dans les anfractuosités de la base du buisson, pour passer l'hiver. Les bandes cartonnées qui sont placées sur les branches ne capteraient alors qu'une petite partie des *R. lophantae* hivernantes. Dans l'absolu, la seule façon d'effectuer un comptage complet de l'auxiliaire et de la cochenille serait d'arracher ou de recéper le buisson de cassis, afin de d'examiner de façon complète la base de celui-ci. En pratique c'est irréalisable, l'arrachage d'arbustes de façon régulière et répétée étant fastidieux et difficilement justifiable auprès des producteurs acceptant que les mesures soient faites sur leurs parcelles.

3.2. Influence mutuelle proie/prédateur

Dès les travaux de 2016 et 2017 effectués dans le cadre de RhizoDia, on a pu relever l'absence ou la présence relativement faible de *R. lophantae* dans des parcelles où elles étaient introduites régulièrement. En revanche, dans des parcelles où aucun lâcher n'a jamais été effectué, on pouvait observer des populations parfois nettement plus fortes de cette coccinelle. Bien que les méthodes de relevés soient discutables (cf. partie 3.6 *Pertinence des mesures et observations* de ce rapport), il semblait alors qu'il n'y avait pas de corrélation directe entre la quantité de *R. lophantae* observée au champ et les lâchers dans les parcelles concernées. Les figures 24, 25 et 26 illustrent d'ailleurs nettement cette notion, avec les courbes de présence en parcelles d'Introduction qui ne sont pas nécessairement au-dessus des autres. Une hypothèse a alors été formulée : du fait de sa forte fécondité et de sa mobilité avérée, cet auxiliaire est capable de se déplacer et d'établir rapidement une population dans les parcelles les plus touchées par la cochenille. Le principal facteur favorisant la présence de la coccinelle ne serait donc pas son introduction artificielle, mais plus simplement la présence de sa proie dans les parcelles. En effet, lorsque la répartition des proies est très irrégulière, un prédateur, même spécialisé, peut rencontrer des difficultés pour les trouver et cela peut freiner son développement (Kareiva & Andersen, 1993). On peut alors facilement en déduire que les *R. lophantae* lâchés dans des parcelles déjà relativement saines de toute infestation de *P. pentagona* doivent se disperser, mourir, ou au mieux maintenir une population suffisamment restreinte pour se contenter de la ressource présente.

Une première observation qui va dans ce sens est celle des abris hivernaux. En observant les figures 22 et 23, si on écarte un instant les hétérogénéités entre sites d'observation, ce qui est le plus frappant est la chute du nombre de coccinelles retrouvées entre le printemps 2017 et le printemps 2018. Si on tient compte des données de degré d'infestation et de densité de population (cf. figures 12 et 20), il est visible que la fin de l'année 2016 marque une chute de l'infestation qui va durer tout 2017. Face à cette « pénurie » de proies la population de *R. lophantae* (prédateur spécialiste) n'a pu que baisser elle aussi, jusqu'à un seuil où elle pouvait se sustenter grâce au peu de *P. pentagona* restantes sur les parcelles de cassis. C'est pourquoi un nombre faible de *R. lophantae* a dû passer l'hiver dans les parcelles observées, et c'est pourquoi on observe une différence si flagrante entre les relevés de 2017 et ceux de 2018.

Un deuxième élément qui soutient cette hypothèse est la mise en perspective des données de densité de population de la cochenille et de celles du nombre de coccinelles comptées lors des frappages. Il apparaît nettement sur la figure 33 que la population de *R. lophantae* suit les mêmes grandes tendances que celle de *P. pentagona*. En 2016, un pic de densité de cochenille en juillet entraîne une augmentation de la population de *R. lophantae* en Août. Il est d'ailleurs intéressant de constater qu'ici l'augmentation est bien plus importante en parcelles d'Introduction, témoignant de l'effet positif de lâchers dans certaines parcelles. En 2017, la population de cochenille aillamment drastiquement chuté, celle des coccinelles ne met que

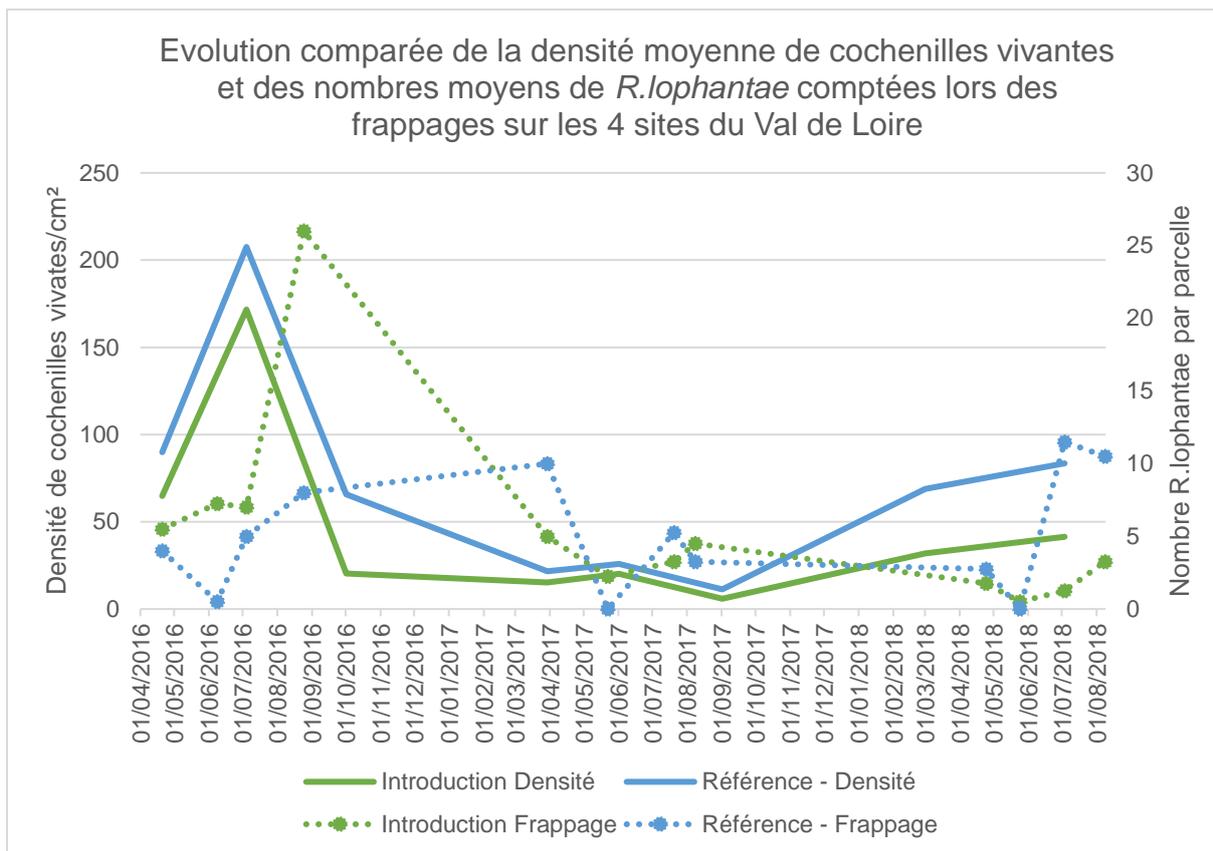


Figure 33 : comparaison de la densité de cochenilles vivantes et de la présence de *R.lophantae* sur les 4 sites du Val de Loire

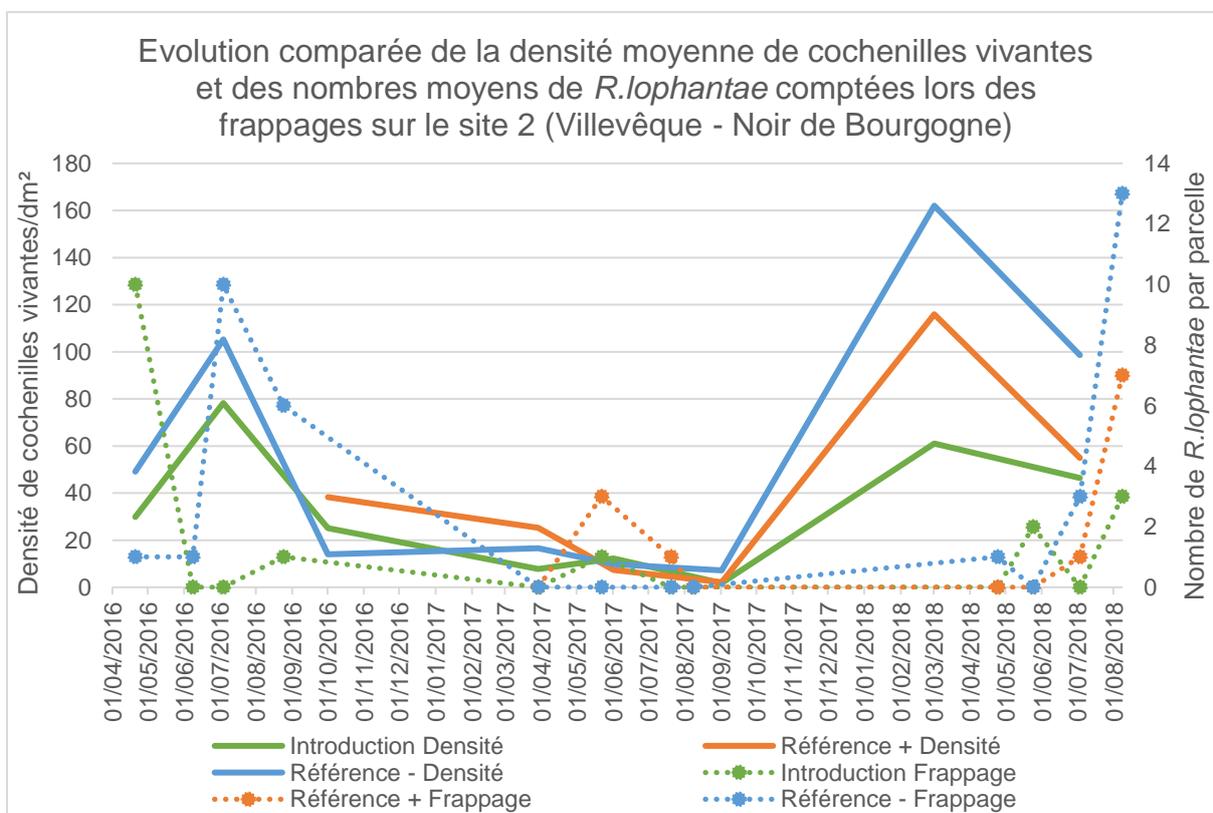


Figure 34 : comparaison de la densité de cochenilles vivantes et de la présence de *R.lophantae* sur le Site 2

quelques mois pour descendre et se stabiliser à des nombres très bas. Et lorsqu'en 2018 la population de *P.pentagona* remonte, celle de *R.lophantae* fait de même avec quelques mois de décalage.

Et autant les niveaux très bas de 2017 ne permettent pas de comparer les deux types de parcelles, en 2018 on distingue nettement que la coccinelle est plus fortement présente en parcelles de Référence du fait que l'infestation y est plus forte. En complément, la figure 34 expose la même comparaison, dans le cas du site 2 seulement. On y observe le même pic de densité de cochenille en 2016, puis la même baisse en 2017. L'évolution du couple ravageur-auxiliaire en 2018 est remarquable. Sur les 3 parcelles, la densité de cochenille remonte. Les populations de *R.lophantae*, alors très basses, remontent subitement, probablement du fait du retour en abondance de sa ressource. De plus, la population d'auxiliaire la plus nombreuse est présente en parcelle de Référence (-), la où la densité est la plus forte. A la seconde place, la parcelle de Référence (+) suit la même logique, et la population de *R.lophantae* comme de *P.pentagona* est la plus basse en parcelle d'Introduction. Pour conclure, ces différents éléments permettent d'affirmer que la coccinelle *R.lophantae* va principalement se développer dans les parcelles où *P.pentagona* est la plus abondante, indépendamment d'où elle est lâchée.

Ce que les figures 33 et 34 mettent aussi en évidence le fait que les populations de coccinelles ne répondent pas immédiatement à l'augmentation ou à la chute de la population de *P.pentagona*. Un décalage temporel est clairement visible sur les 2 graphiques, et il témoigne simplement du temps que va mettre l'auxiliaire à se multiplier lorsque la ressource augmente, ou à dépérir (ou migrer) lorsque celle-ci baisse.

3.3. Influence du climat

Le climat est un facteur intéressant car il est difficile d'interpréter les cycles du ravageur et de son prédateur seulement par les stratégies de lâchers et les traitements. En effet, dans tout le Val de Loire, il semble que la cochenille suive des grandes tendances indifféremment des parcelles, comme l'effondrement de 2017 et la remontée d'infestation de 2018. De plus, lorsqu'on discute de l'efficacité de *R.lophantae* comme agent de biocontrôle, sa résistance au froid est l'un des critères essentiels à l'implantation d'une large population sur nos parcelles.

3.3.1. Adaptation de *R.lophantae* au climat

Ce n'est pas la première fois que cette coccinelle est utilisée dans une tentative de lutte biologique contre *P.pentagona*. Elle a été introduite avec succès dans certains pays, mais l'aire de répartition de ces pays pose une question évidente. En effet, *R.lophantae* s'est acclimatée sur *P.pentagona* en Italie depuis les années 1950-1960 sur agrumes, palmiers et palmiers-dattiers contre des cochenilles diaspiques (*Malausa et al.*, 2008). Aussi, la brève liste des pays où *R.lophantae* s'est révélée efficace en tant qu'agent de contrôle biologique, énoncée par Stathas (2000b) comprend la Californie, l'Italie, l'Argentine, les Bermudes, l'Algérie, la Tunisie, le Maroc, la Grèce et la Géorgie. Ces pays ont des climats relativement chauds et secs : il est légitime de se demander si *R.lophantae* est capable d'exercer une pression suffisante pour être efficace dans le Val de Loire et en Bourgogne, où le climat est plus froid et humide. Peut-être qu'avec certains autres facteurs, le climat empêche une population importante de s'installer de façon pérenne dans la région, ou l'empêche de se développer suffisamment pour réguler à elle seule la pullulation de cochenilles blanches du mûrier.

3.3.2. Remontée de *P.pentagona* vers le Nord – causes et limites

Il y a un siècle, *P.pentagona* faisait tout juste son entrée sur le territoire français, dans sa région la plus méridionale, à la frontière avec l'Italie (Vayssière, 1918). Il y a deux décennies, on la signalait finalement dans la moitié Nord de la France (Kreiter & Marro, 1997). Comme

tous les insectes, le cycle biologique et le développement de *P.pentagona* sont dépendants des températures extérieures. On peut alors faire le lien avec le phénomène de réchauffement global des températures qui fait aujourd'hui consensus dans la communauté scientifique. Porter (1991) énonce que dans le cas des arthropodes ravageurs, le réchauffement climatique peut remonter l'aire de répartition des dits ravageurs vers des régions plus septentrionales, ainsi qu'augmenter le nombre de leurs générations dans les régions où ils sont déjà installés. Par exemple, Bagglioni *et al.* (1993) émettait l'hypothèse que la succession d'hivers doux dans la région de la côte Lémanique (Suisse) ait permis l'installation de la cochenille dans la région. En Hongrie, des observations météorologiques ont renforcé l'idée que la progression d'insectes ravageurs vers des régions septentrionales pouvait être liée à un phénomène de réchauffement climatique. En effet, il a été observé que simultanément à l'augmentation des moyennes hivernales sur plusieurs décennies, certains ravageurs comme *P.pentagona* ont migré vers le Nord, dans des régions auparavant hors de leurs aires de répartition naturelles. Une réduction de la fréquence et la durée des périodes hivernales froides a été mis en cause : ces périodes constituent habituellement un obstacle à la progression des arthropodes ravageurs des cultures. Les événements climatiques les plus durs (ici les plus froids) sont capables de réduire drastiquement une population d'insectes hivernants, et ralentir voire arrêter un phénomène de migration. Pour le cas de la Hongrie, si des séries d'hivers doux se reproduisent dans le futur, il se peut que des espèces nuisibles se disséminent dans des régions supplémentaires (Stollár *et al.*, 1993).

En effet les périodes froides du climat de certaines régions posent encore des barrières à la progression du ravageur. Viggiani (*in* Bagglioni *et al.*, 1993) affirme que des températures comprises entre -5°C et -10°C cause une importante mortalité des femelles de *P.pentagona* hivernantes, et Bénassy (1958b) fait une corrélation directe entre des périodes de froid rigoureuses en février et une augmentation de la mortalité chez ces mêmes femelles hivernantes. Pour lui, ce rapport est particulièrement net lorsque les températures en question descendent sous la barre des -10°C. Une autre conséquence plus indirecte des climats frais selon lui est un décalage des cycles des parasites du *P.pentagona*. Cette fois-ci cela agit en faveur du ravageur en impactant l'efficacité des parasites comme *A.proclia* et *E.berlesei*. Les pullulations de cochenilles sont corrélées à l'absence de la première génération précoce du parasite *P.berlesei* dans la région Lyonnaise, en comparaison du pourtour méditerranéen où elle a bien lieu : une génération manquante du parasite en début de saison du fait de températures trop fraîches peut favoriser la pullulation de la cochenille dans la saison.

Si on se fie aux tendances communément admises en termes d'évolution globale des températures, c'est-à-dire un réchauffement, il est probable que *P.pentagona* continue d'envahir des régions de plus en plus septentrionales, et qu'elle présentera des générations plus nombreuses dans les régions où elle est déjà installée.

3.3.3. Données météo de Saint-Epain

Cette question est particulièrement importante lors des premiers lâchers d'auxiliaires de l'année, qui ont été réalisés en Avril, à des périodes où la météo n'a pas été toujours favorable. Il est soupçonné que des coups de froid, de gel ou de fortes précipitations handicaperaient l'installation des *R.lophantae* dans les parcelles d'Introduction. Et en effet, on observe sur la figure 30 que des températures négatives ont été observées en Avril voire en Mai dans la région en 2016 et 2017. On peut donc remettre en cause un lâcher si précoce des *R.lophantae*, ou définir un compromis en termes de températures et de période d'essaimage de la cochenille.

Concernant l'évolution des populations de *P.pentagona*, celle-ci ne peut pas être expliquée par la seule influence du climat, étant donné qu'aucun événement climatique exceptionnel (froid ou chaud) n'aurait pu impacter grandement la survie de la cochenille. Néanmoins, il se les températures basses de l'hiver 2018, avoisinant les -10°C, sont censées augmenter la mortalité des cochenilles hivernantes... ce qui n'est pas observé car leurs populations remontent clairement cette année-là.

3.4. Impacts des pesticides

Comme dans tout programme de lutte biologique, il est important de s'interroger sur l'antagonisme entre les traitements insecticides appliqués sur une culture et les arthropodes auxiliaires qu'on y lâche. De nombreux auteurs affirment que dans le cas de la pratique d'une « lutte intégrée », il est important d'assurer la sauvegarde des arthropodes naturellement présents dans une parcelle cultivée, pour s'assurer d'un certain contrôle des pullulations de ravageurs par cette population d'ennemis naturels. Ils pointent aussi du doigt les insecticides à large spectre, qui sont particulièrement dommageables pour cette faune auxiliaire (Benassy & Milaire, 1970 ; Reboulet *et al.*, 1981 ; Reboulet 1995).

Pour illustrer cette notion, on peut reprendre l'exemple de *P.pentagona* et de ses parasites *A.proclia* et *E.berlesei*. En effet dans le Sud de la France, lorsque ces micro-hyménoptères font preuve d'une faible efficacité, les pesticides sont souvent désignés responsables. Benassy & Bianchi (1957) suggèrent qu'une des raisons qui expliqueraient une grande partie des pullulations observées serait l'impact négatif des traitements insecticides sur tout le cortège parasitaire. En effet, à l'état naturel, cette cochenille est sensée être contrôlée par *E.berlesei*, qui est très peu présent en vergers cultivés du fait de la lutte chimique (Chabriere *et al.*, 1997). Nicolas (1988) observe que les vergers de pêchers plantés en variétés précoces - supportant peu d'insecticides - présentent des taux de parasitismes naturels (par *A.proclia* et *P.berlesei*) compris entre 25% et 42%. Si on veut conserver l'action de ces micro-hyménoptères, il préconise de réduire au strict nécessaire les traitements insecticides. Toujours selon lui, Il faut tailler tôt en hiver, sans hésiter à éliminer des charpentières et brûler le bois de taille. Une combinaison entre un choix variétal, des mesures de prophylaxie et des traitements raisonnés semble donc être la meilleure combinaison de pratiques en « lutte intégrée ».

Il semble donc impératif de modérer l'utilisation de pesticides généralistes : même si certains traitements n'ont pour l'instant pas d'alternative, une réflexion doit être faite sur les bioagresseurs, notamment pour déduire lesquels font le plus de dégâts.

Un autre problème est qu'il est généralement encore difficile d'estimer les effets létaux et sublétaux des pesticides dits « sélectifs » sur la faune auxiliaire (Gentz *et al.*, 2012). Néanmoins, il semble que la présence de *R.lophantae* dans une parcelle soit plus nettement liée à la présence de *P.pentagona* qu'au traitement appliqué dans la dite parcelle, comme expliqué en partie 3.2 *Influence mutuelle proie-prédateur*. Dès 2017 au sein du projet RhizoDia, l'hypothèse d'une influence faible ou inexistante du calendrier de traitement sur la coccinelle auxiliaire a été énoncée. Cette année, et la compilation des 3 années d'observation nous confirment cette tendance, avec des populations de *R.lophantae* qui peuvent être plus importantes dans des parcelles de Référence que dans des parcelles d'Introduction, et plus hautes dans certaines parcelles de Références traitées au chlorpyrifos-méthyl que celles qui ne sont pas traitées avec ce produit.

Guyot & Quilici (1987) estiment que dans le contexte de vergers traités à l'aide de nombreux insecticides, la lutte biologique semble illusoire. En effet il semblerait que les parasites que nous connaissons sont impactés fortement par ces pesticides. Benassy *et al.* (1962) préconisaient d'appliquer des produits aussi spécifiques que possible, et de façon ciblée sur les arbres infestés (en vergers de pêchers). Le manque d'efficacité du chlorpyrifos-méthyl laisse à penser que les lâchers de *R.lophantae* peuvent les remplacer avantageusement, mais les pucerons et cécidomyies posent des problèmes importants dans les parcelles d'Introduction où les insecticides sont interdits. Aussi, on sait que lors des premiers lâchers de *R.lophantae* de l'année, les conditions climatiques peuvent être défavorables à la coccinelle. Une solution pouvant concilier ces différents aspects serait d'effectuer les traitements insecticides adaptés et spécialisés contre les pucerons et les cécidomyies au printemps

(autour du 10 Avril), et d'effectuer un lâcher de *R.lophantae* seulement au deuxième essaimage de la cochenille, en fin juillet. Afin de positionner cette intervention, il est impératif d'observer plus souvent les parcelles touchées par la cochenille. Les traitements et lâchers en seront mieux ciblés dans le temps et dans l'espace de la parcelle.

3.5. Aspects technico-économiques

Il convient d'examiner la faisabilité d'une telle méthode de lutte. Dans l'état actuel des choses et en considération du prix des auxiliaires, il semble difficile de préconiser des lâchers aux densités choisies pour ce projet aux agriculteurs. Dalstein *et al.* (2016) expliquent que le coût des lâchers et le nombre de coccinelles nécessaires par buisson semble rendre cette technique trop coûteuse. En effet, le prix unitaire d'une coccinelle *R.lophantae* est de 20 centimes d'euro en 2018.

De plus, en 2017 et en 2018 la station de la Morinière a rencontré des problèmes d'approvisionnement en coccinelles, alors que les commandes qui ont été passées auprès des partenaires du projet ne couvraient que l'équivalent de 2,5 hectares. Il est donc raisonnable de douter des capacités de l'industrie de l'élevage à répondre à une demande massive et très ponctuelle en *R.lophantae*.

On peut reprendre ici la figure 31, qui décrit les rendements cumulés dans les différentes parcelles, de Référence et d'Introduction. Il semble évident au premier coup d'œil que les parcelles où on a introduit les *R.lophantae* sont moins productives, et seraient donc moins rentables. Hors, il est visible que dès 2015 (la saison précédent le projet), ces parcelles sont déjà moins productives. En plus de l'hétérogénéité première des parcelles, détaillée en table 5, il faut considérer la pression exercée par d'autres bioagresseurs que *P.pentagona*. En effet, il a été observé dans les parcelles d'Introduction un fort développement des pucerons et cécidomyies, qui profitent de l'absence de traitements insecticides. Les dégâts qu'ils causent peuvent avoir un impact sur la production. Enfin, la figure 32 montre que l'écart moyen initial (de 2015) qu'il y avait entre les parcelles de Référence et celles d'Introduction se maintient tout au long du projet. Il n'est donc pas possible d'affirmer que la méthode de lutte impacte le rendement des cultures.

A deux reprises dans l'année, une densité de 5000 coccinelles par hectares a été lâchée dans les parcelles. Pour illustrer les coûts financiers, de la lutte sur 1 hectare de cassissier, avec le nombre de lâchers et la densité pratiqués pour RhizoDia. Ainsi, cela coûterai 2000€ par saison, ce qui est bien plus onéreux qu'un traitement insecticide. En revanche les lâchers en eux même ne représentent pas un coût de main d'œuvre énorme : entre 30 et 40 minutes ont suffi pour lâcher les *R.lophantae* sur un hectare, tout en prenant le soin nécessaire à l'expérimentation (repérage des buissons, placement soigneux des sachets, etc.). Dans des conditions de production, il est donc envisageable que cela soit encore plus rapide.

Bien que l'infestation de la cochenille en sortie d'hiver soit plus importante, plusieurs éléments permettent d'affirmer qu'il serait intéressant de ne lâcher les *R.lophantae* que sur le deuxième essaimage de l'année. En effet, les lâcher en fin juillet permettrait de traiter de façon classique les attaques de cécidomyies et de pucerons qui se développent au printemps, sans impacter l'auxiliaire. Aussi, il a été observé par Dalstein *et al.* (2016) que la récolte mécanisée du cassis réduisait fortement la population de coccinelles observables. Ne pas les introduire au printemps évite une perte inutile de ces insectes. Enfin, on évite une période à laquelle les conditions météorologiques ont souvent été défavorables à *R.lophantae* (comme énoncé en partie 2.7.1), avec de fortes précipitation et/ou des températures négatives.

Comme il a été observé au cours des 3 ans de RhizoDia, et comme il est relevé dans la littérature, *P.pentagona* est un insecte dit « de foyer », présentant une hétérogénéité importante dans l'intensité de ses attaques d'une branche à l'autre et d'un arbuste à l'autre

Table 5: Etat initial des parcelles en Mars 2016 (Source : Gouvriou, 2016)

	Localisation	Variété	Parcelle	Distance entre les deux parcelles	Date de plantation	Espacement	Vigueur des arbustes	Nature de l'infestation
Site 1	Villevêque (49)	Blackdown	Référence	700 mètres	2012	3,30 x 0,6 m	Vigueur moyenne, arbuste de 1,20 m	Foyers d'infestation sporadiques, peu de buissons contaminés, infestation légère
			Introduction		2011	3 x 0,6 m	Vigueur moyenne, arbuste de 1,20 m	Foyers d'infestation réguliers et conséquents
Site 2	Villevêque (49)	Noir de Bourgogne	Référence	5300 mètres	2011	3,5 x 0,6 m	Vigueur moyenne, arbuste de 1,20 m	Foyers importants sur jeunes rameaux. Plus de la moitié des arbustes touchés
			Introduction		2009	3,3 x 0,6 m	Bonne vigueur, hauteur importante (1,70 m)	Infestations en hauteur sur des foyers très réduits et ponctuels
Site 3	Chambellay (49)	Noir de Bourgogne	Référence	1000 mètres	2011	3 x 0,5 m	Vigueur moyenne, arbuste de 1,20 m	Plusieurs petits foyers avec des infestations faibles à moyennes
			Introduction		2010	3 x 0,6 m	Vigueur moyenne, arbuste de 1,20 m	Foyers réguliers avec une infestation moyenne à sévère
Site 4	Thorée-les-Pins (72)	Noir de Bourgogne	Référence	500 m	2010	3,5 x 0,5 m	Faible vigueur, arbuste de 1 m, pas de recrutement de jeune bois	Foyers très sporadiques avec infestation très sévère, nombreux pieds morts
			Introduction		2010	3,2 x 0,5 m	Très faible vigueur, arbuste ne dépassant pas 1 m, pas de renouvellement de jeune bois	Foyers très sporadiques avec infestation très sévère, nombreux pieds morts
Site 5	Merceuil (21)	Noir de Bourgogne	Référence	1200 m	2010	3,2 x 0,55 m	Vigueur moyenne, arbustes de 1,20 m.	Alternance de séries de pieds atteints à très atteints et de pieds sains
			Introduction			3,2 x 0,55 m	Faible vigueur, très peu de renouvellement de jeunes bois	Foyer central d'infestation avec presque tous les pieds atteints

(Nicolas, 1988). Cette caractéristique pourrait être utilisée pour cibler les lâchers de coccinelles dans les zones les plus touchées des parcelles, et économiser ainsi des auxiliaires. Si la demande en *R.lophantae* venait à augmenter, il est possible d'imaginer une diminution des coûts de production, du fait d'économies d'échelle. Après discussion avec les fournisseurs sur les aspects économiques de cette méthode de lutte, il est apparu envisageable que des élevages à plus grande échelle permettent de faire descendre le prix du *R.lophantae* adulte à 10 centimes, et celui de la larve à 7 ou 8 centimes. De plus si les lâchers sont faits de façon localisée dans la parcelle, il serait possible de réduire au tiers leur nombre à introduire. Pour un hectare, le coût de traitement d'un hectare pourrait revenir à environ 330€ + 6-7€ (coût de la main d'œuvre), et ce seulement les années où on observe des pullulations de *P.pentagona*. En comparaison, un traitement au Reldan2M®, qui s'utilise à 2,2l/ha, revient à 31,90€ de l'hectare (hors coût de l'application du traitement). Un autre biais de réduction des coûts mais qui n'a pas été testé pendant RhizoDia est l'utilisation de larves de *R.lophantae* au lieu d'adultes. Celles-ci sont moins onéreuses, plus voraces, et il n'y aurait plus de doutes quant à l'âge des auxiliaires qui sont fournis par les commerçants.

Le cassis atteint son plein potentiel de production entre sa 4^{ème} et 8^{ème} année. Une stratégie permettant d'optimiser la lutte contre *P.pentagona* serait de s'attaquer à l'infestation le plus rapidement possible. En effet, les buissons les plus jeunes ne présenteront pas d'encroutements de boucliers ou de lichens pouvant protéger la cochenille. Ainsi, réduire l'impact de *P.pentagona* de façon précoce (2^{ème} ou 3^{ème} année) permettra de préserver la productivité des années de plein rendement. Dans cette optique, on réaffirme la nécessité de ne lâcher les *R.lophantae* que lors du deuxième essaimage de la cochenille : les traitements printaniers contre les pucerons et les cécidomyies sont impératifs pour ne pas impacter l'installation des jeunes buissons (comm. pers. Guigneault, 2018).

Il apparaît très clairement que sans une baisse radicale du coût des insectes ou de la quantité de *R.lophantae* à lâcher, cette solution soit trop coûteuse pour les producteurs. Néanmoins, des solutions pour rendre les parcelles traitées de la sorte sont envisageables : des subventions agricoles et une valorisation du prix du cassis vendu pourraient rendre ce mode de traitement plus attractif pour les producteurs.

4. Conclusions sur le projet

4.1. Limites du projet

Coopérer avec des producteurs pour expérimenter sur leurs parcelles permet de travailler sur du matériel végétal sans les biais qu'induisent une serre ou un laboratoire, et la parcelle subit presque les mêmes interventions qu'en conditions de culture normales. En contrepartie, l'expérimentateur a moins de contrôle sur l'environnement de la parcelle, et elle n'est ainsi pas à l'abri de certains incidents. Cela constitue une source supplémentaire de dispersion des données ou d'erreurs potentielles d'interprétation des données, qui ne serait pas présente dans un milieu hermétiquement clos.

De plus, la coopération avec les producteurs peut parfois compliquer l'expérimentation, étant donné qu'il peut être difficile de justifier la nécessité de certaines opérations. C'est le cas des parcelles du projet RhizoDia, où la basse pression des cochenilles en 2017 a poussé les producteurs à s'écarter du plan expérimental pour économiser un traitement.

Même si trouver initialement 5 producteurs pour coopérer au sein de ce projet fut un succès en soi, il aurait été intéressant d'avoir plus de sites pour répéter nos traitements et tirer des conclusions plus solides. L'abandon de la parcelle bourguignonne constitue une perte notable dans ce projet, qui aurait grandement bénéficié de répétitions à l'extérieur du Val de Loire pour des raisons de représentativité à l'échelle nationale.

Un des objectifs initiaux de ce projet était de définir des modalités de traitement précises à appliquer dans l'utilisation de *R.lophantae*. Bien que la période à laquelle les lâchers doivent être effectués a clairement été définie, la densité d'insectes à l'hectare a été choisie de façon relativement empirique à partir des observations pré-RhizoDia. Il aurait été intéressant de tester l'efficacité de différentes densités de lâchers, afin de pouvoir préconiser la densité efficace la plus basse possible et éviter un surcoût pour les producteurs. Aussi, il n'existe pour l'instant pas de références concernant le lâcher localisé de *R.lophantae* sur des foyers d'infestation de la cochenille. Or, ces lâchers focalisés dans les parcelles infestées pourraient permettre de réduire la quantité de coccinelles à acheter et donc également de rendre cette solution de contrôle plus abordable. Dans cette réflexion sur l'échelle des lâchers, une perspective d'expérimentation dans la lutte contre *P.pentagona* pourrait être de s'organiser à l'échelle du bassin de production. Une coordination de lâchers entre tous les producteurs d'un bassin nettoierait peut-être une grande zone, et rentabiliserait les investissements de tous les producteurs en réduisant la pression de cette cochenille sur toute la région.

Concernant les outils de mesure, il aurait été intéressant de tester des instruments comme l'aspirateur motorisé « D-Vac » pour relever la présence des *R.lophantae* en saison. Même s'il n'est pas garanti qu'ils soient plus efficaces, cela aurait fourni une mesure alternative et fixé les opérateurs sur la méthode la plus efficace pour contrôler la population de coccinelle. Arracher les buissons de cassis pour observer la population réelle de *R.lophantae* n'est à aucun moment une solution de mesure acceptable.

Au vu des traces (régulièrement observées) d'activité des parasites comme *A.proclia* ou *E.berlesei*, il est dommage qu'un suivi quantitatif de leur présence n'ait pas été mis en place. Néanmoins, l'un des obstacles à un tel suivi est la conservation des restes (boucliers, corps séchés) de *P.pentagona*. En effet, face à une cochenille qui a manifestement été parasitée, il est la plupart du temps impossible de savoir si elle date de quelques mois, ou des années précédentes, ce qui compliquerait alors l'interprétation de ces observations. Si on souhaite à l'avenir examiner l'effet des parasites cités ci-dessus, on devra mettre au point de nouvelles méthodes de mesure, et travailler sur jeunes buissons. Aussi, il n'a pas été possible d'observer l'impact des autres auxiliaires de culture présents dans les parcelles – ni en termes de concurrence, ni en termes de prédation intra-guille. Il s'agit d'un aspect qu'il pourra être nécessaire d'explorer dans le futur, car certains auxiliaires ont été observés régulièrement durant les 3 ans du projet.

4.2. Réussites du projet

Le projet RhizoDia a permis de mettre en évidence plusieurs points positifs concernant *R.lophantae* et son utilisation en tant qu'auxiliaire. D'abord, les observations effectuées sur les populations de *P.pentagona* se sont révélées complémentaires et efficaces. Bien qu'examinant deux aspects différents de l'infestation et étant parfois laborieuses, elles ont permis d'aboutir aux mêmes conclusions à la fin des 3 ans de projet : les lâchers de *R.lophantae* ont eu des impacts positifs contre *P.pentagona*.

Un aspect de l'auxiliaire *R.lophantae* qui a clairement été mis en valeur durant ces 3 ans de projets est sa grande mobilité. Au début des essais préliminaires menés entre 2013 et 2015 à la Morinière, on doutait fortement de sa capacité de déplacement, au point de déposer quelques insectes buisson par buisson. Suite aux observations de la capacité de dispersion dans les parcelles, et aux observations directes de sa vitesse et portée de vol (dépassant aisément les 10 mètres en un vol de quelques secondes), on peut affirmer que *R.lophantae* est capable d'une grande mobilité et d'une grande dispersion en parcelle.

Il apparaît aussi, malgré des problèmes d'approvisionnement en quantités, que la coccinelle soit capable de survivre au transport sur de longues distances et de passer plusieurs jours

dans son sachet de conditionnement. L'aspect « transport » n'est donc pas un obstacle à l'utilisation de *R.lophantae* adulte contre la cochenille blanche du mûrier. Des réserves doivent être gardées quant au transport de ses larves, plus fragiles.

Mais sans doute la conclusion principale de ce projet lui-même porte sur l'efficacité de contrôle de la coccinelle. Au cumul des 3 ans de données mesurées, le projet Rhizodia a montré que les parcelles dans lesquelles *R.lophantae* a été lâchée sont au final plus saines, et ce malgré les fluctuations globales de la population de cochenilles sur tout le territoire observé. Du point de vue de la proportion de buissons atteints par *P.pentagona* dans les parcelles -comme de la densité de la population sur les rameaux infestés- on peut affirmer que les lâchers de ces auxiliaires sont efficaces, et dans une certaine mesure plus efficaces que l'application de chlorpyrifos-méthyl.

Le climat, que l'on soupçonnait trop froid pour l'installation pérenne de *R.lophantae*, ne semble lui non plus pas poser de problème. En effet, les populations naturellement présentes chaque année avant le premier lâcher d'Introduction au printemps confirment que cette espèce est capable de se reproduire et de se maintenir dans la région. De plus, au vu des pays dans lesquels *R.lophantae* est utilisée avec succès comme agent de contrôle biologique, on peut affirmer que les températures les plus chaudes que l'on peut atteindre dans le Val de Loire ne sont pas handicapantes pour notre auxiliaire.

La manière dont *R.lophantae* pouvait être utilisée a été clarifiée. Il semble qu'il soit difficile de pérenniser une population de cet auxiliaire sur une parcelle fixe. Mais en lâcher tous les ans semble inutile, dans le sens qu'une fois une parcelle assainie, les coccinelles migreront vers d'autres sources de nourriture. Le juste milieu se base alors sur l'observation des parcelles : on peut envisager des lâchers conditionnés par la présence de *P.pentagona*, qui seraient effectués tous les 2-3 ans en fonction de la gravité de l'infestation.

4.3. Quels verrous techniques ?

Malgré les succès du projet, quelques verrous techniques subsistent. Ils devront être levés pour une meilleure compréhension du comportement du couple auxiliaire-ravageur *R.lophantae* - *P.pentagona*.

Tout d'abord, concernant la mesure de la présence hivernale et estivale de *R.lophantae* en parcelles. Il semble important d'explorer d'autres méthodes de comptages afin de suivre la population de la Coccinellidae avec le moins de biais possibles.

Afin d'observer plus finement la capacité de reproduction et de prédation des *R.lophantae* commercialisés, il serait impératif d'effectuer des essais en milieu clos, afin d'éviter la dispersion dont la coccinelle s'est révélée bien capable. Jusqu'ici aucun des essais en milieux clos n'ont porté de fruits à la Morinière.

Pour l'instant, les raisons des grandes tendances qu'ont suivies les populations de *P.pentagona* restent inconnues. Le pic de 2016, la chute de 2017 et la remontée de 2018 font peut-être partie d'un cycle régulier s'effectuant sur une décennie ou plus (comm. pers. Kreiter, 2018). En continuant les observations que nous avons menées sur les populations de cochenilles sur une plus longue durée, il nous serait peut-être possible de distinguer les cycles en question et les facteurs qui les influencent dans le Val de Loire.

Les analyses génétiques restent peu fructueuses à la fin des 3 ans de RhizoDia. Il semble aujourd'hui nécessaire d'aller chercher des échantillons de *R.lophantae* issus de populations naturelles, ainsi qu'issus directement des populations d'élevage. En changeant si besoin de

gène à analyser, il serait intéressant de trouver un facteur nettement discriminant entre les deux populations attendues de *R.lophantae*.

4.4. Quelles perspectives de transpositions ?

Une des cultures pouvant potentiellement bénéficier des avancées du projet RhizoDia est celle du cerisier. Lors d'une communication téléphonique avec Betty Fidalgo du centre COVETA (Centre Orléanais de Vulgarisation et d'Etudes des Techniques Arboricoles), il est apparu que la situation dans les vergers de cerisiers pouvait prendre un tournant similaire à ceux de cassissiers.

En effet, *P.pentagona* est un ravageur en progression sur cerisier dans la région Centre Val de Loire. Il a été repéré la première fois en 2014, et s'est aujourd'hui étendu au point d'être devenu assez courant. La situation est problématique car les arboriculteurs travaillant sur cerisiers sont pour l'instant assez peu renseignés sur cet insecte. Il peut provoquer le dépérissement de charpentières entières, et la production des vergers atteints est significativement réduite. D'un point de vue phytosanitaire la filière est aussi dans une impasse. Bien que disposant de produits homologués (comme l'Admiral Pro®), leur application est bloquée par le fait que le premier essaimage se produise lors de la période de récolte des cerises, et ils ne semblent globalement pas assez efficace pour endiguer la progression de *P.pentagona*. Cette situation est potentiellement liée à l'intensification des traitements insecticides contre *Drosophila suzukii*, qui ont peut-être détruit une partie de la faune auxiliaire qui maîtrisait les populations de cochenilles diaspines.

Il semble alors pertinent de conduire des tests avec *R.lophantae* pour apporter une solution potentielle aux producteurs de cerises. De plus, le cerisier est plus proche du pêcher que du cassissier, et c'est sur pêcher que *R.lophantae* a prouvé qu'il était capable de contrôler efficacement la cochenille blanche du mûrier.

4.5. Quelles leçons tirer de Rhizodia ?

Il y a également quelques leçons plus générales à tirer de RhizoDia. Premièrement, il est difficile de déterminer l'efficacité d'un prédateur dans un milieu ouvert comme les parcelles gérées par les producteurs. Bien que la différence observée entre les parcelles d'Introduction soient imputables à la pression de prédation de *R.lophantae*, il est difficile voire impossible de suivre les populations qui sont lâchées en parcelles et d'observer la prédation réelle qu'elles exercent. Le suivi d'un auxiliaire des cultures demande une réflexion approfondie dans les méthodes de suivi qui sont employées pour suivre son évolution et ses progrès.

Il semble également qu'il faille faire preuve de diplomatie et de clarté à l'égard des producteurs qui participent à ce type de projets. Un bon suivi du protocole et un retour détaillé sur leurs impressions dépendent du rapport avec ces partenaires proches du terrain.

L'effet négatif de l'application de Reldan2M® sur *R.lophantae* n'a pas été montré. La lutte chimique « classique » n'est peut-être pas aussi antagoniste à la lutte biologique par augmentation que la littérature sur le sujet le laisse penser. Montrer que ces deux luttes ne sont pas totalement antagonistes permettrait aussi d'aborder la lutte biologique de façon moins clivante avec les agriculteurs, pour qui les traitements chimiques représentent souvent un « filet de sécurité » concernant leur récolte. Ainsi, dans l'idée de maîtriser les autres ravageurs (pucerons, cécidomyies) on pourrait envisager d'abandonner le lâcher printanier des auxiliaires (aux conditions climatiques parfois défavorables) pour des insecticides sélectifs, et lâcher les coccinelles sur le deuxième essaimage sans utiliser d'insecticides à la même période. Dans l'éventualité d'expérimentations futures sur le sujet, il serait intéressant de collaborer avec des producteurs possédant des parcelles récemment plantées (buissons de 3 ou 4 ans), de tester l'efficacité de lâchers de *R.lophantae* en foyers (sur le 2^{ème} essaimage seulement) et d'évaluer l'impact que cette méthode aurait sur les années de pleine production des cassissiers.

AFIDEM, 2018. Présentation de la filière Française du Cassis. *6th International Blackcurrant Association Congress*. Angers. juin 2018.

ANSES, 2017. Calypso. *e-phy.anses.fr* [en ligne]. 28 juin 2017. [Consulté le 16 août 2018]. Disponible à l'adresse : <https://ephy.anses.fr/ppp/calypso-0>

ANSES, 2018a. Produits autorisés en traitement des cochenilles sur les parties aériennes de cassissiers par usagers professionnels. *e-phy.anses.fr* [en ligne]. 7 février 2018. [Consulté le 16 août 2018]. Disponible à l'adresse : https://ephy.anses.fr/resultats_recherche/ppp?search_api_aggregation_3=Cassissier%2ATrt%20Part.Aer.%2ACochenilles&sort_by=search_api_aggregation_4&sort_order=ASC&f%5B0%5D=field_intrant%253Afield_etat_produit%3A10&f%5B1%5D=field_intrant%253Afield_gamme_usage%253Afield_libelle%3AProfessionnel

ANSES, 2018b. Reldan 2M. *e-phy.anses.fr* [en ligne]. 7 février 2018. [Consulté le 8 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <https://ephy.anses.fr/ppp/reldan-2m>

ANSES, 2018c. Polithiol. *e-phy.anses.fr* [en ligne]. 30 avril 2018. [Consulté le 8 juin 2018]. Disponible à l'adresse : <https://ephy.anses.fr/ppp/polithiol>

BAGGIOLINI, M, GUIGNARD, E. et BLOESCH, B., 1993. Foyers de cochenille du mûrier, *Pseudaulacaspis pentagona* Targ. (Homoptera, Diaspididae), observés dans la région de la Côte Lémanique. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture*. 1993. Vol. 25, pp. 161-165.

BALACHOWSKY, Alfred Serge, 1951. La lutte contre les insectes : principes, méthodes, applications. 1951. pp. 204-205.

BALL, Joe C., 1980. Development and Fecundity of the White Peach Scale at Two Constant Temperatures. *The Florida Entomologist*. mars 1980. Vol. 63, n° 1, pp. 188. DOI 10.2307/3494672.

BAYOUMY, M. H., FETYKO, K., TOBIAS, I., KONCZNÉ BENEDICTY, Z., SZITA, é. et KOZÁR, F., 2017. A geographical study on *Pseudaulacaspis pentagona* and its parasitoids in Hungarian highway margins using pheromone traps and molecular markers. *ENTOMOLOGIA HELLENICA*. 1 juin 2017. Vol. 20, n° 1, pp. 17. DOI 10.12681/eh.11505.

BELLOWS, T. S. et MORSE, J. G., 1993. Toxicity of insecticides used in citrus to *Aphytis melinus* (DeBach) (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Rhyzobius lophantae* (Blaisd.) (Coleoptera: Coccinellidae). *The Canadian Entomologist*. 1993. N° 125(06), pp. 987-994.

BÉNASSY, C. et BIANCHI, H., 1957. Incidence des traitements insecticides sur les parasites des Coccides. Action des traitements « d'hiver » contre *Pseudaulacaspis pentagona* Targ., sur son parasite spécifique : *Prospaltella berlese* HOW. *Phytiâtrie-Phytopharmacie*. 1957. N° 6, pp. 135-141.

BÉNASSY, C. et MILAIRE, H., 1970. Les possibilités de lutte intégrée dans le cas de deux Cochenilles nuisibles aux arbres fruitiers. . Mai 1970. Vol. 2, n° 249, pp. 240-246.

BÉNASSY, C., 1958. Etude bio-écologique de *Pseudaulacaspis pentagona* Targ. et de son parasite spécifique *Prospaltella berlese* Howard, en France. . 1958. Vol. IV, pp. 425-495.

BENASSY, C., 1958. *Prospaltella berlese* How.(Hym. aphelinidae) et son efficacité pratique en France vis-a-vis de *Pseudaulacaspis pentagona* Targ.(Hom. diaspidinae). *Entomophaga*. 1958. Vol. 3, n° 1, pp. 67-70.

BÉNASSY, C., BIANCHI, H. et MILAIRE, H., 1962. État actuel des recherches en cours sur la «lutte intégrée» dans le cas des Coccides en France. *BioControl*. 1962. Vol. 7, n° 1, pp. 59–68.

BERLESE, A., 1910. La Diaspis pentagona Targ. *Redia, Florence*. 1910. N° 6, pp. 228-345.

BIONDI, A., DESNEUX, N., SISCARO, G. et ZAPPALÀ, L., 2012. Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*. 2012. N° 87(7), pp. 803-812.

BORKHSENIUS, N.S., 1966. *Catalogue des Cochenilles à bouclier (Diaspididae) de la faune mondiale*. Nauka ed. Leningrad : Académie des Sciences de l'URSS.

BRESSOLIER, A., 2013. Cochenille blanche du mûrier, à la recherche d'un auxiliaire. *L'Arboriculture Fruitière*. 2013. N° 667, pp. 21-23.

BROWN, S. W. et BENETT, F. D., 1957. On sex determination of the diaspine scale *Pseudaulacaspis pentagona* (Targ.)(Coccoidea). *Genetics*. 1957. N° 42(4), pp. 510.

C.A.B INTERNATIONAL, 1988. Distribution of *Pseudaulacaspis pentagona*. . C.A.B International Institute of Entomology. 56 Queen's gate, London SW7 5JR, juin 1988.

CHABRIERE, C., MANDRIN, J.-F., PRUNI, K., KREITER, P., DIJOUX, L., NAVARRO, E. et EYMARD, V., 1997. Trois ravageurs du pêcher. *Info Arbo*. novembre 1997. N° 17.

CIVIDANES, F. J. et GUTIERREZ, A. P., 1996. Modeling the age-specific per capita growth and reproduction of *Rhizobius lophanthae* (Col: Coccinellidae). *Entomophaga*. 1996. Vol. 41, n° 2, pp. 257–266.

CLAUSEN, Curtis P., 1940. *Entomophagous insects*. McGraw Hill Book: London.

CLOUPEAU, Roger, BRUNET, Fabien, VILLE, Arnaud et COCQUEMPOT, Christian, 2008. Les Coccinelles dans le département d'Indre-et-Loire : état de l'inventaire au 31 octobre 2007 (Coleoptera Coccinellidae). *L'Entomologiste n°64*. 2008. pp. 115-124.

CONSOLI, F. L., PARRA, J. R. P. et HASSAN, S. A., 1998. Side effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lep., Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology*. 1998. N° 122(1-5), pp. 43-47.

COSTAGAMA, A. C. et LANDIS, D. A., 2007. Quantifying predation on soybean aphid through direct field observations. *Biological Control*. 2007. N° 42(1), pp. 16-24.

DALSTEIN, M.C., GUIGNEBAULT, P. et KREITER, P., 2016. Management of *Pseudaulacaspis pentagona* in French blackcurrant. *Acta Horticulturae*. mai 2016. N° 1133, pp. 445-450. DOI 10.17660/ActaHortic.2016.1133.68.

DEO, I., 1997. Contribution à l'étude biologique de *Rhizobius lophanthae* (Coleoptera, Coccinellidae) (Blaisdell) en vue de son utilisation en lutte biologique. *Mémoire de Stage de l'Université des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme (Aix Marseille III, France)*. 1997.

ERKILIÇ, L. B. et UYGUN, N., 1997. Development time and fecundity of the white peach scale, *Pseudaulacaspis pentagona*, in Turkey. *Phytoparasitica*. 1997. Vol. 25, n° 1, pp. 9–16.

- ERKILIÇ, L. et UYGUN, N., 1995. Distribution, population fluctuations and natural enemies of the white peach scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni-Tozzetti)(Homoptera: Diaspididae) in the East Mediterranean region of Turkey. *Israel Journal of Entomology*. 1995. Vol. 29, pp. 191–198.
- FERRIS, Gordon Floyd, 1937. *Atlas of scale insects of North America*. Stanford : Stanford University Press. ISBN B0000CIQYK.
- FRANÇOIS, L., 1931. Limites géographiques des régions méridionales françaises. *Annales Agronomiques*. 1931. pp. 195-222.
- FRATANTUONO, Marc, 1988. Les cochenilles : un problème pour le pêcher! *Roussillon Agricole*. 1988. N° 129, pp. 293-295.
- GENTZ, M., MURDOCH, G. et KING, G. F., 2010. Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. *Biological Control*. 2010. N° 52(3), pp. 208-215.
- GORDON, R. D., 1985. The Coccinellidae (Coleoptera) of America north of Mexico. *J. N.Y. Entomol. Soc.* 1985. N° 93, pp. 1-912.
- GOUVRION, J., 2016. La coccinelle *Rhyzobius lophanthae*, agent de biocontrôle pertinent dans la lutte contre la cochenille *Pseudaulacaspis pentagona*? Rapport de stage. Saint-Epain : La Morinière.
- GREATHEAD, D. J., 1973. A review of introductions of *Lindorus lophanthae* (Blaisd.) (Coleoptera, Coccinellidae) against hard scales (Diaspididae). *Technical Bulletin of the Commonwealth Institute of Biological Control*. 1973. N° 16, pp. 29-33.
- GUYOT, Jean et QUILICI, Serge, 1987. Etude bio-écologique de la cochenille diaspine *Pseudaulacaspis pentagona* Targiono-Tozzetti et de ses ennemis naturels à la Réunion. *Fruits*. 1987. Vol. 42, n° 10, pp. 583-592.
- HABIBIAN, A., 1981. Some studies on *Pseudaulacaspis pentagona* Targ. and its newly imported parasite (*Prospaltella berlesei*) in Guilan province. *Entomologie et Phytopathologie appliquées (Iran)*. 1981.
- HAGEN, K. S., 1974. Significance of predaceous Coccinellidae in Biologics and Integrated control of Insects. *Entomophaga Mem. Hors Ser.* 1974. Vol. 7, n° 25, pp. 25-44.
- HANKS, L. M. et DENNO, R. F., 1993. The White Peach Scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni Tozzetti)(Homoptera: Diaspididae): life history in Maryland, host plants, and natural enemies. *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 1993. N° 86, pp. 96-102.
- HODEK, I, 1973. *Biology of Coccinellidae*. Dr. W. The Hague : Junk Publishers.
- HONDA, Jeffrey Y. et LUCK, Robert F., 1995. Scale morphology effects on feeding behavior and biological control potential of *Rhyzobius lophanthae* (Coleoptera: Coccinellidae). *Annals of the entomological society of America*. 1995. Vol. 88, n° 4, pp. 441–450.
- IBA, 2018. Production (IBA) Blackcurrant in Europe and the rest of the world (thousand tons) - average 2011-2016 per year. *6th International Blackcurrant Association Congress*. Diaporama. Angers. juin 2018.

- KAREIVA, P. et ANDERSEN, M., 1993. Interactions between imported predators and their prey in patchy environments. *Evolution of insect pests: Patterns of Variation*. 1993. pp. 243.
- KREITER, P. et MARRO, J. P., 1997. La cochenille du mûrier présente aussi dans la moitié Nord de la France: importants foyers sur arbres d'ornement. *Phytoma - La Défense des Végétaux*. 1997. N° 491.
- KREITER, P. et PANNIS, A., 1998. Inventaire des ennemis naturels de la Cochenille Blanche du Mûrier *Pseudaulacaspis pentagona* (TargioniTozzetti,1886) dans le monde (Homoptera, Diaspididae). *Bulletin de la Société Entomologique de France*. 1998. Vol. 103, n° 3, pp. 263-271.
- KREITER, P., 1997. La cochenille blanche dite « du mûrier » ou « du pêcher » : un insecte polyphage. *Phytoma - La Défense des Végétaux*. 1997. N° 491, pp. 56-58.
- KREITER, P., THAON, M., AUDANT, P., CATIMEL, B., CLISSON, S., LEGADEC, M. et GUIGE, L., 2007. Un auxiliaire du pêcher face au chlorpyrifos-éthyl: Incidence de doses sublétales du chlorpyrifos-éthyl sur *Encarsia berlesei*, parasitoïde de la cochenille *pseudaulacaspis pentagona*. *Phytoma - La Défense des Végétaux*. 2007. N° 601, pp. 17-19.
- KREITER, P., THAON, M., DIJOUX, L. et GUIGE, L., 2006. La cochenille blanche du mûrier sur pêcher. Essais d'utilisation de pièges à phéromones en vergers de pêcheurs pour détecter *Pseudaulacaspis pentagona*. *Phytoma - La Défense des Végétaux*. 2006. N° 590, pp. 28-31.
- KREITER, P., THAON, M., CLISSON, S., LAGADEC, M., DIJOUX, L. et NAVARRO, E., 2002. Une méthode d'élevage et de lâcher d'*Encarsia berlesei* (Howard)(Hymenoptera, Aphelinidae) parasitoïde de *Pseudaulacaspis pentagona* Targioni-Tozzeti (Hemiptera, Diaspididae). *Bulletin mensuel - société Linnéenne de Lyon*. 2002. N° 71(5), pp. 222-228.
- KUITERT, L. C., 1967. Observations on the biology, bionomics, and control of the white peach scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Targ.). *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 1967. Vol. 80, pp. 376-381.
- L'ISERINE, SARL, 2002. La cochenille blanche du mûrier, principal ravageur des cassissiers en Région Rhône-Alpes. *Bull. mens. Soc. linn. Lyon*. 2002. Vol. 71, n° 6, pp. 251-25.
- LEBOULANGER, A., 2010. Lutte biologique contre *Pseudaulacaspis pentagona* Targioni par lâchers Inondatifs de *Rhyzobius lophantae* en Verger. *Rapport d'essais de la station de l'AREFLEC*. 2010.
- LOSEY, John E. et VAUGHAN, Mace, 2006. The economic value of ecological services provided by insects. *AIBS Bulletin*. 2006. Vol. 56, n° 4, pp. 311-323.
- MALAUSA, J.-C., RABASSE, J.-M. et KREITER, P., 2008. Les insectes entomophages d'intérêt agricole acclimatés en France métropolitaine depuis le début du 20ème siècle. *EPPO bulletin*. 2008. Vol. 38, n° 1, pp. 136-146.
- MATHYS, G., 1953. Observations sur la mobilité des larves néonates de *Q. perniciosus* et leur transport par le vent. *Landwirtsch. Jahrb. Schweiz*. 1953. Vol. 2, n° 53, pp. 981-984.
- MONET, Yves, 1989. Les principaux problèmes phytosanitaires du cassissier. *Phytoma - La Défense des Végétaux*. janvier 1989. N° 404, pp. 44-48.
- NICOLAS, J, 1988. Le Pêcher et la cochenille blanche du mûrier en Roussillon. *Roussillon Agricole*. 1988. N° 126, pp. 194-206.

PORTER, J. H. et PARRY, M. L., 1991. The potential effects of climatic change on agricultural insect pests. *Agricultural and Forest Meteorology*. Vol. 57, n° 1, pp. 221-240.

QUAYLE, H. J., 1916. Dispersion of scale insects by the wind. *J. Econ. Entomol.* 1916. Vol. 9, pp. 486-493.

REBOULET, J.-N., 1995. Incidence des produits phytosanitaires sur l'activité et le rôle régulateur des hyménoptères parasitoïdes. . ACTA-Valence. Valence, décembre 1995. pp. 1-8.

REBOULET, J.-N., BASSINO, J.-P., BLANC, M., BONY, D., GENDRIER, J.-P., SEVERIN, F. et TISSEUR, M., 1981. Appréciation de l'effet des pesticides sur la faune auxiliaire. Etat actuel des travaux de méthodologie de plein champ, et premiers résultats. . mai-juin 1981. Vol. 209, pp. 195-218. DOI Déf. Vég.

SCHMUTTERER, Heinrich, 1. Die Ökologie der Cocciden (Homoptera, Coccoidea) Frankens 1 Abschnitt. *Journal of Applied Entomology*. 1. Vol. 33, n° 3, pp. 369-420.

SHARMA, Stefanie, 2018. Blackcurrant Production Statistics. *6th International Blackcurrant Association Congress*. Diaporama. Angers. juin 2018.

SMITH, T. R. et CAVE, R. D., 2006. Pesticide susceptibility of *Cybocephalus nipponicus* and *Rhyzobius lophanthae* (Coleoptera: Cybocephalidae, Coccinellidae). *Florida Entomologist*. 2006. Vol. 89, n° 4, pp. 502-507.

STATHAS, G. J., 2000a. *Rhyzobius lophanthae* prey consumption and fecundity. *Phytoparasitica*. 2000. Vol. 28, n° 3, pp. 203.

STATHAS, G. J., 2000b. The effect of temperature on the development of the predator *Rhyzobius lophanthae* and its phenology in Greece. *BioControl*. 2000. Vol. 45, n° 4, pp. 439–451.

STATHAS, G. J., ELIOPOULOS, P.A, KONTOMIDAS, D.C. et SIAMOS, D. TH., 2002. Adult morphology and life cycle under constant temperatures of the predator *Rhyzobius lophanthae* Blaisdell (Col., Coccinellidae). *Anzeiger für Schädlingskunde*. Blacwell Verlag. Berlin, 2002. pp. 105-109.

STOLLÁR, A., DUNKEL, Z., KOZÁR, F. et DIAA, A.F., 1993. The effects of winter temperature on the migration of insects. . 1993. Vol. 97, n° 2, pp. 113-119.

SUIRE, J., 1948. Remarques sur la Cochenille du mûrier *P.pentagona* Targ. *Actes du VIIIe Congrès Séricole Int. Alès France*. 1948. pp. 725-730.

TRILLOT, Michel, BORE, Jean-Michel, DUPIN, Jean-Philippe et MASSARDIER, Philippe, 2001. *Le Cassis*. Editions Centre Technique Interprofessionnel Fruits et Légumes. ISBN 2-87911-120-X.

VAN DUYN, J. et MURPHEY, M., 1971. Life history and control of white peach scale, *Pseudaulacaspis pentagona* (Homoptera: Coccoidea). *Florida Entomologist*. 1971. pp. 91-95.

VAYSSIÈRE, P., 1918. Existence en France du *Diaspis pentagona* Targ. [Hem. Coccidae]. *Bulletin de la Société entomologique de France*. 27 novembre 1918. pp. 242-243.

WILLIAMS, D. J., 2008. *The study of scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea)*. Coccidology.

YONCE, C. E. et JACKLIN, S. W., 1974. Life history of the white peach scale [*Pseudaulacaspis pentagona*] in central Georgia. *Journal-Georgia Entomological Society (USA)*. 1974.

ZHANG, D. X. et HEWITT, G. M., 1997. Assessment of the universality and utility of a set of conserved mitochondrial COI primers in insects. *Insect Molecular Biology*. 1997. Vol. 6, n° 2, pp. 143-150.

ANNEXE I : CALENDRIERS DE TRAITEMENT DES PRODUCTEURS DE 2016 A 2018

Site 1 : Villevêque – Variété Blackdown

Date de traitement	Parcelle d'introduction	Date de traitement	Parcelle de référence -	Parcelle de référence +
22/03/2016	SOLUBOR 1L/ha ACAKILL 20 L/ha	01/04/16	ACAKILL 15L/ha KARATE ZEON 0,075L/ha DITHANE Neotec 2KG/ha	ACAKILL 15L/ha KARATE ZEON 0,075L/ha DITHANE Neotec 2KG/ha
05/04/2016	SOLUBOR 1L/ha ACAKILL 20 L/ha		25/04/16	DITHANE Neotec 2KG/ha KARATE zéon 0,075 L/ha
13/04/2016	PHOSPHATE MONO 2L/ha SOLUPOTASSE 3L/ha SOLUBOR 1L/ha DITHANE 2L/ha	17/05/16	ALLIAGE 0,2L /ha LICORNE 1 L/ha	ALLIAGE 0,2L /ha LICORNE 1 L/ha
		03/06/16	SIGNUM 1/ha	SIGNUM 1/ha
		14/06/16	ALLIAGE 0,2L /ha LICORNE 1 L/ha	ALLIAGE 0,2L /ha LICORNE 1 L/ha
30/04/2016	SOLUBOR 1L/ha MILCOZEBE 2L/ha	23/06/16	SIGNUM 1/ha	SIGNUM 1/ha
16/05/2016	SIGNUM 0,750 L/ha STARFRUIT 4L/ha	25/07/16	TRIMANOC 2L /ha CUIVROL 3 L/ha	TRIMANOC 2L /ha CUIVROL 3 L/ha
27/05/2016	ALLIAGE 0,2 L/ha LICORNE 1,7 L/ha STARFRUIT 4L/ha	?		RELDAN 2M 2,2Kg/ha
17/06/2016	SOLUPOTASSE 5 L/ha ALLIAGE 0,2 L/ha	23-mars	huile 13L/ha KARATE zéon 0,075 L/ha	huile 13L KARATE zéon 0,075 L/ha
		29/03/17	DITHANE Neotec 2KG/ha KARATE zéon 0,075 L/ha	DITHANE Neotec 2KG/ha KARATE zéon 0,075 L/ha
18/07/2016	LICORNE 1,7 L/ha KARVA 2 L/ha	04/05/17	Signum 1L/ha	Signum 1L/ha
		16/05/17	Signum 1L/ha	Signum 1L/ha
24/08/2016	MILCOZEBE 2 L/ha CUIVROL 1,5 L/ha OVIPHYT 20 L/ha	19/05/17	Calypso 0,25L/ha	Calypso 0,25L/ha
		31/05/17	Alliage 0,2+licorne 1L/ha	Alliage 0,2+licorne 1L/ha
		?		RELDAN 2M 2,2Kg/ha
16/03/2017	DITHANE Neotec 2KG/ha			
23/03/2017	Oviphit 20L/ha			
05/04/17	Milcozèbe 2kg/ha			
	Oviphit 15L/ha			
28/04/17	DITHANE Neotec 2KG/ha Signum 0,75			
17/05/17	Alliage 0,2 kg/ha + Systhane new 1L/ha			
01/08/17	DITHANE Neotec 2KG/ha cuivrol 3L/ha			
05/04/2018	Oviphyt 20L/ha			
	Dithane Neotec 2 kg/ha			
06/04/2018	Barclay Tartan Super 360			
	1,25 L/ha			
16/04/2018	Milcozebe 2kg/ha			
09/05/2018	Alliage 0,2kg/ha			
31/05/2018	Signum 0,75kg/ha			
	Systhane Flex 2,40L/ha			
08/06/2018	Signum 0,75kg/ha			
03/08/2018	Reldan 2M			

Site 2 : Villevêque – Variété Noir de Bourgogne

Date de traitement	Parcelle d'introduction	Date de traitement	Parcelle de référence+	Parcelle de référence -
01/04/16	ACAKILL 15L/ha DITHANE 2 Kg/ha	22/03/2016	SOLUBOR 1L/ha ACAKILL 20 L/ha KARATE 0,075 L/ha	SOLUBOR 1L/ha ACAKILL 20 L/ha KARATE 0,075 L/ha
10/05/16	ALLIAGE 0,2/ha LICORNE 1L/ha			
03/06/16	SIGNUM 1L/ha	05/04/2016	SOLUBOR 1L/ha ACAKILL 20 L/ha	SOLUBOR 1L/ha ACAKILL 20 L/ha
14/06/16	ALLIAGE 0,2/ha LICORNE 1L/ha	13/04/2016	KARATE 0,150 L/ha PHOSPHATE MONO 2L/ha SOLUPOTASSE 3L/ha SOLUBOR 1L/ha ACAKILL 10L/ha DITHANE 2L/ha	KARATE 0,150 L/ha PHOSPHATE MONO 2L/ha SOLUPOTASSE 3L/ha SOLUBOR 1L/ha ACAKILL 10L/ha DITHANE 2L/ha
25/07/16	TRIMANOC 2L/ha CUIVROL 3L/ha			
05/04/2017	Milcozebe 2KG/ha			
28/04/17	Dithane Néotec 2 kg/ha+ Signum0,75 kg/ha			
17/05/17	Systhane Nex 1 + Alliage 0,2kg/ha	30/04/2016	SULFATE DE MAGNESIE 5L/ha SOLUPOTASSE 3L/ha SOLUBOR 1L/ha MILCOZEBE 2L/ha	SULFATE DE MAGNESIE 5L/ha SOLUPOTASSE 3L/ha SOLUBOR 1L/ha MILCOZEBE 2L/ha
01/08/17	dithane1,8L/ha + cuivrol			
		16/05/2016	SIGNUM 0,750 L/ha STARFRUIT 4L/ha	SIGNUM 0,750 L/ha STARFRUIT 4L/ha
		27/05/2016	ALLIAGE 0,2 L/ha LICORNE 1,7 L/ha	ALLIAGE 0,2 L/ha LICORNE 1,7 L/ha
		17/06/2016	ALLIAGE 0,2 L/ha	ALLIAGE 0,2 L/ha
		18/07/2016	LICORNE 1,7 L/ha KARVA 2 L/ha	LICORNE 1,7 L/ha KARVA 2 L/ha
		24/08/2016	MILCOZEBE 2 L/ha CUIVROL 1,5 L/ha EXAQ 2M 2,2 L/ha OVIPHYT 20 L/ha	MILCOZEBE 2 L/ha CUIVROL 1,5 L/ha OVIPHYT 20 L/ha
		16/03/2017	DITHANE Neotec 2KG/ha	DITHANE Neotec 2KG/ha
		23/03/2017	Oviphit 20L/ha	Oviphit 20L/ha
		05/04/17	Milcozébe 2kg/ha	Milcozébe 2kg/ha
			Oviphit 15L	Oviphit 15L
		28/04/17	DITHANE Neotec 2KG/ha Signum 0,75 kg/ha	DITHANE Neotec 2KG/ha Signum 0,75 kg/ha
		17/05/17	Alliage 0,2+ Systhane new 1	Alliage 0,2+ Systhane new 1
		31/05/17	Alliage 0,2kg/ha + Licorne 1L/ha	Alliage 0,2kg/ha + Licorne 1L/ha
		05/04/2018	Oviphyt 20L/ha	Oviphyt 20L/ha
			Dithane Neotec 2 kg/ha	Dithane Neotec 2 kg/ha
			Lambdastar 0,075L/ha	Lambdastar 0,075L/ha
		06/04/2018	Barclay Tartan Super 360 1,25 L/ha	Barclay Tartan Super 360 1,25 L/ha
		16/04/2018	Milcozebe 2kg/ha	Milcozebe 2kg/ha
			Lambdastar 0,075L/ha	Lambdastar 0,075L/ha
			Oviphyt 20L/ha	Oviphyt 20L/ha
		07/05/2018	Nimrod 1,5L/ha	Nimrod 1,5L/ha
			Lambdastar 0,075L/ha	Lambdastar 0,075L/ha
		09/05/2018	Alliage 0,2kg/ha	Alliage 0,2kg/ha
			Signum 0,75kg/ha	Signum 0,75kg/ha
		31/05/2018	Signum 0,75kg/ha	Signum 0,75kg/ha
			Systhane Flex 2,40L/ha	Systhane Flex 2,40L/ha
			Calypso 0,25L/ha	Calypso 0,25L/ha
		08/06/2018	Signum 0,75kg/ha	Signum 0,75kg/ha
		03/08/2018	Reldan 2M	Reldan 2M

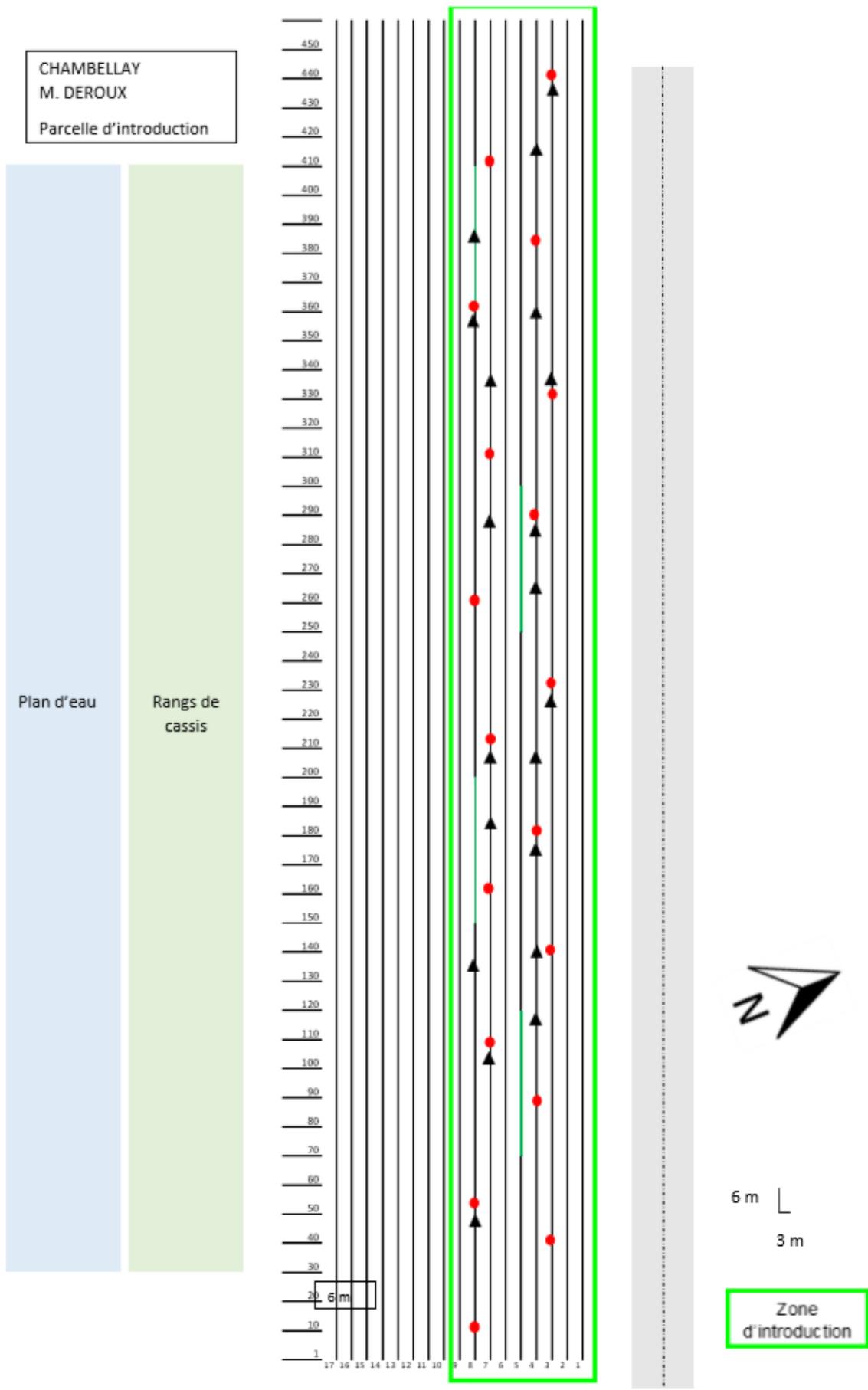
Site 3 : Chambellay – Variété Noir de Bourgogne

Date de traitement	Parcelle d'introduction	Parcelle de référence +	Parcelle de référence -
25/04/2016	DITHANE 2L/ha Huile blanche 20L/ha AQUAFERT4L/ha	DITHANE 2L/ha Huile blanche 20L/ha AQUAFERT4L/ha KARATE 0,075L/ha	DITHANE 2L/ha Huile blanche 20L/ha AQUAFERT4L/ha KARATE 0,075L/ha
23/05/2016	SIGNUM 1L/ha AQUAFERT 4L/ha	Movento 0,75 L/ha SIGNUM 1L/ha AQUAFERT 4L/ha	SIGNUM 1L/ha AQUAFERT 4L/ha
23/06/2016	ALLIAGE 1L/ha DELAN 0,5L/ha	ALLIAGE 1L/ha DELAN 0,5L/ha	ALLIAGE 1L/ha DELAN 0,5L/ha
30/08/2016		RELDAN 2,2 L/ha	
12/04/2017	DITHANE 2L/ha AQUAFERT4L/ha(engrais)	DITHANE 2L/ha AQUAFERT4L/ha KARis 0,075L/ha	DITHANE 2L/ha AQUAFERT4L/ha
28/04/2017	SIGNUM 1L/ha AQUAFERT 4L/ha	Karis 0,075 L/ha SIGNUM 1L/ha AQUAFERT 4L/ha	SIGNUM 1L/ha AQUAFERT 4L/ha
15/05/2017	ALLIAGE 1L/ha Licorne 1L/ha	ALLIAGE 1L/ha LICORNE 1L/ha	ALLIAGE 1L/ha LICORNE 1L/ha
16/04/2018	Dithane Néotec 2kg/ha AQUAFERT 4kg/ha	Dithane Néotec 2kg/ha AQUAFERT 4kg/ha	Dithane Néotec 2kg/ha AQUAFERT 4kg/ha
		Karis 0,075L/ha Oviphyt 15 L/ha	Karis 0,075L/ha Oviphyt 15 L/ha
03/05/2018	Signum 1kg/ha Aquafer 4 kg/ha	Signum 1kg/ha Aquafer 4 kg/ha	Signum 1kg/ha Aquafer 4 kg/ha
		Karis 0,075L/ha	Karis 0,075L/ha
11/05/2018		Calypso 0,25 L/ha	Calypso 0,25 L/ha
22/05/2018	Alliage 0,2 kg/ha Aquafer 4 kg/ha Cuivrol 1 kg/ha	Alliage 0,2 kg/ha Aquafer 4 kg/ha Cuivrol 1 kg/ha	Alliage 0,2 kg/ha Aquafer 4 kg/ha Cuivrol 1 kg/ha
13/08/2018		Exaq 2L/ha	Exaq 2L/ha

Site 4 : Thorée-les-Pins – Variété Noir de Bourgogne

Date de traitement	Parcelle d'introduction	Parcelle de référence
04/04/2016	DITHANE 2L/ha SYSTANE NEW 1,66L/ha	DITHANE 2L/ha SYSTANE NEW 1,66L/ha KARATE zeon 0,11L/ha
14/04/2016	DITHANE 1 L/ha SYSTANE NEW 0,83 L/ha AQUAFER 1,5	DITHANE 1 L/ha SYSTANE NEW 0,83 L/ha AQUAFER 1,5
27/04/2016	DITHANE 1 L/ha SYSTANE NEW 0,83 L/ha AQUAFER 1,5 L/ha	DITHANE 1 L/ha SYSTANE NEW 0,83 L/ha AQUAFER 1,5 L/ha
07/05/2016	DELAN 0,7 L/ha	DELAN 0,7 L/ha
11/05/2016	SYSTANE NEW 1,66L/ha AQUAFER 3L/ha	SYSTANE NEW 1,66L/ha KARATE zeon 0,11L/ha AQUAFER 3L/ha
24/05/2016	ALLIAGE 0,2 ha/L AQUAFERT 3L /ha	ALLIAGE 0,2 ha/L AQUAFERT 3L /ha
01/06/2016	ALLIAGE 0,2 ha/L	ALLIAGE 0,2 ha/L
15/06/2016	SIGNUM 1L/ha	SIGNUM 1L/ha
30/03/2017	DITHANE 2L/ha	DITHANE 2L/ha KARATE zeon 0,11L/ha
01/04/2017		Karaté Zéon 0,15 kg/ha
21/04/2017	DITHANE 2L/ha + Systhane New 1,66L/ha	DITHANE 2L/ha + Systhane New 1,66L/ha
09/05/2017	ALLIAGE 0,2 + Systhane New 1,66	ALLIAGE 0,2 + Systhane New1,66 + Lamdastar 0,075
06/06/2017	Alliage 0,2 kg/ha	Alliage 0,2 kg/ha
28/02/2018	Basta F1 5L/ha	Basta F1 5L/ha
04/04/2018	Dithane Neotec 2L/ha Systhane New 1,66L/ha	Dithane Neotec 2L/ha Systhane New 1,66L/ha
16/04/2018	Dithane Neotec 2L/ha	Dithane Neotec 2L/ha Lamdastar 0,075L/ha
18/04/2018	Systhane New 1,66L/ha	Systhane New 1,66L/ha
26/04/2018	Dithane Neotec 2L/ha	Dithane Neotec 2L/ha
30/04/2018	Systhane New 1,66L/ha	Systhane New 1,66L/ha
04/05/2018	Basta F1 5L/ha	Basta F1 5L/ha
09/05/2018	Alliage 0,2 kg/ha	Alliage 0,2 kg/ha
	Dithane Neotec 2L/ha	Dithane Neotec 2L/ha Karate Zeon 0,15 kg/ha
22/05/2018	Alliage 0,2 kg/ha	Alliage 0,2 kg/ha
		Lamdastar 0,075L/ha
01/06/2018	Signum 1 kg/ha	Signum 1 kg/ha
08/06/2018	Signum 1 kg/ha	Signum 1 kg/ha

ANNEXE II : EXEMPLE DE PLAN DE PARCELLE D'EXPERIMENTATION



ANNEXE III : RECAPITULATION DES ACTIONS DE 2016 A 2018

Date	Action
mars-16	Evaluation visuelle de l'infestation des parcelles
avr-16	Prélèvement de rameaux infestés pour analyse de densité de cochenilles
20/04/2016	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
04/05/2016	Lâcher de <i>R.lophantae</i> dans les parcelles d'Introduction
08/06/2016	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
juil-16	Prélèvement de rameaux infestés pour analyse de densité de cochenilles
04/07/2016	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
27/07/2016	Lâcher de <i>R.lophantae</i> dans les parcelles d'Introduction
04/08/2016	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
24/08/2016	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
oct-16	Prélèvement de rameaux infestés pour analyse de densité de cochenilles
janv-17	Prélèvement de rameaux infestés pour analyse de densité de cochenilles
mars-17	Evaluation visuelle de l'infestation des parcelles
17/03/2017	Prélèvement de rameaux infestés pour analyse de densité de cochenilles
29/03/2017	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
27/04/2017	Lâcher de <i>R.lophantae</i> dans les parcelles d'Introduction
22/05/2017	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
21/06/2017	Prélèvement de rameaux infestés pour analyse de densité de cochenilles
20/07/2017	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
27/07/2017	Lâcher de <i>R.lophantae</i> dans les parcelles d'Introduction
08/08/2017	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
13/03/2018	Evaluation visuelle de l'infestation des parcelles
21/03/2018	Prélèvement de rameaux infestés pour analyse de densité de cochenilles
24/04/2018	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
24/04/2018	Lâchers de <i>Rhyzobius</i> en parcelles d'Introduction
25/04/2018	Lâcher de <i>R.lophantae</i> dans les parcelles d'Introduction
24/05/2018	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
03/07/2018	Prélèvement de rameaux infestés pour analyse de densité de cochenilles
03/07/2018	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
26/07/2018	Lâcher de <i>R.lophantae</i> dans les parcelles d'Introduction
08/08/2018	Frappages de buissons pour le suivi de <i>R.lophantae</i>
sept-18	Prélèvement de rameaux infestés pour analyse de densité de cochenilles

ANNEXE IV : MODELES STATISTIQUES UTILISES DANS CE RAPPORT

Densité de cochenilles vivantes

Call:

```
glm(formula = round(sqrt(d_en), 0) ~ site + temps + moda + site:temps,
     family = poisson(), data = densite)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-4.0416	-1.1107	-0.2053	0.6180	6.4465

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	1.87611	0.06660	28.170	< 2e-16 ***
site[T.site_2]	-0.02188	0.09356	-0.234	0.815074
site[T.site_3]	0.50822	0.08327	6.104	1.04e-09 ***
site[T.site_4]	0.61437	0.08168	7.522	5.39e-14 ***
temps[T.B]	0.48184	0.08368	5.758	8.52e-09 ***
temps[T.C]	-0.20791	0.08883	-2.340	0.019261 *
temps[T.D]	-0.66630	0.09945	-6.700	2.08e-11 ***
temps[T.E]	-0.65013	0.09901	-6.566	5.16e-11 ***
temps[T.F]	-1.78689	0.14531	-12.297	< 2e-16 ***
temps[T.G]	0.09512	0.08363	1.137	0.255374
temps[T.H]	0.16769	0.08308	2.018	0.043552 *
moda[T.2_intro]	-0.26229	0.02374	-11.050	< 2e-16 ***
moda[T.3_ref+]	-0.02567	0.03298	-0.778	0.436343
site[T.site_2]:temps[T.B]	-0.07343	0.11987	-0.613	0.540167
site[T.site_3]:temps[T.B]	0.03832	0.10562	0.363	0.716747
site[T.site_4]:temps[T.B]	-0.21247	0.10552	-2.014	0.044046 *
site[T.site_2]:temps[T.C]	-0.06794	0.12629	-0.538	0.590581
site[T.site_3]:temps[T.C]	-0.30381	0.11476	-2.647	0.008114 **
site[T.site_4]:temps[T.C]	-0.18244	0.11702	-1.559	0.118975
site[T.site_2]:temps[T.D]	0.17291	0.14226	1.215	0.224214
site[T.site_3]:temps[T.D]	-0.24670	0.12865	-1.918	0.055173 .
site[T.site_4]:temps[T.D]	-0.34706	0.13669	-2.539	0.011115 *
site[T.site_2]:temps[T.E]	-0.30825	0.14867	-2.073	0.038141 *
site[T.site_3]:temps[T.E]	-0.42263	0.13146	-3.215	0.001305 **
site[T.site_4]:temps[T.E]	0.01258	0.13259	0.095	0.924436
site[T.site_2]:temps[T.F]	0.16164	0.19976	0.809	0.418414
site[T.site_3]:temps[T.F]	-0.81838	0.21522	-3.803	0.000143 ***
site[T.site_4]:temps[T.F]	0.79955	0.16579	4.823	1.42e-06 ***
site[T.site_2]:temps[T.G]	0.33860	0.11598	2.920	0.003505 **
site[T.site_3]:temps[T.G]	-0.88752	0.12362	-7.180	6.99e-13 ***
site[T.site_4]:temps[T.G]	-0.99779	0.11418	-8.739	< 2e-16 ***
site[T.site_2]:temps[T.H]	0.16759	0.11554	1.450	0.146930
site[T.site_3]:temps[T.H]	-0.98291	0.11827	-8.311	< 2e-16 ***
site[T.site_4]:temps[T.H]	-0.53909	0.10689	-5.043	4.57e-07 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 6473.6 on 1621 degrees of freedom
 Residual deviance: 3250.4 on 1588 degrees of freedom
 (78 observations deleted due to missingness)

AIC: 8302.9

Number of Fisher Scoring iterations: 5

Part de buissons sains

Call: glm(formula = cbind(nb0, (nb1 + nb2 + nb3)) ~ site * moda * date, family = binomial(), data = infestation)

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-4.1404	-0.8453	0.0000	0.8008	3.7318

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	1.94591	0.21381	9.101	< 2e-16 ***
sitesite_2	-1.98592	0.25636	-7.746	9.45e-15 ***
sitesite_3	-1.37055	0.25965	-5.279	1.30e-07 ***
sitesite_4	-0.79323	0.27042	-2.933	0.003353 **
moda2_intro	-0.92577	0.26718	-3.465	0.000530 ***
moda3_ref+	-0.84730	0.26904	-3.149	0.001636 **
datemars-17	-0.49590	0.27965	-1.773	0.076179 .
datemars-18	-1.64363	0.25724	-6.389	1.67e-10 ***
sitesite_2:moda2_intro	1.10600	0.33390	3.312	0.000925 ***
sitesite_3:moda2_intro	0.06855	0.33688	0.203	0.838745
sitesite_4:moda2_intro	0.98140	0.35641	2.754	0.005895 **
sitesite_2:moda3_ref+	0.70681	0.33549	2.107	0.035133 *
sitesite_3:moda3_ref+	0.95759	0.34136	2.805	0.005028 **
sitesite_4:moda3_ref+	0.79323	0.35561	2.231	0.025707 *
sitesite_2:datemars-17	1.80157	0.35686	5.048	4.45e-07 ***
sitesite_3:datemars-17	0.91516	0.35394	2.586	0.009720 **
sitesite_4:datemars-17	0.38919	0.36277	1.073	0.283350
sitesite_2:datemars-18	1.42215	0.32638	4.357	1.32e-05 ***
sitesite_3:datemars-18	4.24632	0.46700	9.093	< 2e-16 ***
sitesite_4:datemars-18	-0.26282	0.34142	-0.770	0.441419
moda2_intro:datemars-17	0.86205	0.36759	2.345	0.019020 *
moda3_ref+:datemars-17	0.69233	0.36674	1.888	0.059049 .
moda2_intro:datemars-18	2.13984	0.35457	6.035	1.59e-09 ***
moda3_ref+:datemars-18	1.27590	0.34005	3.752	0.000175 ***
sitesite_2:moda2_intro:datemars-17	1.16814	0.61334	1.905	0.056838 .
sitesite_3:moda2_intro:datemars-17	0.20885	0.48044	0.435	0.663777
sitesite_4:moda2_intro:datemars-17	-0.06270	0.51085	-0.123	0.902323
sitesite_2:moda3_ref+:datemars-17	-1.19848	0.47516	-2.522	0.011661 **
sitesite_3:moda3_ref+:datemars-17	-0.58894	0.48191	-1.222	0.221677
sitesite_4:moda3_ref+:datemars-17	-0.73977	0.48925	-1.512	0.130518
sitesite_2:moda2_intro:datemars-18	-0.23643	0.47874	-0.494	0.621403
sitesite_3:moda2_intro:datemars-18	-0.27608	0.79777	-0.346	0.729290
sitesite_4:moda2_intro:datemars-18	-0.66485	0.47699	-1.394	0.163361
sitesite_2:moda3_ref+:datemars-18	-1.44931	0.44480	-3.258	0.001121 **
sitesite_3:moda3_ref+:datemars-18	-3.23933	0.56580	-5.725	1.03e-08 ***
sitesite_4:moda3_ref+:datemars-18	-1.04788	0.46365	-2.260	0.023818 *

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 1346.98 on 143 degrees of freedom
 Residual deviance: 286.02 on 108 degrees of freedom
 AIC: 911.22

Number of Fisher Scoring iterations: 5

Part de buissons faiblement infestés sur totaux infestés

Call: glm(formula = cbind(nb1, (nb2 + nb3)) ~ site + moda + date + site:moda + site:date, family = binomial(), data = infestation)

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-3.2493	-0.8061	0.0611	0.9196	3.0167

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	0.20732	0.24939	0.831	0.405795
site[T.site_2]	-0.36364	0.29649	-1.226	0.220019
site[T.site_3]	-0.79490	0.32441	-2.450	0.014276 *
site[T.site_4]	-1.42511	0.33645	-4.236	0.0000228 ***
moda[T.2_intro]	0.74964	0.26253	2.855	0.004298 **
moda[T.3_ref+]	-0.13403	0.23248	-0.577	0.564250
date[T.mars-17]	-0.24962	0.26311	-0.949	0.342749
date[T.mars-18]	-0.01327	0.24551	-0.054	0.956886
site[T.site_2]:moda[T.2_intro]	0.55492	0.36733	1.511	0.130867
site[T.site_3]:moda[T.2_intro]	-1.30056	0.37034	-3.512	0.000445 ***
site[T.site_4]:moda[T.2_intro]	0.04566	0.34692	0.132	0.895277
site[T.site_2]:moda[T.3_ref+]	-0.01012	0.28816	-0.035	0.971987
site[T.site_3]:moda[T.3_ref+]	0.04807	0.35018	0.137	0.890810
site[T.site_4]:moda[T.3_ref+]	0.18019	0.30174	0.597	0.550380
site[T.site_2]:date[T.mars-17]	0.56911	0.34753	1.638	0.101505
site[T.site_3]:date[T.mars-17]	0.15209	0.35007	0.434	0.663947
site[T.site_4]:date[T.mars-17]	1.23631	0.36963	3.345	0.000824 ***
site[T.site_2]:date[T.mars-18]	0.47955	0.30441	1.575	0.115172
site[T.site_3]:date[T.mars-18]	1.82729	0.44202	4.134	0.0000357 ***
site[T.site_4]:date[T.mars-18]	0.93574	0.33128	2.825	0.004733 **

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)

Null deviance: 409.05 on 139 degrees of freedom
 Residual deviance: 208.85 on 120 degrees of freedom
 AIC: 629.1

Number of Fisher Scoring iterations: 4

ANNEXE V : TABLE DES CYCLES DE *PSEUDAULACASPIS PENTAGONA*

1er cycle 2016	
Début des pontes	04/05/16
1ers essaimage	28/05/16
Fin du 1er essaimage	17/06/16
2ème cycle 2016	
Début des pontes	08/08/16
1ers essaimage	22/08/16
Fin du 1er essaimage	31/08/16
1er cycle 2017	
Début des pontes	24/04/2017
1ers essaimage	19/05/2017
Fin du 1er essaimage	02/06/2017
2ème cycle 2017	
Début des pontes	20/07/2017
2ere essaimage	03/08/2017
Fin du 2eme essaimage	21/08/2017
1er cycle 2018	
Début des pontes	25/04/2018
1ers essaimage	22/05/2018
Fin du 1er essaimage	04/06/2018
2ème cycle 2018	
Début des pontes	20/07/2018
2ere essaimage	31/07/2018
Fin du 2eme essaimage	10/08/2018



Diplôme : Ingénieur
Spécialité : Horticulture
Spécialisation / option : Protection des Plantes et Environnement en Horticulture
Enseignant référent : Bruno JALOUX

Auteur(s) : Simon DAUFFOUIS
Date de naissance* : 12/12/1995

Organisme d'accueil : La Morinière
Adresse : Station d'Expérimentation Fruitière
La Morinière - 37800 Saint-Epain
Maîtres de stage : Philippe GUIGNEBAULT
Nicolas RIS

Nb pages : 35 Annexe(s) : 5

Année de soutenance : 2018

Projet RhizoDia : essais en protection du cassis par *Rhyzobius lophantae* contre la cochenille blanche du mûrier.
RhizoDia project: trials in blackcurrant protection by *Rhyzobius lophantae* against the white peach scale.

Résumé : La culture de cassis en France représente une surface faible (2500 hectares), mais qui alimente toute une filière basée majoritairement sur la transformation. Depuis les années 2000, tous les bassins de production de cassis en France sont infestés par *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni Tozzetti 1886), une cochenille diaspine très polyphage à la répartition cosmopolite. Son impact sur le cassisier est important, au point de menacer toute la filière. Face à l'inefficacité des traitements chimiques actuels, le projet RhizoDia a été mis en place en 2016, afin de trouver une alternative viable à ces pesticides. Les acteurs impliqués dans ce projet comprennent la station expérimentale de La Morinière, l'Institut Agrobiotech (INRA PACA), le CTIFL, l'entreprise Koppert et la Chambre d'Agriculture de Bourgogne. La Coccinellidae *Rhyzobius lophantae* (Blaisdell 1892) a été retenue pour être testée en tant qu'auxiliaire dans le cadre d'essais en lutte biologique. De 2016 à 2018, des essais et des mesures ont été réalisés dans les parcelles de 4 producteurs pour mesurer l'efficacité de prédation de *R. lophantae* sur *P. pentagona*. Les données cumulées des 3 ans d'expérimentation révèlent que les lâchers de *R. lophantae* assainissent les parcelles infestées plus efficacement que les traitements utilisant du chlorpyrifos-méthyl. Il a aussi été constaté que cette Coccinellidae est hautement mobile et quitte les parcelles ne présentant pas suffisamment de proies. Certains aspects son écologie restent à éclaircir. En 2018, les méthodes employées pour ce projet ne peuvent directement être appliquées chez les producteurs, principalement à cause du coût financier des lâchers. Des pistes présentées ici permettront d'utiliser *R. lophantae* de façon abordable dans un futur proche, ou de lancer d'autres expérimentations plus pratiques.

Abstract: Blackcurrant cultivation represents a small surface in France (2500 hectares), but it sustains a whole sector mainly based on transformation. Since the years 2000, all the French production areas are infested by *Pseudaulacaspis pentagona* (Targioni Tozzeti 1886), a very polyphagous, widely distributed diaspid scale. It's damages on blackcurrant bushes are important, to the point of threatening the whole sector. Confronted with the ineffectiveness of the current chemical treatments, the RhizoDia project was set up in 2016 to find a viable alternative to these pesticides. The actors involved include the experimental station of La Morinière, the Koppert company, the Agrobiotech Institute (INRA PACA) and the Bourgogne Chamber of Agriculture. The Coccinellidae *Rhyzobius lophantae* (Blaisdell 1892) was selected as a natural enemy to take part into biological control trials. From 2016 to 2018, trials and measurements were conducted in experimental plots owned by 4 growers, to assess the efficiency of the predation of *R. lophantae* on *P. pentagona*. The compiled data reveal that the releases of *R. lophantae* clean up the infested plots better that the treatments using Chlorpyrifos-methyl. It was also observed that this Coccinellidae is highly mobile, and leaves the plots that don't host enough preys. Some aspects of its ecology are still to clarify. In 2018, the methods used for this project can't be applied by the growers, mainly because of the financial cost of the releases. Leads presented in this report will allow to use *R. lophantae* in an affordable way in a near future, or to launch other (more practical) experimentations.

Mots-clés : cassis, *Rhyzobius lophantae*, *Pseudaulacaspis pentagona*, lutte biologique, Val de Loire.
Key Words: blackcurrant, *Rhyzobius lophantae*, *Pseudaulacaspis pentagona*, biological control, Loire Valley.