

## Mémoire de stage

Présenté pour l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome, option Inter-Etablissement  
Protection des Plantes et Environnement

### Sur le thème

Succès attendu d'un programme de lutte biologique contre *Drosophila  
suzukii* – effets du polymorphisme au sein du système hôte - parasitoïde

Par

**Benjamin Dubois**

Ecole de rattachement : Institut Agro Rennes Angers

Stage réalisé à : l'INRAE Agrobiotech

400 Route des Chappes,

BP 167

06903 Sophia Antipolis

Sous la direction de : Xavier Fauvergue

Nicolas Ris

Nicolas Borowiec

Yannick Outreman

Soutenu le 26 septembre 2023 à Montpellier, devant le jury composé de :

Président : Frédéric Marion-Poll

Membres : Manuel Plantegenest

Benjamin Gard



## Engagement de non plagiat

---

### Engagement de non plagiat

---

- **Principes**

- Le plagiat se définit comme l'action d'un individu qui présente comme sien ce qu'il a pris à autrui.
- Le plagiat de tout ou parties de documents existants constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée
- Le plagiat concerne entre autres : des phrases, une partie d'un document, des données, des tableaux, des graphiques, des images et illustrations.
- Le plagiat se situe plus particulièrement à deux niveaux : Ne pas citer la provenance du texte que l'on utilise, ce qui revient à le faire passer pour sien de manière passive. Recopier quasi intégralement un texte ou une partie de texte, sans véritable contribution personnelle, même si la source est citée.

- **Consignes**

- Il est rappelé que la rédaction fait partie du travail de création d'un rapport ou d'un mémoire, en conséquence lorsque l'auteur s'appuie sur un document existant, il ne doit pas recopier les parties l'intéressant mais il doit les synthétiser, les rédiger à sa façon dans son propre texte.
- Vous devez systématiquement et correctement citer les sources des textes, parties de textes, images et autres informations reprises sur d'autres documents, trouvés sur quelque support que ce soit, papier ou numérique en particulier sur internet.
- Vous êtes autorisés à reprendre d'un autre document de très courts passages *in extenso*, mais à la stricte condition de les faire figurer entièrement entre guillemets et lien sûr d'en citer la source.

- **Sanction**

En cas de manquement à ces consignes, la DEVE/le correcteur se réservent le droit d'exiger la réécriture du document sans préjuger d'éventuelles sanctions disciplinaires.

Engagement :

Je soussigné

Benjamin Dubois

Reconnaît avoir lu et m'engage à respecter les consignes de non plagiat

A ROUEZ le 13/09/23



## Fiche de confidentialité et d'autorisation de diffusion du mémoire

### 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) :  
(ou de l'étudiant-entrepreneur)



Xavier Fauvergue, le 14/09/2023

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) Dubois Benjamin

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 :

Le 14/09/2023, Benjamin Dubois



### 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 l'équipe RDLB pour m'avoir accueilli pendant six mois dans ses locaux. Je remercie Xavier Fauvergue, Nicolas Borowiec, Nicolas Ris et Yannick Outreman pour m'avoir aidé à concevoir mes expériences, pour leurs conseils avisés et pour avoir relu mon rapport. Je remercie Laurence Mouton qui m'a transmis la souche aposymbiotique de *Drosophila suzukii*. Merci également à Jean-Luc Gatti pour avoir partagé ses connaissances sur *Wolbachia* et *Ganapis brasiliensis*. Merci à Alexandra, avec qui j'ai pu échanger sur les méthodes d'élevage des drosophiles. Merci à Sylvie de m'avoir accueilli pendant une semaine dans le laboratoire de biologie moléculaire. Enfin, merci à Mélanie, chère collègue de la team « milieu drosophile ». Je remercie encore toute l'équipe pour m'avoir aidé à mettre en place ma première expérience.

Par ailleurs, la vie de stagiaire a été facilitée par l'ambiance de l'enclos des stagiaires, rythmée par l'air mélodieux du « I love you baby » et du ponctuel « on va manger ». Comment remercier Maxime, Quentin, Elodie, Mélanie, Sophie, Safa, les deux Emma pour l'ambiance apportée dans l'enclos ! Ce fut également un plaisir de discuter avec Géraldine et Karolina, passant régulièrement dans l'enclos aux stagiaires. Ce moment à Antibes fût également plaisant en compagnie des personnes de la collocation. De très bons moments furent partagés avec Claire, Jade, Mateus, Taha, Martin, Kika, Aurélie. C'est avec plaisir de vous recroiser.

## Table des matières

Liste des abréviations .....	6
Introduction .....	7
Avant-propos .....	7
Etat de l'art des connaissances scientifiques .....	7
1. <i>Drosophila suzukii</i> , un ravageur pour la filière fruits rouges .....	7
1.1. Biologie et origine de <i>Drosophila suzukii</i> .....	7
1.2. Pattern d'invasion de <i>D. suzukii</i> .....	8
1.3. Une espèce hautement adaptable .....	9
1.4. Un ravageur majeur pour la filière fruits rouges .....	9
2. Méthodes de lutte existantes contre <i>Drosophila suzukii</i> dans les cultures fruitières .....	10
2.1. Utilisation de produits phytopharmaceutiques .....	10
2.2. Méthodes de gestion agroécologiques .....	10
2.3. Etat des lieux et perspectives du biocontrôle .....	11
3. Présence de la bactérie endosymbiotique <i>Wolbachia pipientis</i> et modification des Traits d'Histoire de Vie des insectes hôtes .....	13
3.1. Généralités .....	13
3.2. Manipulation de la reproduction de l'hôte par <i>Wolbachia</i> .....	13
3.3. Influence de <i>Wolbachia</i> sur la réponse immunitaire de l'hôte .....	14
3.4. Influence de <i>Wolbachia</i> sur les capacités parasitaires des parasitoïdes .....	14
3.5. Coûts physiologiques pour l'hôte .....	15
4. Dynamique éco-évolutive d'un système hôte – endosymbionte : éléments de compréhension du système <i>Drosophila suzukii</i> - <i>Wolbachia</i> .....	15
4.1. Mécanismes d'invasion de souches incompatibles de <i>Wolbachia</i> dans les populations hôtes .....	16
4.2. Dynamiques éco-évolutives de systèmes hôte – endosymbiontes soumis à une pression de parasitoïdes .....	16
Questionnement scientifique .....	17
Matériel et méthodes .....	17
Résultats .....	27
Discussion .....	34
Conclusion et perspectives .....	38
<b>Résumé</b> .....	39
<b>Abstract</b> .....	39
Annexes .....	40
Bibliographie .....	41

## Liste des abréviations

DI : Degré d'infestation

IC : Incompatibilité cytoplasmique

SE : succès d'encapsulation

SP : Succès parasitaire

THV : Trait d'histoire de vie

TII : Technique de l'insecte incompatible

TIS : Technique de l'insecte stérile

TP : Taux de parasitisme

# Introduction

## Avant-propos

Le présent mémoire est introduit par un état de l'art des connaissances disponibles sur les modèles biologiques étudiés, à savoir *Drosophila suzukii*, *Wolbachia pipientis* ainsi que les parasitoïdes larvaires de cette drosophile, utilisables en lutte biologique. Dans un second temps, le sujet de ce mémoire est détaillé ainsi les questionnements scientifiques sous-jacents.

## Etat de l'art des connaissances scientifiques

Depuis la découverte des bactéries intracellulaires en 1924 (Hertig et Wolbach) chez le moustique *Culex pipiens*, un grand intérêt leur a été porté. Il est admis que ces bactéries endosymbiotiques peuvent induire des modifications des traits d'histoire de vie de leur hôte. Un exemple connu est celui des propriétés de manipulation de la reproduction de l'hôte telle que l'incompatibilité cytoplasmique, découverte en 1970 (Yen & Barr 1971). Plus récemment, l'effet protecteur des bactéries endosymbiotiques contre les parasitoïdes a été observé (Hsiao 1996; Moran et al. 2005). Ces découvertes sont d'un intérêt majeur dans le cadre de la gestion de ravageurs d'importance agronomique par la lutte biologique (McNeill et al. 2014).

L'ensemble de ce corpus de connaissances amène à introduire le sujet de ce mémoire qui porte sur le modèle biologique *Drosophila suzukii*, ravageur des cultures fruitières et possédant la bactérie endosymbiotique *Wolbachia*. Les connaissances disponibles sur les endosymbiontes poussent à s'intéresser aux conséquences de la présence de *Wolbachia* chez *D. suzukii* sur le succès de la lutte biologique par acclimatation du parasitoïde *Ganaspis cf. brasiliensis* G1.

Ce mémoire commence ainsi par une description du modèle biologique considéré, *D. suzukii* et de l'intégration de la lutte biologique par acclimatation dans l'ensemble des stratégies de lutte contre ce ravageur. Avant de continuer sur la partie expérimentale de ce mémoire, une synthèse des connaissances est réalisée sur les relations entre la bactérie endosymbiotique *Wolbachia* et ses hôtes. Il est détaillé les modifications possibles des traits d'histoire de vie de l'hôte infecté par *Wolbachia*. Partant de ces connaissances, une description est réalisée de la dynamique d'invasion de *Wolbachia* dans les populations hôtes. Les conséquences et perspectives agronomiques seront discutées.

## 1. *Drosophila suzukii*, un ravageur pour la filière fruits rouges

### 1.1. Biologie et origine de *Drosophila suzukii*

*Drosophila suzukii* (Diptera, Drosophilidae) est une espèce de drosophile originaire d'Asie orientale. Elle a été observée pour la première fois en 1907 au Japon puis décrite en 1935 par Matsumura. La présence de cette espèce est confirmée notamment en Chine, en Inde, en Corée, en Thaïlande, en Birmanie (Asplen et al. 2015). Les femelles ont pour particularité de posséder un ovipositeur dentelé leur permettant de pondre sur des fruits en maturation (Girod et al. 2018). Les œufs sont insérés dans le

fruit et les aérofiles sortant du fruit permettent des échanges gazeux. En France, des échantillonnages de fruits ont montré que *D. suzukii* peut se développer sur au moins 33 espèces végétales sauvages différentes appartenant notamment aux genres *Rubus*, *Prunus*, *Cornus* (Poyet 2015). Les traits d'histoire de vie de *D. suzukii* ont été décrits dans des conditions optimales en laboratoire, à 22°C, 25% d'humidité relative et une photopériode 15 : 9 (J : N) (Emiljanowicz et al. 2014). Dans ces conditions, la fécondité moyenne des femelles est de 6 œufs par jour. À une température de 22°C, les œufs éclosent entre 0 et 1.3 jours après la ponte. Les drosophiles passent par trois stades avant la pupaison. La durée de développement des larves est d'environ 6 jours. Le stade pupaire dure également 6 jours. Ainsi, de la ponte de l'œuf jusqu'à l'émergence d'un adulte, la durée moyenne de développement est de 13 jours à 22°C. Les espérances de vie des femelles et des mâles adultes sont respectivement 80 et 93 jours. Jusqu'à un âge de 60 jours, les femelles peuvent pondre des œufs avec une viabilité de plus de 80% (Langille et al. 2016). Les femelles apprécient une humidité de l'air élevée, supérieure à 70%, pour pondre (Winkler et al. 2020). Dans la nature, il est observé deux morphotypes de *D. suzukii* adaptés respectivement aux saisons chaudes d'été et froides d'hiver (Papanastasiou et al. 2021). La production de ces deux morphotypes de *D. suzukii* dépend des températures que subissent les larves durant leur développement : chaudes (>20°C) pour le morphotype d'été et froide (<10°C) pour le morphotype d'hiver. Les drosophiles ayant un morphotype d'hiver ont une espérance de vie plus élevée que celles de morphotype d'été mais présentent une plus faible fécondité.

## 1.2. Pattern d'invasion de *D. suzukii*

*Drosophila suzukii* est une espèce qui s'est largement propagée en dehors de son aire de répartition d'origine, l'Asie. En 2008, cette espèce est retrouvée en Espagne et en Italie. Elle se disperse en France et en Croatie en 2010. En 2014, *D. suzukii* est signalée dans quasiment l'ensemble des pays européens (Asplen et al. 2015). Sa présence est également confirmée pour la première fois à partir de 2008 en Californie et à partir de 2014 au Brésil (Asplen et al. 2015). Les scénarios de dispersion de *D. suzukii* ont été étudiés en croisant des données génétiques (microsatellites, 25 loci) de 23 échantillons dans le monde avec des informations relatives aux premières observations de ce ravageur (Framout et al. 2017). Les populations de *D. suzukii* en Californie observées dès 2008 semblent être originaires de Chine. L'espèce s'est ensuite dispersée vers l'Est des Etats-Unis d'Amérique avec la première observation en 2010 en Caroline du Nord. En Europe, les populations de ce ravageur sont issues de populations nord-américaines et chinoises. Les drosophiles observées en Espagne à partir de 2008 se rapprochent génétiquement des drosophiles des populations chinoises. En 2011, les premiers individus de *D. suzukii* sont retrouvés dans le Nord de la France. L'analyse des marqueurs microsatellites rend compte d'un mélange entre des populations provenant de l'Est des Etats-Unis d'Amérique et des populations chinoises. Ce scénario complexe de dispersion de *D. suzukii* dans le monde peut s'expliquer par la croissance des flux commerciaux entre ces différents pays.

### 1.3. Une espèce hautement adaptable

Le succès d'invasion de *D. suzukii* peut être expliqué par ses caractéristiques intrinsèques ainsi que des caractéristiques écologiques des espaces d'introduction. Tout d'abord, *D. suzukii* admet une grande plasticité phénotypique expliquant notamment son adaptation à différentes gammes de température et d'humidité (Papanastasiou et al. 2021; Little et al. 2020). Par ailleurs, *D. suzukii* bénéficie d'une opportunité de ressources. En effet, cette espèce est polyphage et peut se développer sur une centaine d'espèces végétales cultivées ou non en Europe (Kenis et al. 2016). De plus, sur les ressources de fruits frais, la compétition interspécifique est réduite puisque peu d'autres espèces d'insectes phytophages (drosophiles notamment) s'attaquent à des fruits en cours de maturation en Europe (Rota-Stabelli et al. 2013). Un dernier élément pouvant expliquer le succès d'établissement des populations de *D. suzukii* est le relâchement de la pression des ennemis naturels (Colautti et al. 2004). En effet, en Europe et dans l'ensemble des zones envahies par cette espèce, il n'existe pas de parasitoïdes spécifiques de *D. suzukii*. La majorité des parasitoïdes larvaires indigènes ne se développent pas ou très mal sur *D. suzukii* en raison de ses très bonnes défenses immunitaires (Poyet et al. 2013). Seuls deux espèces indigènes de parasitoïdes de pupes, très généralistes, parviennent à se développer (*Pachycrepoideus vindemmiae*, Pteromalidae ; *Trichopria drosophilae*, Diapriidae) mais ne permettent pas une régulation satisfaisante du ravageur.

### 1.4. Un ravageur majeur pour la filière fruits rouges

*Drosophila suzukii* est très problématique pour la filière fruit et notamment la filière petits fruits rouges (cerises, fraises, myrtilles, etc.). L'activité des larves de *D. suzukii* rend le fruit non commercialisable. La lésion du fruit lors de la ponte peut également provoquer le développement de champignons opportunistes comme *Botrytis cinerea* ou *Rhizopus stolonifer*. Les pertes de rendement provoquées par ce ravageur peuvent être très importantes et aller jusqu'à 80%, avec une variabilité selon les cultures observées (Bolda et al. 2010). Cette espèce a ainsi été classée dans la liste A2 de l'OEPP en tant qu'organisme nuisible préoccupant en 2011. A ce jour, la gestion de ce ravageur est difficile pour les producteurs de fruits. En effet, la grande polyphagie de *D. suzukii* lui permet de disposer de zones refuges « sauvages » (haies, lisière de bois, bosquets, friches...) qui servent ensuite d'inoculum à la réinfestation des zones cultivées. Le principal levier de gestion reste l'utilisation d'insecticides peu spécifiques mais, devant le retrait de nombreuses matières actives et la détection de populations de *D. suzukii* résistantes à certains produits, il existe une urgence à identifier des méthodes alternatives pour une gestion optimale de ce ravageur. La pérennité de certaines filières comme celle de la cerise est en jeu.

## 2. Méthodes de lutte existantes contre *Drosophila suzukii* dans les cultures fruitières

### 2.1. Utilisation de produits phytopharmaceutiques

La lutte directe par des produits phytopharmaceutiques permet de réguler la taille des populations de *D. suzukii* au moment de la maturation des fruits. Des traitements peuvent être réalisés lorsque les mesures de prophylaxie n'ont pas permis de réguler la population de *D. suzukii* en verger ou en serre. Mais la période de traitement au moment de la maturation des fruits réduit le choix des produits phytopharmaceutiques. En 2016, le diméthoate, insecticide très efficace contre *D. suzukii*, a été interdit d'utilisation. Sur cerise, d'autres substances alternatives restent homologuées comme l'acétamipride (néonicotinoïde), le lambda-cyhalothrine et le deltaméthrine (pyréthrinoïdes), le primicarbe et le spirétoname (Ephy, 2023). En agriculture biologique, des produits à base de *Beauveria bassiana* sont homologués en culture de cerise ainsi que le silicate d'aluminium et l'argile blanche (Ephy, 2023). En revanche, les produits homologués (conventionnel et de biocontrôle), présentent une efficacité dépendante de la pression de *D. suzukii* (Polturat et al. 2018). Les produits sont plus efficaces lorsque le niveau de population est faible à modéré. Ces produits ont globalement une rémanence faible ce qui implique d'augmenter le nombre de traitements durant la période sensible, avant récolte. De plus, ces produits sont peu spécifiques et donc toxiques pour d'autres espèces d'insectes/arthropodes.

### 2.2. Méthodes de gestion agroécologiques

Différentes mesures agroécologiques ont été testées pour diminuer la pression de *D. suzukii* dans les vergers et les serres de production fruitière (Polturat et al. 2018). En premier lieu, des mesures de prophylaxie permettent d'éviter l'arrivée et le développement de populations de *D. suzukii*. Les déchets organiques pouvant contenir des larves de *D. suzukii* sont détruits par solarisation. Dans le cas de serres, la température peut être augmentée pour induire une mortalité des larves présentes. Par ailleurs, tous les éléments attirant *D. suzukii* peuvent être enlevés des vergers ou des serres. Des récoltes plus fréquentes et l'élimination des fruits en surmaturation diminuent l'attraction de *D. suzukii*. L'entretien des cultures peut aussi permettre d'éviter l'atteinte de conditions optimales au développement des populations de *D. suzukii*. L'aération des cultures semble particulièrement importante pour limiter l'excès d'humidité favorable à la ponte des femelles de *D. suzukii*. Parmi les mesures d'évitement, la pose de filet insect-proof semble efficace pour limiter l'entrée de *D. suzukii* (Polturat et al. 2018). Toutefois, cette mesure comporte des désavantages dus à la diminution du nombre de pollinisateurs et d'auxiliaires de culture. Lorsque la pression de *D. suzukii* est trop importante, d'autres stratégies de lutte directe ont été testées comme le piégeage de masse. Toutefois, cette dernière méthode ne permet pas de réduire les dégâts sur les fruits (Polturat et al. 2018). L'ensemble de ces méthodes de lutte agroécologique représente toutefois un coût financier (investissement, main d'œuvre) important pour les producteurs de fruits. De plus, à l'heure actuelle, ces leviers ne montrent qu'une efficacité limitée. Une reconception des itinéraires de

protection, avec la définition de combinaisons de leviers, s'avère indispensable pour une gestion durable de ce ravageur.

### 2.3. Etat des lieux et perspectives du biocontrôle

Le biocontrôle désigne un ensemble de méthodes de lutte contre les bioagresseurs des cultures basées sur l'utilisation de mécanismes naturels (Fauvergue et al. 2020). Les produits de biocontrôle sont classés en quatre catégories : macroorganismes, microorganismes, médiateurs chimiques (tels que les phéromones) et substances naturelles permettant de lutter contre des ennemis des cultures. L'objectif final est de réduire les densités de population des ravageurs à un niveau assez bas pour limiter les dégâts observés sur les cultures (Fauvergue et al. 2020). Dans cette partie, un focus est réalisé sur l'utilisation de macroorganismes antagonistes de *D. suzukii* dans le cadre de stratégies de lutte biologique.

#### *Lutte biologique par conservation*

Cette méthode vise à aménager les cultures et leurs abords afin de les rendre favorables aux populations indigènes d'ennemis naturels. Contre *D. suzukii*, les prédateurs suivants ont un potentiel de régulation : les Carabes, les Staphylins, les Chrysopes, les Opilions ainsi que certaines espèces de punaises du genre *Orius* (Polturat et al. 2018). Une recherche plus poussée a été réalisée dans l'identification de parasitoïdes indigènes de *D. suzukii*. Seules les espèces de parasitoïdes de pupes montrent une efficacité limitée (60% en culture de fraise par ex. – Trottin 2014), et une grande variabilité selon la culture considérée (efficacité plus faible en vergers de cerisier par exemple).

#### *Lutte biologique par augmentation*

En 2020, l'ANSES a rendu un avis favorable à la commercialisation de *Trichopria drosophilae* (Hymenoptera, Diapriidae). Il s'agit d'un endoparasitoïde s'attaquant aux pupes de drosophiles. Le degré d'infestation de ce parasitoïde sur *D. suzukii* est compris entre 69 et 85% pour un succès parasitaire de 38 à 76% (ANSES, 2020).

#### *Lutte biologique par acclimatation – focus sur le parasitoïde larvaire exotique Ganaspis cf. brasiliensis G1*

La lutte biologique par acclimatation consiste à rechercher un ennemi naturel spécifique d'un ravageur dans son aire d'origine puis, après évaluation fine au laboratoire, à l'introduire dans les zones envahies afin qu'il s'y établisse de manière permanente et contrôle durablement ce ravageur (Fauvergue et al. 2020). Des échantillonnages au Japon, en Chine et en Corée de Sud ont permis l'identification de plusieurs espèces de parasitoïdes candidates pour la lutte biologique contre *D. suzukii*. Des parasitoïdes larvaires ont été échantillonnés : *Ganaspis cf. brasiliensis*, *Leptopilina japonica* et plusieurs espèces de Braconidae appartenant aux genres *Asobara*, *Areotetes*, *Tanycarpa* (Girod et al. 2018a; Daane et al. 2016; Giorgini et al. 2019). Deux espèces de parasitoïdes nymphaux ont été échantillonnées : *Pachycrepoideus vindemiae* et *Trichopria drosophilae* (Daane et al. 2016; Giorgini et al. 2019). Au

regard de la spécificité d'hôtes et de l'efficacité de ces différents parasitoïdes, *Ganaspis* cf. *brasiliensis* a été identifié comme prometteur pour la lutte biologique (Girod et al. 2018a). Toutefois, le taxon *Ganaspis* cf. *brasiliensis* (Figitidae) est mal défini d'un point de vue taxonomique. La caractérisation moléculaire par les marqueurs CO1 et ITS a permis l'identification de cinq groupes distincts au sein de ce taxon (Seehausen et al. 2020a). L'étude approfondie de ces groupes a montré l'intérêt d'utiliser des parasitoïdes du taxon *Ganaspis* cf. *brasiliensis* appartenant au groupe G1 (Seehausen et al. 2020a). Ce parasitoïde peut parasiter d'autres espèces de drosophiles ; en conditions de non-choix, le taux de parasitisme apparent des larves de *Drosophila melanogaster* et de *Drosophila simulans* élevées sur des myrtilles est respectivement de 50% et 35% (Seehausen et al.). Toutefois, *G. brasiliensis* G1 ne parasite des larves de drosophiles uniquement sur fruits frais, niche exclusive de *D. suzukii*. Deux souches sont utilisées, provenant de Tokyo (souche GT) et de Nara (souche GS6). Les femelles de ces deux souches parasitent avec préférence les jeunes stades larvaires de *D. suzukii* (Wang et al. 2018). La durée de vie moyenne des adultes est d'environ 18 jours. La fécondité des femelles est maximale à un âge autour de 10 jours (Wang et al. 2018). En 2022, l'ANSES délivre l'autorisation de lâcher de *G. brasiliensis* G1 pour les deux souches GS6 et GT.

#### *Lutte autocide – technique de l'insecte stérile (TIS) et technique de l'insecte incompatible (TII)*

Parmi les autres méthodes de biocontrôle utilisant des macro-organismes, la lutte autocide a pour but de diminuer la fécondité réalisée des femelles du ravageur (*D. suzukii* ici) entraînant une diminution du taux d'accroissement des populations. La conséquence attendue est une diminution de la taille des populations du ravageur. Deux stratégies de lutte autocide contre *D. suzukii* font actuellement l'objet de recherches/évaluations. La technique de l'insecte stérile (TIS) consiste à introduire massivement des drosophiles mâles stérilisés dans l'environnement (Oliva et al. 2020). La probabilité d'accouplement d'une drosophile femelle avec une drosophile mâle fertile est donc diminuée, ce qui aboutit à la diminution du nombre moyen d'œufs viables produits par femelle. En conditions contrôlées (cages), cette technique permet de diminuer significativement la fécondité de *D.* (Gard et al. 2023). L'autre stratégie, la technique de l'insecte incompatible (TII), utilise les propriétés de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia pipientis* présente chez *D. suzukii* et de nombreux autres taxons. En effet, *Wolbachia* peut provoquer une barrière à la reproduction nommée incompatibilité cytoplasmique (voir partie 3.2). C'est dans ce but que deux souches de *Wolbachia* (*wHa* et *wTei*), induisant une forte incompatibilité cytoplasmique, ont été introduites chez *D. suzukii*. La souche *wHa* provient de *Drosophila simulans* et la souche *wTei* provient de *Drosophila teissieri*. Chez *D. suzukii*, une forte incompatibilité cytoplasmique existe entre les mâles infectés par l'une de ces deux souches et les femelles aposymbiotiques ou infectées par la souche *wSuz* (Cattell 2016). A l'instar de la TIS, l'introduction dans l'environnement de drosophiles possédant une de ces deux souches de *Wolbachia* pourrait donc réduire le taux de croissance des populations de drosophiles (Blackwood et al. 2018; Dobson et al. 2002; Nikolouli et al. 2020).

### 3. Présence de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia pipientis* et modification des traits d'histoire de vie des insectes hôtes

#### 3.1. Généralités

Chez les Arthropodes, de nombreuses espèces sont infectées par des bactéries présentes dans les cellules des tissus de l'insecte hôte. Ces bactéries symbiotiques intracellulaires sont appelées endocytobioles (Schwemmler 1980) ou bien endosymbiontes. Elles appartiennent en général aux Protéobactéries (Kikuchi 2009). Il existe des endosymbiontes également parmi d'autres taxons bactériens comme *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Chlamydiae*, et *Firmicutes*. Ces endosymbiontes peuvent être obligatoires lorsqu'il existe une relation mutualiste indispensable pour l'hôte comme pour la bactérie (McNeill et al. 2014). Un endosymbionte facultatif n'est pas nécessaire à la survie de l'hôte et son effet peut être neutre, avantageux ou être délétère pour l'hôte (McNeill et al. 2014).

La présente synthèse se restreint à l'exemple de l'endosymbionte facultatif *Wolbachia pipientis* ( $\alpha$ -Protéobactéries). *Wolbachia pipientis* a été divisée en huit supergroupes (A-H) à partir du marqueur ARNr 16S (Wang et al. 2018). Les souches de *Wolbachia* observées chez les diptères appartiennent au supergroupe A (Wang et al). *Wolbachia* est retrouvée principalement dans les tissus reproducteurs de l'hôte mais peut aussi être observée dans des tissus somatiques (nerveux, musculaires, digestifs) (Werren 1997). A partir du marqueur ARN 16S, *Wolbachia* est la seule bactérie endosymbiotique identifiée chez *D. suzukii* (Chandler et al. 2014). Au sein des populations européennes de cette drosophile, une seule souche de *Wolbachia* a été identifiée à partir du séquençage de six gènes spécifiques de cette bactérie (*wsp*, *gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ*, *fbpA*) ; il s'agit de la souche *wSuz* (Cattel et al. 2016). En France, la prévalence de cette souche est très variable, allant de 0 à 100%, la moyenne étant de 46% (Cattel et al. 2016).

#### 3.2. Manipulation de la reproduction de l'hôte par *Wolbachia*

*Wolbachia* manipule la reproduction de son hôte en faveur de sa propre transmission vers la descendance de l'hôte (transmission verticale). Cette propriété est liée à la localisation de la bactérie au niveau des tissus reproducteurs de l'hôte permettant sa transmission dans les ovocytes (Serbus et al. 2008). Par ailleurs, certaines souches de *Wolbachia* peuvent induire différentes manipulations de la reproduction de leurs hôtes favorisant leur transmission chez celui-ci : féminisation, thélytoquie, incompatibilité cytoplasmique et male-killing (Werren 1997). L'incompatibilité cytoplasmique consiste en l'induction d'une mortalité des œufs produits par le croisement d'un mâle infecté avec une femelle non infectée par *Wolbachia* (Werren 1997). Le même phénomène peut s'observer lors du croisement d'un mâle et d'une femelle infectés par des souches de *Wolbachia* différentes. Cette barrière à la reproduction est un système faisant intervenir les processus complémentaires de transfert de toxines par la bactérie dans les gamètes mâles et la détoxification de ces toxines par la bactérie dans l'embryon

(Hochstrasser 2022). Chez *Drosophila suzukii*, seule l'incompatibilité cytoplasmique a été observée. Ce phénomène de manipulation de la reproduction des drosophiles par *Wolbachia* peut être utilisé pour mettre en place une stratégie de lutte de type TII (cf. ci-dessus).

### 3.3. Influence de *Wolbachia* sur la réponse immunitaire de l'hôte

Les endosymbiontes facultatifs tels que *Wolbachia* peuvent modifier l'immunité de leur hôte contre les agents pathogènes et les parasitoïdes. De nombreux exemples montrent que certaines souches de *Wolbachia* induisent une résistance de leur hôte aux virus ARN. Ainsi, la souche *Wmel* induit une résistance du moustique *Aedes Aegypti* contre le virus de la dengue (Bian et al. 2010). Chez *D. suzukii*, la souche *Wsu<sub>z</sub>* apporte un gain de résistance contre les virus à ARN comme le DCV ou le FHV à travers une diminution de la charge virale (Cattel et al. 2016). L'effet de *Wolbachia* sur le succès des parasitoïdes est très dépendant de la souche de *Wolbachia*, du génotype de l'hôte (Martinez et al. 2012 ; Cattel et al. 2016) et des caractéristiques du parasitoïde (Martinez et al. 2012). Selon les cas étudiés, la présence de *Wolbachia* peut induire une susceptibilité ou une résistance de l'hôte infecté aux parasitoïdes. Ainsi, *Wolbachia* diminue la capacité de *D. simulans* à encapsuler les œufs de *Leptopilina heterotoma* (Fytrou et al. 2006). Toutefois, la présence de *Wolbachia* chez *D. simulans* ne modifie ni le taux de parasitisme, ni la capacité d'encapsulation de *Leptopilina bouvardi* (Martinez et al. 2012). La présence de *Wolbachia* réduit le succès de développement de *L. bouvardi* uniquement chez les individus *D. simulans* du génotype CO. Dans d'autres cas, *Wolbachia* peut induire une forte mortalité des parasitoïdes. C'est le cas de la résistance de la souche Western de *Hypera postica* au parasitoïde *Microctonus aethioides*. En effet, la souche de *Wolbachia* présente chez *H. postica* induit une forte mortalité du parasitoïde *M. aethioides* (Hsiao 1996).

Trois mécanismes sont proposés pour expliquer l'effet des endosymbiontes sur l'immunité de leur hôte. Le premier est le « priming » des défenses immunitaires. La présence d'une bactérie endosymbiotique peut augmenter le nombre d'hémocytes dans l'hémolymphe des hôtes. Les capacités d'encapsulation des œufs de parasitoïdes sont donc plus importantes (Mateos et al. 2016). Le second mécanisme est la compétition entre l'agent pathogène ou le parasitoïde et l'endosymbionte. Cette compétition peut porter notamment sur les lipides (Paredes et al. 2016). Enfin, les endosymbiontes peuvent produire des toxines tuant l'œuf de parasitoïde (Oliver et al. 2003). Ce dernier mécanisme n'est pas connu chez *Wolbachia*.

### 3.4. Influence de *Wolbachia* sur les capacités parasitaires des parasitoïdes

Certaines espèces de parasitoïdes sont infectées par *Wolbachia*. Sa présence peut limiter le succès parasitaire des parasitoïdes. Par exemple, la présence de *Wolbachia* chez *L. heterotoma* induit une baisse des capacités à contourner les défenses immunitaires de son hôte *D. simulans* (Fytrou et al. 2006). Par ailleurs, *Wolbachia* peut modifier le comportement de recherche des hôtes chez les parasitoïdes. L'exemple d'*Asobara japonica* (Braconidae) peut être cité. En effet, les femelles infectées

par *Wolbachia* recherchent plus activement leurs hôtes que les femelles non infectées (Furihata et al. 2015).

### 3.5. Coûts physiologiques pour l'hôte

La présence de *Wolbachia* représente un coût physiologique pour l'hôte infecté. En effet, les endosymbiontes détournent une partie des ressources nutritives de leur hôte. Par ailleurs, la présence de *Wolbachia* peut induire l'activation des défenses immunitaires des hôtes traduite par une production de composés oxygénés. La régulation de cette production peut engendrer une dépense énergétique accrue (Zug & Hammerstein 2015). Les coûts physiologiques liés à la présence de *Wolbachia* peuvent se traduire par une diminution de la valeur des traits d'histoire de vie (THV). Ce coût de *Wolbachia* peut entraîner une diminution de la fécondité des femelles, du taux d'éclosion des larves, de la durée de développement des larves, de la durée de vie (Martinez et al. 2012a; Chrostek et al. 2013; Mazzetto et al. 2015). Plus généralement, l'intensité du coût physiologique est liée à la localisation et la densité de *Wolbachia* dans les tissus de l'hôte. Lorsque *Wolbachia* est présente dans les tissus somatiques et dans différentes parties du corps, alors le coût est d'autant plus important (Martinez et al. 2015). Lorsque *Wolbachia* est présente uniquement dans les tissus reproducteurs, le coût sur les traits d'histoire de vie est réduit (Martinez et al. 2015). Chez *D. sukukii*, la présence des souches *Wsuz*, *Wha* et *Wtei* n'induit pas de modifications ni de la fécondité des femelles, ni de la viabilité des œufs, ni de la longévité des individus (Cattel et al. 2016; Hamm et al. 2014).

## 4. Dynamique éco-évolutive d'un système hôte – endosymbionte : éléments de compréhension du système *Drosophila sukukii* - *Wolbachia*

La présence de *Wolbachia* chez *D. sukukii* a un intérêt agronomique majeur dans le cadre de la gestion de cette drosophile. Premièrement, l'utilisation des propriétés d'IC de *Wolbachia* est étudiée dans une perspective de réduction des tailles de population de ce ravageur. La conception de la TII nécessite toutefois une bonne compréhension à la fois des mécanismes d'invasion des souches de *Wolbachia* dans les populations de *D. sukukii* mais également des conséquences sur la démographie de ce ravageur. Une première partie exposera donc les modèles théoriques de dynamique de systèmes hôte – endosymbionte. Par ailleurs, la gestion de *Drosophila sukukii* est également envisagée avec la lutte biologique utilisant des parasitoïdes tels que *G. brasiliensis*. Considérant le potentiel effet protecteur de *Wolbachia* chez son hôte par rapport aux parasitoïdes, il semble pertinent d'intégrer ce dernier facteur dans les dynamiques hôtes – endosymbiontes. Une seconde partie présentera les dynamiques de tels systèmes dans des environnements comportant des parasitoïdes. Ces connaissances sont nécessaires à la fois pour identifier les risques lors de la mise en place de la lutte biologique mais aussi pour envisager la combinaison de cette méthode de lutte avec la TII.

#### 4.1. Mécanismes d'invasion de souches incompatibles de *Wolbachia* dans les populations hôtes

*Wolbachia* est caractérisée par sa capacité à manipuler la reproduction de l'hôte en faveur de son invasion dans les populations de cet hôte. Les premiers modèles théoriques identifient trois paramètres déterminant l'invasion de souches incompatibles de *Wolbachia* : efficacité de transmission à la descendance, niveau de l'incompatibilité cytoplasmique et coût de la présence de *Wolbachia* pour l'hôte (Turelli & Hoffmann 1991; Hoffmann & Turelli 1997). Ces modèles prédisent une invasion de *Wolbachia* dans la population hôte lorsque la proportion d'hôtes infectés est supérieure à un seuil d'invasion. Ce seuil dépend du coût de *Wolbachia* sur les THV tels que la fécondité, la viabilité des œufs, la longévité de l'hôte. Ces modèles sont par la suite complétés par l'intégration de la densité-dépendance dans les paramètres démographiques de l'hôte (Dobson et al. 2002; Hancock et al. 2011). Ces modèles montrent que la compétition intraspécifique chez l'hôte est un frein à l'invasion de *Wolbachia*. Dobson et al. (2011) propose un modèle d'invasion de souches incompatibles de *Wolbachia* tout en considérant une mortalité larvaire due à la densité-dépendance. Ce modèle prédit une diminution transitoire de la taille de population de l'hôte après introduction d'une souche incompatible de *Wolbachia*. Cet effet de l'introduction d'une souche incompatible de *Wolbachia* sur la démographie de l'hôte peut conduire à l'extinction de la population hôte grâce à l'effet Allee (Blackwood et al. 2018). Si la taille de la population hôte est abaissée en dessous d'un seuil de Allee, cette population peut être amenée à l'extinction. Toutefois, une étude de la démographie de *D. suzukii* en cage suivant l'introduction de la souche incompatible *w*Tei ne montre pas de réduction significative de la taille de population des drosophiles (Auguste et al. 2023).

#### 4.2. Dynamiques éco-évolutives de systèmes hôte – endosymbiontes soumis à une pression de parasitoïdes

Certaines souches de *Wolbachia* peuvent modifier la réponse immunitaire de leur hôte face aux parasitoïdes (voir 3.3). Il peut donc exister une différence de valeur sélective entre les hôtes selon leur statut d'infection à *Wolbachia* dans des environnements comportant des parasitoïdes. Dans les populations d'hôtes de la bactérie, cette différence peut se traduire par une augmentation / réduction de la fréquence des souches de *Wolbachia* protectrices/sensibilisantes face aux parasitoïdes. Par exemple, dans les zones de forte présence de l'hyperparasitoïde *Mesochorus cf. stigmaticus*, la fréquence de *Wolbachia* (induisant une plus grande susceptibilité à l'hyperparasitoïde) dans les populations du parasitoïde *Hyposoter horticola* est faible (van Nouhuys et al. 2016). L'exemple opposé est également observé. La fréquence de l'endosymbionte protecteur *Spiroplasma* augmente dans les populations de *Drosophila hydei* en présence du parasitoïde *L. bouvardi* (Xie et al. 2015). Dans ce dernier cas, le succès parasitaire de *L. bouvardi* est négativement corrélé à la fréquence de *Spiroplasma*. D'un point de vue agronomique, la diminution du succès parasitaire peut être pénalisante pour le succès de la lutte biologique contre des ravageurs portant des endosymbiontes protecteurs (McNeill et al. 2014).

Toutefois, dans des conditions naturelles, la relation entre fréquence d'un endosymbionte protecteur et pression de parasitisme peut être faible. Le coût de l'endosymbionte protecteur et les conditions environnementales peuvent avoir un effet plus important que le parasitisme sur la dynamique de la fréquence des endosymbiontes protecteurs (Gimmi et al. 2023).

## Questionnement scientifique

Il existe une nécessité de mettre en place des méthodes de gestion du ravageur *D. suzukii*, ravageur des petits fruits rouges. Plusieurs méthodes de gestion agroécologiques sont proposées. Tout d'abord, le parasitoïde larvaire *G. brasiliensis* (souche GT) sera introduit dans l'environnement français à partir de 2023. Ce parasitoïde peut contribuer à réduire la pression de *D. suzukii* notamment en contrôlant ce ravageur dans les zones non cultivées. Par ailleurs, un intérêt grandissant est porté à la TII. Cette méthode nécessite encore une réflexion pour pouvoir être efficace contre *D. suzukii*. Des connaissances sont à apporter sur la combinaison de ces deux méthodes de lutte. Ce mémoire s'inscrit dans ce contexte d'étude. Le premier objectif est de comprendre la variabilité du succès de parasitisme de *G. brasiliensis* G1 selon le statut d'infection de *D. suzukii* à la bactérie *Wolbachia*. Selon le statut d'infection de *D. suzukii*, la première expérience permet de comparer le nombre de drosophiles émergentes de tubes avec parasitoïdes, le nombre de drosophiles ayant encapsulé un œuf de parasitoïde et le nombre de parasitoïdes émergents. L'expérience proposée utilise trois souches de *Wolbachia* : la souche naturelle *wSuz* ainsi que les deux souches *wHa* et *wTei*. Le parasitoïde *G. brasiliensis* de souche GT est étudié dans cette expérience. A cause du remplacement malencontreux de la souche de *G. brasiliensis* GS6 par *Leptopilina japonica* préalablement à ce stage, cette dernière espèce de parasitoïde a été intégrée dans les expériences. Le second objectif est de comprendre la dynamique de la prévalence d'une souche de *Wolbachia* dans des populations de *D. suzukii* en présence d'un parasitoïde larvaire. Des communautés expérimentales en cages sont mises en place à partir d'une population de *D. suzukii* caractérisée par une prévalence initiale de la souche *wSuz* de 50%. L'introduction de parasitoïdes est faite dans la moitié des cages. La dynamique des populations de *D. suzukii* et de parasitoïdes ainsi que la prévalence de la souche *wSuz* sont étudiées.

## Matériel et méthodes

### Méthodes d'élevage de *D. suzukii* et ses parasitoïdes larvaires

Les élevages de *D. suzukii* ont été conduits dans une pièce climatique maintenue à 21°C, avec une hygrométrie entre 50 et 70%, une photopériode 12 : 12. Les drosophiles ont été maintenues sur un milieu nutritif composé de levure de bière (7.9 %), semoule de maïs (7.9 %), agar (1.6 %) et nipagine (0.4 %) et d'eau.

Les quatre souches de *D. suzukii* caractérisées par leur statut d'infection à *Wolbachia* et utilisées dans les expériences étaient en provenance de l'élevage du Laboratoire de Biométrie et Biologie

Evolutionnaire (LBBE) de l'université de Lyon 1. Ces souches de *D. sukuzii* ont été fondées en 2018 à partir de drosophiles d'origine italienne (souche *wSuz-IPLC*). La souche aposymbiotique utilisée dans ce travail était issue du traitement antibiotique pendant quatre générations de drosophiles de la souche *wSuz-IPLC*. La reconstitution de la flore intestinale s'est faite sur deux générations au cours desquelles les drosophiles ont été élevées sur un milieu nutritif inoculé avec des fèces de drosophiles mâles non traités par antibiotiques. Les souches de *D. sukuzii* infectées par *Wolbachia* utilisées dans les expériences sont issues des souches françaises de drosophiles *wSuz-FR*, *wTei-FR* et *wHa-FR*. La souche *wSuz-FR* a été obtenue à partir de populations de drosophiles échantillonnées en France dans les lesquelles la souche *wSuz* était fixée. Les souches *wTei-FR* et *wHa-FR* ont été obtenues en 2013 par micro-injection embryonnaire sur des drosophiles aposymbiotiques. Afin d'aligner les trois souches de *Wolbachia* sous le fond génétique italien, des introgressions ont été réalisées à partir de la souche de drosophile *wSuz-IPLC*. Pour chacune des souches de drosophiles *wSuz-FR*, *wHa-FR* et *wTei-FR*, des femelles ont été croisées avec des mâles de la souche *wSuz-IPLC*. Ces croisements ont été réitérés sur les descendants pendant huit générations. Ainsi, le fond génétique des quatre souches de *D. sukuzii* (aposymbiotique, *wSuz*, *wTei* et *wHa*) est identique.

Pour les parasitoïdes larvaires de *D. sukuzii*, le projet initial était de travailler sur deux souches de *Ganaspis cf. brasiliensis* G1 provenant de Tokyo (GT) et de Nara (GS6). Toutefois, la souche GS6 a été fortuitement remplacée préalablement à mon stage par le parasitoïde *Leptopilina japonica*, une espèce morphologiquement très proche, maintenue en élevage dans les mêmes locaux. Cette prise de conscience ayant eu lieu après la mise en place des expériences, *L. japonica* a remplacé la souche GS6 dans les deux expériences proposées. Les parasitoïdes ont été maintenus en pièce climatique à une température de 21°C, une hygrométrie entre 50 et 70% et une photopériode 12 : 12. Les parasitoïdes ont été élevés sur des larves de *D. sukuzii* se développant soit sur du milieu nutritif contenant une myrtille dans le cas de *L. japonica* soit uniquement sur des myrtilles fermes dans le cas de *G. brasiliensis* souche GT.

### Expérience 1 : Effet du statut d'infection à *Wolbachia* des drosophiles sur la variabilité du succès parasitaire de parasitoïdes larvaires

Les quatre souches de *D. sukuzii* décrites ci-dessus ont été utilisées. Dans cette expérience, des larves de *D. sukuzii* ont été exposées aux parasitoïdes *G. brasiliensis* (GT) ou *L. japonica* dans des tubes 175 mL. Des tubes témoins contenant des larves non exposées aux parasitoïdes ont été préparés. Ces tubes témoins permettaient de quantifier le nombre de larves disponibles pour le parasitisme. Un tube constituait une répétition. Le tableau 1 présente ainsi le plan factoriel de l'expérience proposée pour répondre à la première question et le nombre de répétitions réalisées. La figure 0.1 présente de façon schématique le protocole expérimental.

En pratique, l'âge des larves de parasitoïdes a été uniformisé, le comportement de ponte des femelles et le développement de leurs descendants pouvant être affectés par ce critère. Par conséquent, les œufs de *D. suzukii* ont été prélevés dans le milieu de ponte puis introduits dans des nouveaux tubes à raison de 48 œufs, répartis équitablement dans huit myrtilles. Les tubes ont été mis en attente pendant 72h, ce laps de temps permettant aux larves d'éclore et d'atteindre le stade L2. Après ce délai, les parasitoïdes ont été introduits dans les tubes d'expériences. Pour chaque espèce de parasitoïdes, trois femelles ont été introduites dans les tubes et laissées pendant seulement 48h afin d'éviter le super-parasitisme. Ces femelles parasitoïdes étaient âgées d'une semaine et ont été préalablement conservées en présence de mâles pour permettre les accouplements. Tous les individus d'une même souche ont été mélangés dans un tube de gélose. Il n'existait donc pas de structuration des souches de parasitoïdes en lignées maternelles. Cela permettait de répartir aléatoirement les potentiels effets maternels sur la virulence des parasitoïdes. Les différentes répétitions de cette expérience ont été distribuées sur trois semaines. L'ensemble des tubes préparés au cours d'une semaine était considéré comme un bloc d'expérience.

Deux semaines après le parasitisme, les drosophiles adultes ont été prélevées puis comptées dès l'émergence des tubes. Dans le cas des tubes exposés aux parasitoïdes, il a été vérifié si les larves de drosophiles étaient parasitées ou non. Si une larve a résisté à un parasitoïde, une capsule au niveau de l'abdomen de la drosophile adulte était visible, trace du succès des défenses immunitaires (annexe 1). En effet, les insectes possèdent un mécanisme de défense contre les parasitoïdes larvaires ; il s'agit de l'encapsulation, faisant intervenir des cellules immunitaires appelés hémocytes (Poyet et al. 2013). Au cours de ce processus, l'œuf du parasitoïde est enfermé dans une capsule formée notamment par des lamellocytes. Les cellules cristallisent des composés oxydants induisant la mélanisation de la capsule et expliquant leur coloration noire. Cette observation a été faite en écrasant l'abdomen des drosophiles entre deux lames de microscope. Pour finir, entre quatre et sept semaines après la préparation des tubes, l'émergence des parasitoïdes a été observée. Les parasitoïdes émergents ont été comptés par sexe.

A partir de ces données de comptage, différents indices ont été calculés selon la méthode de Martinez et al., (2012) (Tableau 2.1 et 2.2). Chaque indice était calculé pour les tubes d'expérience contenant des parasitoïdes. Tout d'abord, le degré d'infestation (DI) estime la proportion de drosophiles mortes à cause du parasitisme. Le nombre de drosophiles émergentes des tubes avec parasitoïdes est comparé avec le nombre potentiel de drosophiles émergentes en l'absence de parasitisme ( $N_0$ ). Le  $N_0$  est donc le nombre moyen de drosophiles émergentes des tubes sans parasitoïdes. L'effet du statut d'infection des drosophiles à *Wolbachia* sur le  $N_0$  a été analysé afin d'estimer la nécessité de séparer le calcul pour chaque statut d'infection. Le succès parasitaire (SP) estime la proportion de drosophiles parasitées aboutissant à l'émergence d'un adulte parasitoïde. Cet indice a été calculé avec le rapport du nombre de parasitoïdes émergents par le nombre estimé de drosophiles mortes par parasitisme. Le taux de parasitisme (TP) représente la proportion de drosophiles parasitées par les femelles parasitoïdes. Pour

finir, le succès d'encapsulation (SE) correspond à la proportion de drosophiles parasitées ayant réussi à encapsuler l'œuf du parasitoïde. Dans le jeu de données final, le degré d'infestation a été considéré nul en dessous d'un seuil porté à 10%. Pour les tubes donnant un résultat de degré d'infestation nul, le succès parasitaire, le taux de parasitisme et le succès d'encapsulation ont été considérés nuls.

Tableau 1 : Présentation du plan factoriel de la première expérience comportant les différentes modalités considérées et le nombre de répétitions

		Parasitoïdes utilisés		
		<i>Ganaspis brasiliensis</i> (GT)	<i>Leptopilina japonica</i>	Sans parasitoïdes
Statut d'infection de <i>Drosophila suzukii</i>	Aposymbiotique	14	15	16
	wSuz	20	20	21
	wTei	19	20	20
	wHa	20	21	21

Tableau 2.1 : Méthode de calcul des indices précisant les données de comptage de la première expérience (Martinez et al. 2012a).

Indice	Méthode de calcul
Degré d'infestation (DI)	$DI = \frac{N_0 - N_d}{N_0} = 1 - \frac{N_d}{N_0}$
Succès parasitaire (SP)	$SP = \frac{N_p}{N_0 - N_d}$
Taux de parasitisme (TP)	$TP = \frac{N_0 - N_d + N_{cap}}{N_0}$
Succès d'encapsulation (SE)	$SE = \frac{N_{cap}}{N_0 - N_d + N_{cap}}$

Tableau 2.2 : Notation et définition des variables de comptage utilisées pour le calcul des indices du tableau 2.1 (Martinez et al. 2012a)

Variable de comptage	Description
$N_0$	Nombre moyen de drosophiles émergentes des tubes sans parasitoïdes
$N_d$	Nombre de drosophiles émergentes des tubes avec parasitoïdes
$N_p$	Nombre de parasitoïdes émergents des tubes
$N_{cap}$	Nombre de drosophiles ayant encapsulé avec succès un œuf de parasitoïde

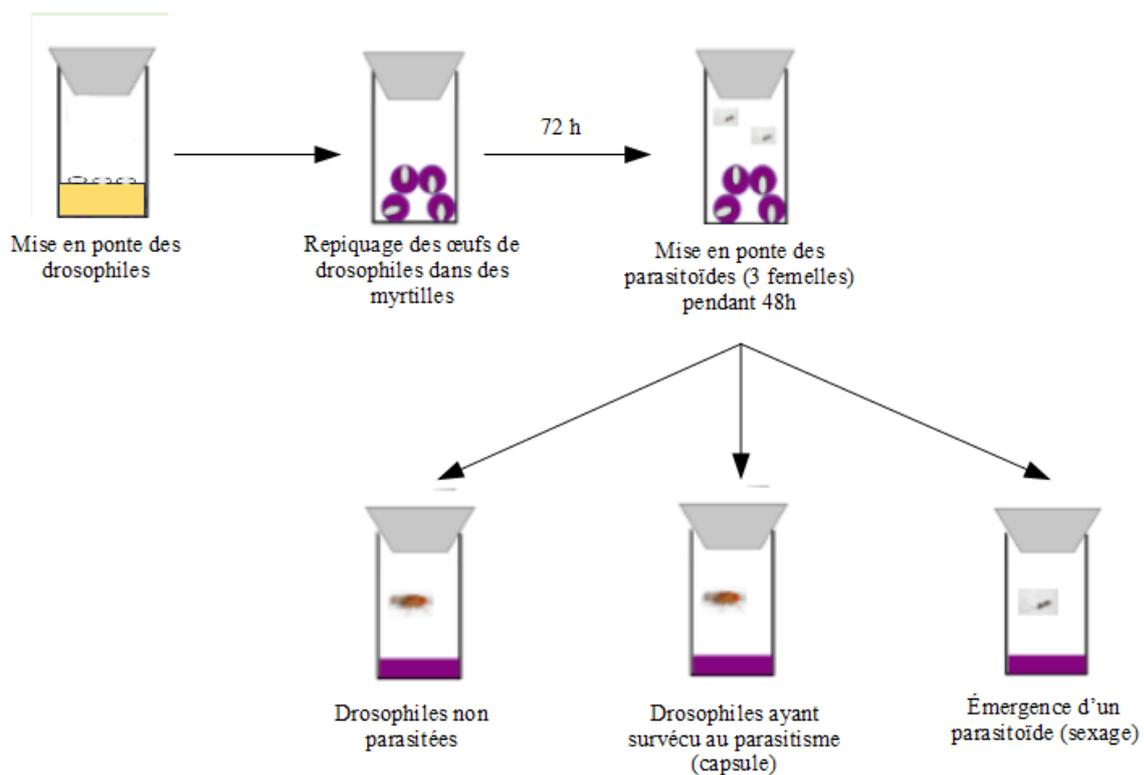


Figure 0.1 : Schéma du protocole expérimental utilisé pour l'expérience 1

## Expérience 2 : Effet de la pression de parasitisme sur la dynamique de diffusion de *Wolbachia* dans des populations en cages de *D. suzukii*

L'objectif de la seconde expérience était d'étudier l'évolution de la prévalence de *Wolbachia* dans une population de *D. suzukii* soumise à une pression de parasitisme. Des populations de *D. suzukii* ont été étudiées en cages expérimentales (21 cm x 21 cm x 21 cm) (Fig. 0.2). Quatorze populations ont été fondées avec initialement 30 mouches femelles fécondées, dont 15 étaient infectées par *wSuz* et 15 étaient non infectées. Dans 7 des 14 cages, une population de *L. japonica* a été introduite. Initialement, dix femelles et cinq mâles *L. japonica* ont été placés dans les cages. La fondation des cages a été étalée sur un mois. Les populations de drosophiles ont été fondées par paire avec et sans parasitoïdes.

Dans les cages expérimentales, deux tubes 175 mL contenant du milieu de ponte ont été placés chaque semaine. Les tubes de milieu de ponte sont restés deux semaines dans les cages. Ce laps de temps permettait aux drosophiles de pondre et aux parasitoïdes de parasiter des hôtes. Deux fois par semaine, les insectes adultes ont été prélevés à l'émergence des tubes, comptés puis remis dans les cages d'origine. Les insectes morts dans les cages ont également été prélevés puis comptés. Les tailles de population de drosophiles et de parasitoïdes dans les cages au temps  $t$  (au grain de la semaine) ont été estimés en ajoutant les émergences et en retirant les morts aux tailles de population estimées au temps  $t-1$ . A partir de ces données, le taux de parasitisme apparent ( $TP_{\text{apparent}}$ ) a été déterminé en calculant le rapport du nombre de parasitoïdes présents dans la cage sur le nombre total de drosophiles et de parasitoïdes. Cet indice a été calculé à partir de 25 jours suivant la mise en place des cages et l'introduction de parasitoïdes. Ce taux indique la pression de parasitisme de *L. japonica* sur les larves de *D. suzukii*. Toutefois, il ne permet pas d'analyser finement le degré d'infestation et le succès parasitaire. Enfin, la fréquence des drosophiles portant des capsules a été estimée à l'arrêt des cages, en écrasant les drosophiles entre deux lames.

Au terme de l'expérience (13 semaines), toutes les drosophiles ont été récupérées et congelées. Pour chaque cage, un échantillon de 30 individus non sexés a été prélevé aléatoirement pour estimer la prévalence de *Wolbachia*. Sa présence a été déterminée pour chaque drosophile. Pour ce faire, l'ADN contenu dans les drosophiles, incluant celui de *Wolbachia*, a été extrait en utilisant un kit QuickExtract (LUCIGEN). Les amorces spécifiques de *Wolbachia* *ftsZ\_F* (5' – TTGCAGAGCTTGGACTTGAA – 3') et *ftsZ\_R* (5' - CATATCTCCGCCACCAGTAA - 3') ont été utilisées pour amplifier le gène *ftsZ* (Baldo et al. 2006). Les PCR ont été réalisées dans un volume de 15  $\mu$ L d'une solution contenant 0.5  $\mu$ M de chaque amorce, 200  $\mu$ M de dNTPs, 1U d'ADN polymérase Taq, 1X de solution tampon (TP bleu) contenant du  $MgCl_2$ , ainsi que 1.2  $\mu$ L d'ADN. Les cycles de PCR se passent dans les conditions de 94°C pour 5 minutes, puis 30 secondes at 94°C, 1 minute at 58°C et 1 minute à 72°C pour 35 cycles et suivis d'une phase de 10 minutes à 72°C et d'un maintien à 14°C.

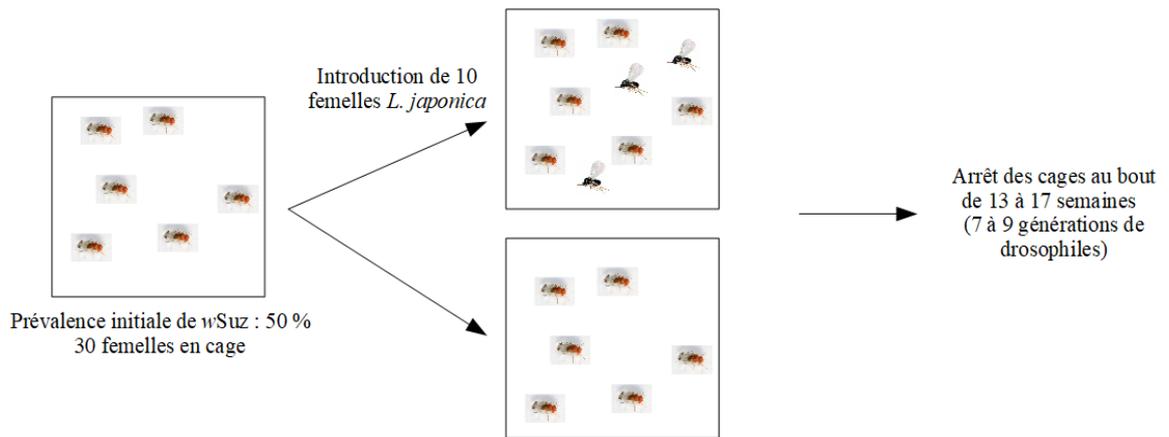


Figure 0.2 : Schéma du protocole expérimental utilisé pour l'expérience 2

## Analyse statistique des résultats

L'analyse statistique des données a été réalisée sur le logiciel R (version 4.3.1). Des modèles linéaires généralisés mixtes ont été utilisés. L'ajustement des modèles aux données a été réalisé avec les fonctions *glmer* ou *glmer.nb* (package lme4). La significativité des variables intégrées dans les modèles statistiques a été obtenue avec la fonction *Anova* (package car) utilisant des tests de Wald. Les paramètres des modèles ont été obtenus à partir de la fonction *summary*. La normalité des résidus issus des variables aléatoires a été vérifiée. Les variables de comptages ont été analysées en considérant en premier lieu une distribution de Poisson. Lorsque les résidus issus de ces précédents modèles présentent une sur-dispersion, les modèles ont été ajustés en considérant une distribution binomiale négative. Les intervalles de confiance à 95% encadrant les prédictions des modèles ont été calculés via la fonction *confint*.

Dans le cas de l'expérience 1, les variables réponses considérées étaient le statut d'infection de *D. sukuzii* à *Wolbachia* ( $W_i$ ,  $i = \{\text{Aposymbiotique, } w\text{Suz, } w\text{Tei ou } w\text{Ha}\}$ ) et l'espèce de parasitoïde ( $P_j$ ,  $j = \{\text{pas de parasitoïdes, } G. \text{brasilienensis, } L. \text{japonica}\}$ ). L'effet de l'interaction entre ces deux variables a été testé ( $W_i \times P_j$ ). Le bloc a été considéré comme une variable aléatoire. Pour le nombre de drosophiles et de parasitoïdes émergents ( $N_d$  et  $N_p$ ), le modèle (1) a été considéré.

$$(1) \log(\mu_{ij}) = \beta_0 + \beta_{1,i} * W_i + \beta_{2,j} * P_j + \beta_{3,ij} * W_i \times P_j + 1|Bloc \quad \text{avec} \\ N_d \text{ ou } N_p \sim P(\mu_{ij}) \text{ et } Bloc \sim N(0, \sigma_b^2)$$

Les indices calculés dans le tableau 2.1 sont des rapports de comptages. Toutefois, la loi de distribution de ces indices n'est pas connue. Afin d'ajuster des modèles linéaires généralisés aux données, les propriétés de la fonction de lien logarithme ont été utilisées pour réaliser l'analyse statistique sur une variable de comptage, au numérateur de l'indice analysé. En contrepartie, un offset a été ajouté au modèle. Il s'agit du logarithme du dénominateur de l'indice analysé. En premier lieu, l'effet du statut d'infection des drosophiles a été testé sur la valeur de  $N_0$  (2). Des offsets ont été intégrés dans la modélisation du degré d'infestation (3), du succès parasitaire (4). Pour les modèles suivants, l'indice  $j$  ( $P_j$ ) correspond à l'espèce de parasitoïde, *G. brasilienensis* ou *L. japonica*. Pour analyser le succès des défenses immunitaires des drosophiles, le nombre de capsules observées a été rapporté au nombre estimé de larves parasitées ( $N_0 - N_d + N_{cap}$ ). Des tests exacts de Fisher ont été conduits pour déterminer si le nombre de capsules observées diffère entre les drosophiles aposymbiotiques et les drosophiles infectées par *Wolbachia*.

$$(2) \log(\mu_i) = \beta_0 + \beta_{1,i} * W_i + 1|Bloc \quad \text{avec } N_0 \sim P(\mu_{ij}) \text{ et } Bloc \sim N(0, \sigma^2_b)$$

$$(3) \eta_{ij} = \log(\mu_{ij}) = \beta_0 + \beta_{1,i} * W_i + \beta_{2,j} * P_j + \beta_{3,ij} * W_i \times P_j + 1|Bloc + \log(N_0)$$

$$\text{avec } N_d \sim P(\mu_{ij}) \text{ et } Bloc \sim N(0, \sigma^2_b)$$

$$\eta_{ij} = \log\left(\frac{\mu_{ij}}{N_0}\right) = \log(1 - DI_{ij}) = \beta_0 + \beta_{1,i} * W_i + \beta_{2,j} * P_j + \beta_{3,ij} * W_i \times P_j + 1|Bloc$$

$$(4) \log(\mu_{ij}) = \beta_0 + \beta_{1,i} * W_i + \beta_{2,j} * P_j + \beta_{3,ij} * W_i \times P_j + 1|Bloc + \log(N_0 - N_d)$$

$$\text{avec } N_p \sim P(\mu_{ij}) \text{ et } Bloc \sim N(0, \sigma^2_b)$$

$$\eta_{ij} = \log\left(\frac{\mu_{ij}}{N_0 - N_d}\right) = \log(SP_{ij}) = \beta_0 + \beta_{1,i} * W_i + \beta_{2,j} * P_j + \beta_{3,ij} * W_i \times P_j + 1|Bloc$$

Concernant l'expérience 2, l'étude de la prévalence  $p$  de *wSuz* dans les populations en cage de *D. suzukii* a été basée sur un modèle linéaire généralisé utilisant une fonction de lien logit (4). L'effet de la présence de *L. japonica* sur la prévalence de *wSuz* a été testé avec le facteur  $P_i$  ( $i$  correspondant à la présence ou l'absence de *L. japonica*). La Population $_j$  (population de la  $j^e$  cage,  $j=\{1 : 7\}$ ) a été considérée comme une variable à effet fixe. Les hypothèses suivantes ont été posées : (H0) la présence de *L. japonica* ne modifie pas la prévalence de *wSuz* ( $\forall i, j / \beta_{1,i} = \beta_{1,ij} = 0$ ), (H1) il existe une sélection des drosophiles selon leur statut d'infection à *Wolbachia* en présence de *L. japonica* ( $\beta_{1,1} \neq \beta_{1,2}, \forall i, j / \beta_{1,ij} = 0$ ), (H2) *L. japonica* modifie la prévalence de *wSuz* de façon aléatoire ( $\exists i, j / \beta_{1,ij} \neq 0$ ). La comparaison de prévalence entre les différentes modalités a été réalisées à partir de tests de contrastes obtenues à partir de la fonction *emmeans* (package *emmeans*) utilisant des tests de Tukey.

$$(4) \text{logit}(p_{ij}) = \beta_0 + \beta_{1,i} * P_i + \beta_{1,j} * Population_j + \beta_{1,ij} * P_i \times Population_j$$

$$\text{avec } N \text{ drosophiles infectées par } wSuz \sim B(n, p)$$

Pour finir, l'évolution du taux de parasitisme apparent ( $TP_{\text{apparent}}$ ) dans les cages a été modélisée en fonction du temps. Deux groupes homogènes de cages ont été identifiés. Dans les cages 1, 5 et 6, le  $TP_{\text{apparent}}$  a été modélisé avec une régression linéaire en fonction du temps. Pour les cages 2, 3, 4 et 7, le  $TP_{\text{apparent}}$  a été modélisé avec une régression linéaire en fonction du temps jusqu'à un seuil maximal. La fonction *nls* (package *nlme*) et *lm* ont été utilisées pour ajuster les modèles aux données. Le nombre de drosophiles émergentes ( $N_d$ ) a été étudié à partir de 5 semaines suivant le lancement des Populations et

jusqu'à l'arrêt de celles-ci (5). La Population et le Temps ont été considérées comme des variables aléatoires.

$$(5) \log(\mu_{ijk}) = \beta_0 + \beta_{1,i} * P_i + 1|Population_j + 1|Temps_k$$

avec  $N_d \sim B(n, p)$  et  $Population_j, Temps_k \sim N(0, \sigma^2_b)$

## Résultats

### Expérience 1 : Effet du statut d'infection à *Wolbachia* des drosophiles sur la variabilité du succès parasitaire de parasitoïdes larvaires

Le nombre moyen de drosophiles à l'émergence des tubes sans parasitoïdes,  $N_0$ , était de  $14 \pm 6$  drosophiles, quel que soit le statut d'infection (Tab.3). Par conséquent, le nombre de drosophiles moyen utilisé pour calculer les différents indices du tableau 2 était uniforme pour l'ensemble des tubes exposés à des parasitoïdes.

Une différence significative est observée entre les deux espèces de parasitoïdes pour le nombre moyen de drosophiles émergentes (Tab.3, Fig.1). Le nombre moyen de drosophiles émergentes des tubes exposés à *L. japonica* était compris entre 2 et 3 pour un écart-type de 2 à 3 drosophiles. La présence de *L. japonica* a induit une diminution significative de 81% du nombre de drosophiles émergentes. Dans les tubes exposés à *G. brasiliensis* GT, le nombre de drosophiles émergentes n'était pas diminué significativement par rapport aux tubes témoins sans parasitoïdes. Pour *G. brasiliensis* (GT), entre 12 et 13 drosophiles ont émergé en moyenne des tubes avec un écart-type de 6 drosophiles. Aucun effet de l'interaction entre l'espèce de parasitoïdes et le statut d'infection des drosophiles n'a été observé (Tab.3). Aucun effet du statut d'infection des drosophiles n'a été montré sur le nombre de drosophiles émergentes (Tab.3).

Le degré d'infestation des drosophiles était significativement différent entre *G. brasiliensis* et *L. japonica* (Tab.3). En effet, le degré d'infestation moyen des drosophiles par *G. brasiliensis* GT était de 0%. Pour *L. japonica*, le degré d'infestation moyen des drosophiles était de 79%. Autrement dit, les prédictions du modèle montrent qu'un très faible nombre de drosophiles ont été tuées par *G. brasiliensis*. En revanche, *L. japonica* a tué plus des trois quarts des larves disponibles. Aucune interaction entre l'espèce de parasitoïde et le statut d'infection des drosophiles n'a été montrée (Tab.3). Aucun effet du statut d'infection des drosophiles n'a été constaté (Tab.3).

Très peu de capsules ont été observées chez les drosophiles parmi l'ensemble des émergents (Tab.4). Le succès d'encapsulation moyen était de 0.005%. Parmi les drosophiles exposées au parasitoïde *G. brasiliensis* GT, des capsules ont été observées uniquement lorsque les drosophiles étaient infectées par *wSuz* et *wHa*. La proportion de capsules chez les drosophiles parasitées n'était pas significativement différente entre souches aposymbiotiques et *wSuz* (Test exact de Fisher,  $p = 0.32$ ) ou

wHa (Test exact de Fisher,  $p = 0.27$ ). Pour les tubes exposés à *L. japonica*, une seule capsule a été observé dans une drosophile infectée par wHa sans toutefois différer significativement des drosophiles aposymbiotiques (test exact Fisher,  $p = 1$ ). Par ailleurs, les réactions immunitaires des drosophiles ont affecté *G. brasiliensis* et *L. japonica* différemment. Sans considération du statut d'infection, les succès d'encapsulation moyens de *G. brasiliensis* et de *L. japonica* étaient de 0.001% et 0.009%, respectivement. wHa et wSuz ont induit une réaction d'encapsulation des drosophiles significativement plus forte contre *G. brasiliensis* par rapport à *L. japonica* (Test exact de Fisher,  $p = 0.008$  et  $p = 0.0008$ , respectivement). La même observation a été faite concernant wSuz (Test exact de Fisher,  $p = 0.0006$ ). Finalement, les réactions immunitaires des drosophiles n'ont pas permis de faire face au parasitisme des deux espèces de parasitoïdes.

Le nombre de parasitoïdes émergents différait significativement entre les deux espèces utilisées (Tab.3, Fig.2). Le nombre moyen de *L. japonica* émergents par tube d'expérience était compris entre 3 et 4. Pour *G. brasiliensis* GT, le nombre moyen d'émergents par tube était compris entre 0 et 1. Le sex-ratio de *L. japonica* n'a pas été modifié selon le statut d'infection des drosophiles parasitées (Tab.3). Le sex-ratio était compris entre 13% et 44% de mâles ( $\chi^2 = 7.7647$ , ddl = 3,  $p = 0.7731$ ). Le statut d'infection des drosophiles n'a pas modifié significativement le nombre de parasitoïdes émergents (Tab.3). Aucune interaction entre l'espèce de parasitoïde et le statut d'infection des drosophiles n'a été observée (Tab.3).

Le succès parasitaire n'était pas significativement différent entre les deux espèces de parasitoïdes (Tab.3). En moyenne, le succès parasitaire de *L. japonica* était de 58%. Parmi les larves parasitées, 58% ont donné en moyenne un parasitoïde. Parmi les larves parasitées par *G. brasiliensis* (GT), 13% ont donné en moyenne un parasitoïde. Aucun effet n'a été montré ni du statut d'infection des drosophiles ni de son interaction avec l'espèce de parasitoïde.

Tableau 3 : Résultats de significativité des variables testées dans les modèles linéaires généralisés mixtes proposés

Variable Réponse	Variable explicative	LR (ddl)	p-value
$N_0$	$W$	4.3133 (3)	0.23
	$W$	7.8181 (3)	0.05
$N_d$	$P$	53.4163 (2)	3e-12
	$P \times W$	4.0288 (6)	0.67
DI	$W$	6.4075 (3)	0.093
	$P$	36.4214 (2)	2e-09
	$P \times W$	2.8708 (3)	0.41
$N_p$	$W$	6.9796 (3)	0.073
	$P$	18.5136 (1)	1.7e-05
	$P \times W$	5.1286 (3)	0.16
SP	$W$	5.2756 (3)	0.15
	$P$	0.0000 (1)	0.99
	$P \times W$	5.0486 (3)	0.17
Sex-ratio de <i>L. japonica</i>	$W$	7.7647 (3)	0.051

Tableau 4 : Nombre de capsules observées rapportées à l'estimation du nombre total de drosophiles parasitées ( $N_0 - N_d + N_{cap}$ )

	<i>Ganaspis brasiliensis</i> (GT)	<i>Leptopilina japonica</i>
Aposymbiotique	0 / 25	0 / 161
wSuz	5 / 68	0 / 224
wHa	3 / 36	1 / 249
wTei	0 / 101	0 / 237

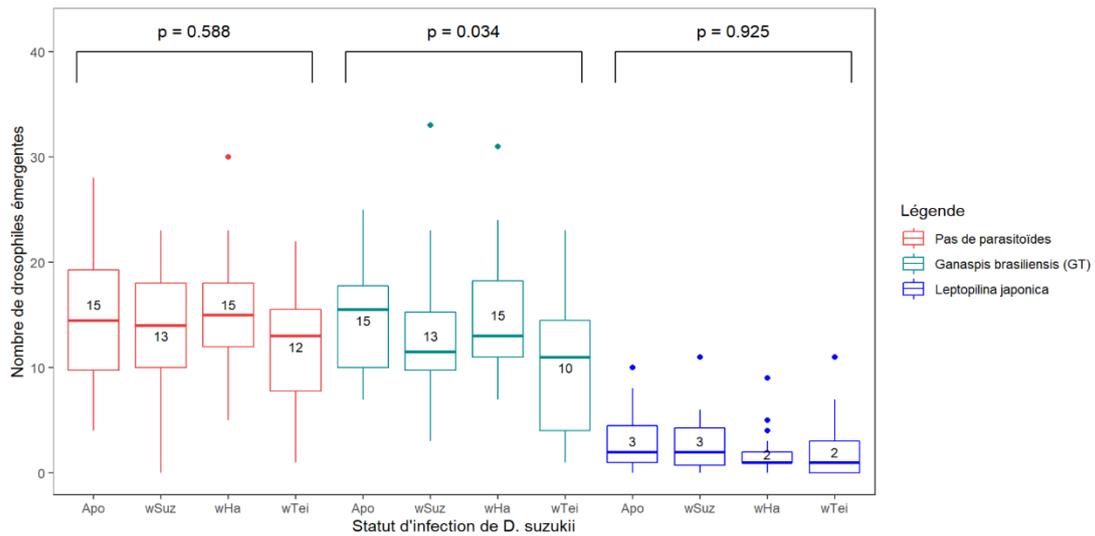


Figure 1 : Nombre de drosophiles émergentes des tubes avec ou sans parasitoïdes larvaires pour chaque statut d'infection à *Wolbachia* (Apo : aposymbiotique, souches wSuz, wHa et wTei). Les p-values affichées sont obtenues en testant l'effet du statut d'infection des drosophiles pour chaque modalité de parasitisme. Dans les boxplots, la moyenne de chaque groupe est affichée.

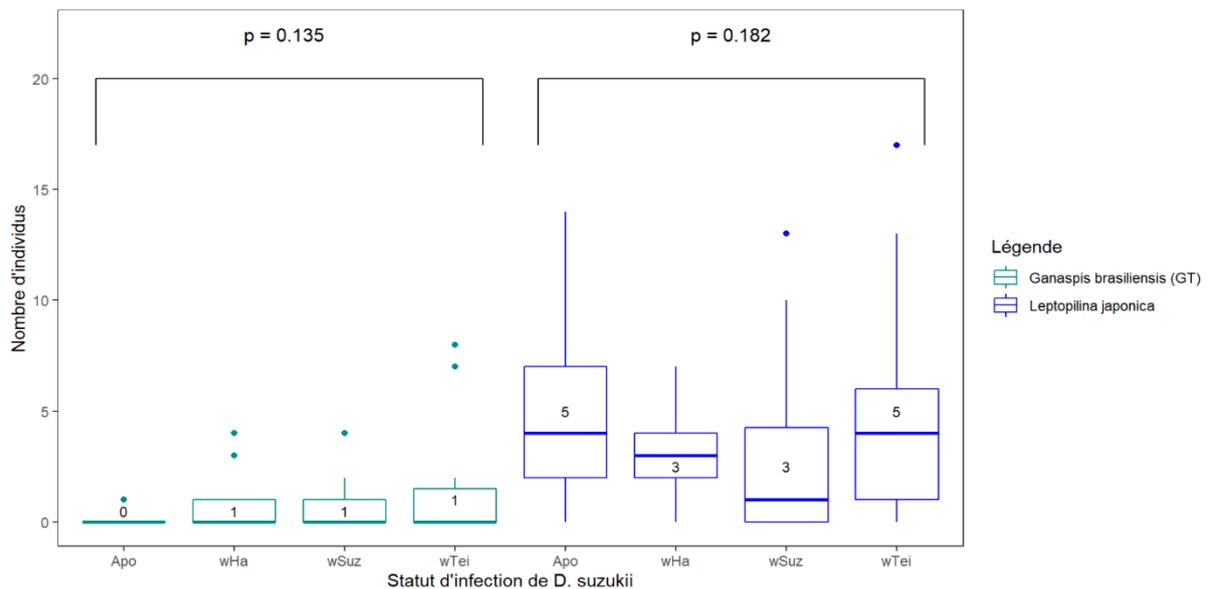


Figure 2 : Nombre de parasitoïde émergents des pupes de drosophiles de chaque statut d'infection à *Wolbachia* (Apo : aposymbiotique, souches wSuz, wHa et wTei). Les p-values affichées sont obtenues en testant l'effet du statut d'infection des drosophiles pour chaque modalité de parasitisme. Dans les boxplots, la moyenne de chaque groupe est affichée.

## Expérience 2 : Effet de la pression de parasitisme sur la dynamique de diffusion de *Wolbachia* dans des populations en cages de *D. sukukii*

L'interaction entre les populations de *D. sukukii* et la présence de *L. japonica* a significativement décrit les variations de prévalence de wSuz (Tab.4, Fig.3). L'hypothèse (H2) est donc conservée. Parmi les populations de drosophiles exposées aux parasitoïdes, la prévalence de wSuz a évolué différemment. Une différence significative entre la population 6 et les autres populations a été observée. Il semblait exister une tendance des populations 2 et 3 à avoir une prévalence plus élevée que les populations 3, 4, 5 et 7 sans que cela n'ait été significatif. Parmi les populations non exposées aux parasitoïdes, aucune différence de prévalence de wSuz n'a été observée.

La prévalence de la souche wSuz a été modifiée significativement par la présence du parasitoïde *L. japonica* (Tab.4, Fig.3). Dans les cages sans parasitoïdes, la prévalence moyenne était de 74% avec un intervalle de confiance à 95% dans [0.65 : 0.82]. Dans les cages avec parasitoïdes, la prévalence moyenne était de 55% avec un intervalle de confiance à 95% dans [0.35 : 0.75]. Aucun effet des Populations n'a été observé.

Dans toutes les cages mises en place, l'évolution du TP<sub>apparent</sub> a admis une phase de croissance linéaire (Annexes 4, 5). Dans les cages 1, 5 et 6, le TP<sub>apparent</sub> a augmenté de 0.3% par jour. Cet indice est resté en dessous de 30% au bout de 70 jours. Dans les cages 2, 3, 4 et 7, le TP<sub>apparent</sub> a augmenté de 0.9% par jour. Dans ces mêmes cages, le TP<sub>apparent</sub> a atteint un seuil maximal de 70% au bout de 71 jours.

Le nombre de drosophiles émergentes était significativement différent entre les cages avec ou sans *L. japonica* (Tab.4, Fig.4). Dans les cages sans parasitoïdes, le nombre moyen de drosophiles émergentes était de  $189 \pm 110$  par semaine. Dans le cas des cages exposées aux parasitoïdes, le nombre moyen de drosophiles émergentes était de  $34 \pm 49$  par semaine. Aucune drosophile portant une capsule n'a été observée à l'arrêt des cages sur l'ensemble des drosophiles présentes (Tab.5).

Tableau 4 : Résultats de significativité des variables testées dans les modèles linéaires généralisés mixtes proposés. Les tests de significativité sont réalisés avec des tests de Wald utilisant une loi du  $\chi^2$ . La fonction Anova (package car) a été utilisé sur R.

Variable réponse	Variable explicative	LR (ddl)	p-value
Prévalence de <i>wSuz</i>	Parasitoïde	12.466 (1)	0.0004
	Population	11.093 (6)	0.085
	Parasitoïde x Population	20.968 (6)	0.002
$N_d$	Parasitoïde	89.343 (1)	< 2e-16

Tableau 5 : Fréquence d'encapsulation de *Leptopilina japonica* par *Drosophila suzukii* dans des cages expérimentales.

Cage	Nombre de capsule / Nombre de drosophiles
2	0 / 66
3	0 / 138
4	0 / 112
5	0 / 180
6	0 / 462
7	0 / 118

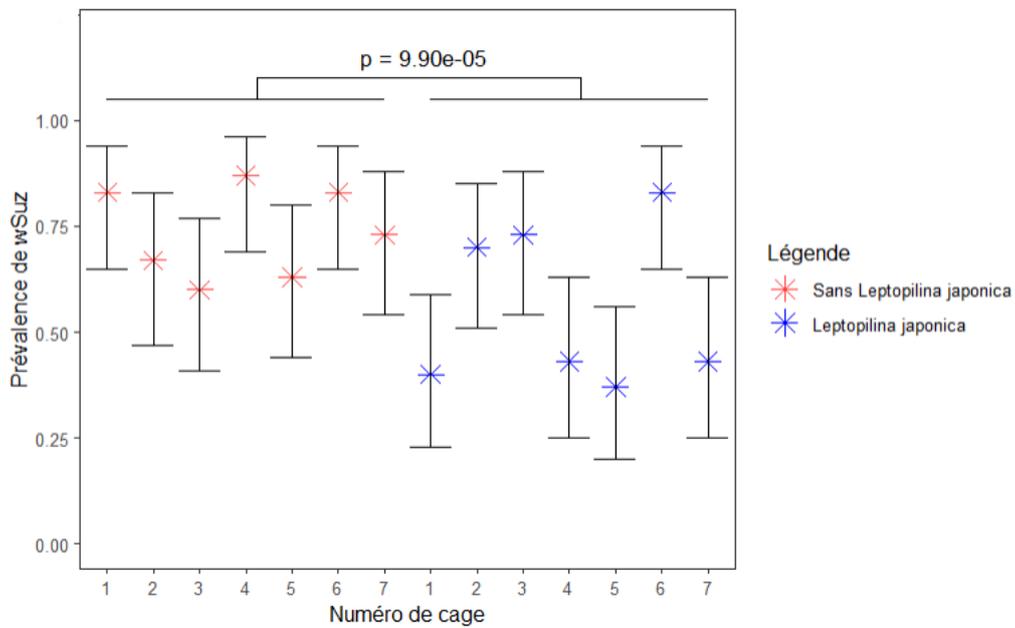


Figure 3 : Prévalence de wSuz dans les cages à population de *Drosophila suzukii* en présence ou non de *Leptopilina japonica*. La comparaison des cages avec et sans parasitoïdes a été réalisée avec un modèle linéaire généralisé mixte implémenté avec une distribution binomiale et une fonction de lien logit. Chaque prévalence estimée est représentée avec un intervalle de confiance théorique de 95% calculé à partir d'une distribution binomiale.

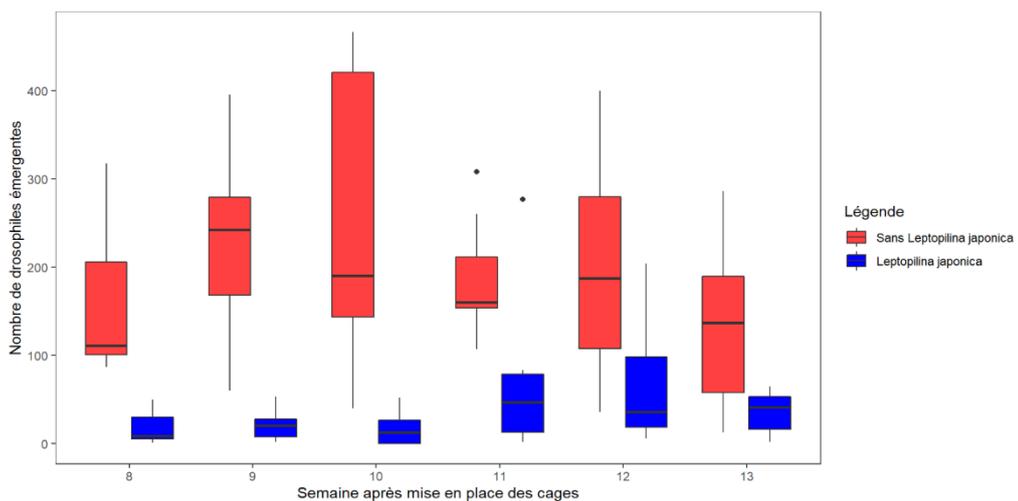


Figure 4 : Nombre de *Drosophila suzukii* émergentes dans les cages exposées ou non à *Leptopilina japonica*. L'analyse commence 8 semaines après l'introduction des populations de drosophiles et de parasitoïdes dans les cages expérimentales.

## Discussion

Ce mémoire visait à évaluer l'influence de trois souches de *Wolbachia* sur les capacités de *D. suzukii* à résister à deux espèces de parasitoïdes larvaires, *G. brasiliensis* et *L. japonica*. Certains éléments montrent la nécessité d'étudier l'effet des souches *wSuz*, *wHa* et *wTei* sur l'immunité de *D. suzukii*. Tout d'abord, des études précédentes ont montré que la souche *wSuz* peut induire une résistance des drosophiles aux virus ARN (Cattell et al. 2016). Bien que les mécanismes sous-jacents ne soient pas bien élucidés, les interrelations entre les différentes voies immunitaires montrent l'intérêt de tester l'effet de *wSuz* sur l'immunité de *D. suzukii* contre les parasitoïdes (Eleftherianos et al. 2021). De plus, les souches *wTei* et *wHa* ont été trans-infectées chez *D. suzukii* et de telles « introductions » peuvent induire des modifications des capacités immunitaires de *D. suzukii*, notamment en augmentant la concentration en hémocytes (Hughes et al. 2011; Pigeault et al. 2014). Or, la concentration de ces cellules immunitaires est corrélée à la capacité des drosophiles à résister aux parasitoïdes (Kacsoh & Schlenke 2012). Ainsi, la première expérience évalue l'effet de ces trois souches de *Wolbachia* sur les capacités de *D. suzukii* à résister à *G. brasiliensis* et *L. japonica*. Si ces souches sont effectivement protectrices / sensibilisantes pour les drosophiles, il est attendu une augmentation / diminution de la fréquence d'observation des encapsulations d'œufs de parasitoïdes. Pour les parasitoïdes, le succès parasitaire serait en conséquence baissé / augmenté.

L'étude précisant les relations hôtes-parasitoïdes est difficile puisqu'elle demande une observation continue des parasitoïdes afin d'identifier les larves parasitées. La complexité de cette méthode pousse à trouver une alternative, utilisée dans l'expérience 1 de ce mémoire (Boulétreau & Wajnberg 1986). La quantité de larves de drosophiles disponibles pour le parasitisme est déterminée par la quantité moyenne de drosophiles émergentes des tubes sans parasitoïdes. Cette méthode est intéressante lorsque la mortalité pré-nymphale des drosophiles est faible et constante. La nécessité d'utiliser des fruits frais pour la ponte des femelles *G. brasiliensis* tout en contrôlant le nombre de larves de drosophiles disponibles a conduit au développement d'une méthode de repiquage des œufs de drosophiles sur myrtilles fraîches. Dans l'expérience 1, une forte mortalité pré-nymphale a été observée avec un taux de perte de l'ordre de 70% des œufs placés dans les myrtilles. L'absence de larves L3 mortes suggère une mortalité des œufs ou bien des premiers stades larvaires. La manipulation des œufs a certainement provoqué une diminution de leur viabilité. Afin de diminuer la manipulation des œufs, d'autres méthodes pourraient être envisagées. Les femelles drosophiles pourraient pondre directement sur des myrtilles. Les œufs, visibles par les tubes respiratoires sortant du fruit, pourraient être comptés et leur nombre ajusté en perçant les œufs avec une épingle fine. Une telle méthode aurait l'avantage de limiter la mortalité des œufs et de se rapprocher au plus près des conditions de ponte de *G. brasiliensis* dans les élevages. Toutefois, une telle méthode est très complexe à mettre en place.

Tout d'abord, la première expérience a montré que les trois souches de *Wolbachia* ne modifient pas les capacités de *D. suzukii* à se défendre contre *L. japonica*. En effet, la mortalité des drosophiles

provoquée par *L. japonica* est égale entre les souches aposymbiotiques et les souches infectées par *Wolbachia*. Par ailleurs, l'absence de capsules, notamment chez la souche aposymbiotique, montre que les capacités immunitaires de *D. suzukii* ne sont pas suffisantes pour résister à *L. japonica*. A plus large échelle, aucune drosophile présentant des capsules n'a été retrouvée dans les cages expérimentales, soulignant la rareté du succès des mécanismes de défenses physiologiques de *D. suzukii* contre *L. japonica*. Enfin, le taux de parasitisme des drosophiles par *L. japonica* est identique entre les quatre souches. Cette variable n'a pas été calculée pour *L. japonica* car dans le cas d'un faible nombre de capsules observées, le degré d'infestation équivaut au taux de parasitisme. Les femelles *L. japonica* ne semblent pas modifier leur activité de ponte selon la présence de *Wolbachia* chez les larves de drosophiles. Ce résultat est cohérent avec les tests de non-choix effectués sur d'autres espèces de parasitoïdes (Oliver et al. 2003; Martinez et al. 2012).

*Wolbachia* peut limiter la capacité des femelles parasitoïdes à produire une descendance, traduit par une diminution du succès parasitaire (Martinez et al. 2012). D'une part, les mécanismes d'encapsulation limitent le succès parasitaire en détruisant les œufs de parasitoïdes. Comme dit précédemment, *Wolbachia* ne modifie pas les capacités d'encapsulation des drosophiles. Toutefois, une mortalité des larves du parasitoïde ayant réussies à éclore peut également survenir, notamment à cause d'une compétition pour les ressources avec *Wolbachia* (Paredes et al. 2016). Dans ce dernier cas, plus la larve de parasitoïde est tuée tardivement, plus les dommages pour la drosophile sont grands, pouvant conduire à sa mort (Mateos et al. 2016). L'absence d'effet de *Wolbachia* sur le succès parasitaire de *L. japonica* suggère qu'une telle compétition ne s'exprime pas ou au moins ne modifie pas significativement le fitness des larves de parasitoïdes. Pour finir, l'étude du succès parasitaire peut être biaisé lorsqu'il existe du super-parasitisme. En effet, le super-parasitisme peut induire une mort prématurée des larves de drosophiles et donc des larves de parasitoïdes (Devescovi et al. 2017). Dans les cas de super-parasitisme, il existe une compétition entre les larves mâles et femelles de parasitoïdes. Cette compétition est dirigée en faveur des mâles, impliquant une augmentation du sex-ratio (Mills 2009). Ce dernier cas n'est pas observé dans l'expérience 1 indiquant l'absence ou un effet très faible de super-parasitisme.

L'expérience 1 n'a pas fonctionné sur *G. brasiliensis* (souche GT) puisque les femelles n'ont pas pondu. En effet, le degré d'infestation des drosophiles est presque nul bien qu'il s'agisse d'un parasitoïde s'attaquant à *D. suzukii* dans la nature, avec un taux de parasitisme de l'ordre de 20% à 60% (Seehausen et al. 2020; Girod et al. 2018b). Les femelles de cette souche sont très sélectives du substrat de ponte ; les larves de drosophiles doivent être positionnées sur des fruits frais et fermes. Le stade larvaire des drosophiles a été uniformisé autour du stade L2 pour être optimal à la ponte de ce parasitoïde (Wang et al. 2018). La température (22°C) et l'humidité relative (>60%) étaient optimales pour leur ponte. D'autres critères favorisant la ponte des femelles de cette souche de parasitoïde restent inconnus. Il est finalement difficile au terme de cette expérience de conclure à un effet de *Wolbachia* sur les

capacités immunitaires des drosophiles contre *G. brasiliensis* GT. L'observation de plusieurs drosophiles portant des capsules peut faire penser à un effet protecteur de *Wolbachia*. Ces chiffres sont à mettre en relation avec le faible nombre de drosophiles parasitées.

Chez les espèces du genre *Leptopilina* et *Ganaspis*, les mécanismes de virulence ciblent les lamellocytes et limitent la capacité de formation de capsules (Rizki & Rizki 1990; Chiu et al. 2001). Toutefois, les VLP (virus like proteins) intervenant dans les mécanismes de virulence de ces deux genres sont différents (Di Giovanni et al. 2020). La différence dans les mécanismes de virulence entre *L. japonica* et *G. brasiliensis* rend impossible l'extrapolation des résultats d'un parasitoïde à l'autre. L'effet des endosymbiontes protecteurs sur les mécanismes de résistance des hôtes aux parasitoïdes est très dépendant de l'espèce de parasitoïde considérée (Mateos et al. 2016). Toutefois, *L. japonica* et *G. brasiliensis* sont des parasitoïdes spécifiques de *D. suzukii*. Les mécanismes de virulence de ces deux espèces de parasitoïdes peuvent leur permettre d'échapper aux mécanismes de défenses immunitaires de *D. suzukii*. Il existe effectivement une co-évolution entre les mécanismes de défenses immunitaires des hôtes et les mécanismes de virulence des parasitoïdes (Kraaijeveld et al. 1998). Par ailleurs, les parasitoïdes peuvent être adaptés à la présence d'endosymbiontes protecteurs (Vorburger 2022; Dion et al. 2011). Dans cette étude, la souche *Wolbachia* naturellement présente chez *D. suzukii*, *wSuz*, a été utilisée. Il est donc difficile de savoir si cette souche ne modifie pas globalement les capacités immunitaires de *D. suzukii* face aux parasitoïdes prenant en compte de potentielles adaptations de *L. japonica* et *G. brasiliensis* à cette souche. Pour finir, les souches de *Wolbachia* trans-infectées peuvent stimuler les défenses immunitaires des drosophiles. Toutefois, aucune résultante ne peut être observée dans les relations drosophiles – parasitoïdes si les mécanismes de défenses des drosophiles ne leur permettent pas d'échapper aux parasitoïdes. Un potentiel effet de *wHa* et *wTei* serait donc plus visible sur des espèces à faible virulence chez *D. suzukii* comme *L. boulardi* ou *L. heterodoma*.

Les résultats de l'expérience 1 sont utiles pour comprendre la dynamique d'invasion de *Wolbachia* dans les populations de *D. suzukii*. Des populations de drosophiles ont donc été développées dans des cages avec ou sans parasitoïdes. Une première barrière était de fonder une communauté d'hôtes et de parasitoïdes en milieu contrôlé dans des cages expérimentales. Un premier risque était l'extinction des populations de drosophiles. La différence de durée de développement a permis aux populations de drosophiles de s'établir en premier. Par ailleurs, des drosophiles émergentes ont toujours émergé malgré la forte pression de parasitisme, notamment grâce à un taux de parasitisme inférieur à 100%. L'établissement des populations de *L. japonica* n'était pas évident non plus. Dans le cas de fortes densités de larves de drosophiles, une compétition peut s'exercer entre les larves non parasitées et parasitées. Cette compétition peut conduire à la mort des larves parasitées et donc une difficulté d'établissement des populations de parasitoïdes (White et al. 2007).

L'expérience 2 est focalisée sur l'invasion de la souche *wSuz*. Celle-ci se maintient dans les populations naturelles de *D. suzukii* par l'induction de résistance aux virus ARN (Julien Cattel et al. 2016). Contrairement aux modèles d'invasion considérant des souches de *Wolbachia* incompatibles, *wSuz* ne produit pas d'incompatibilité cytoplasmique lors des croisements avec des drosophiles aposymbiotiques. Les modèles d'invasion de *Wolbachia* considèrent son coût sur des paramètres démographiques, telle la fécondité, comme un frein. Dans la Nature, le taux de transmission vertical de *Wolbachia* est inférieur à 100%, limitant aussi l'efficacité de l'invasion. Les températures froides peuvent également limiter le taux de transmission maternelle de *Wolbachia* (Hague et al. 2020). Toutefois, *wSuz* n'induit pas de coûts physiologiques pour les drosophiles ; la fécondité et la longévité sont identiques entre les drosophiles aposymbiotiques et celles portant *wSuz*. De plus, dans les conditions climatiques de l'expérience, à température constante de 22°C, le taux de transmission vertical de *wSuz* est supposé de 100%. La présence de *L. japonica* est le seul facteur pouvant influencer la dynamique d'invasion de *wSuz*.

Tout d'abord, il peut exister une sélection des drosophiles portant *wSuz* en présence de ce parasitoïde, impliquant l'observation d'une différence entre les cages avec et sans parasitoïdes (Hypothèse H1). Parmi les cages exposées à *L. japonica*, l'évolution de la prévalence serait uniforme (Hypothèse H1). Cette sélection peut être directe si cette souche stimule les défenses immunitaires de *D. suzukii* contre *L. japonica*. *wSuz* peut être sélectionnée si elle est protectrice des drosophiles ou contre-sélectionnée si les drosophiles sont rendues sensibles aux attaques de *L. japonica*. Ces mécanismes de sélection se traduiraient par une augmentation/diminution générale de la prévalence de *wSuz* dans les populations de *D. suzukii* soumises à *L. japonica*. Par ailleurs, dans les cages mises en place, les femelles parasitoïdes ont le choix entre les larves de drosophiles aposymbiotiques ou celles infectées par *wSuz*. Il est mentionné dans la littérature scientifique des adaptations du comportement de ponte des parasitoïdes selon la présence d'endosymbiontes chez leur hôte. Dans le cas de symbiontes protecteurs, les femelles pondent plus d'œufs dans les hôtes infectées, maximisant les chances de survie d'au moins un parasitoïde (Oliver et al. 2012). Ce phénomène peut limiter l'effet de sélection des hôtes portant des endosymbiontes protecteurs. D'autant plus qu'une mortalité prématurée des drosophiles pourrait être observée à cause du coût provoqué par le parasitisme, malgré la présence d'un endosymbionte protecteur (Xie et al. 2011). Ainsi, à la rareté des cas d'encapsulation de œufs/larves de *L. japonica*, peut s'ajouter une mortalité des drosophiles survivantes du parasitisme. La conséquence est l'absence de drosophiles adultes portant une capsule à l'arrêt des cages expérimentales. Enfin, la sélection peut être indirecte si *Wolbachia* modifie le comportement fouisseur des larves de drosophiles. Ce type de comportement pourrait permettre aux larves de drosophiles d'échapper au parasitisme. Toutefois, l'hypothèse H1 est rejetée, ce qui exclue de tels mécanismes de sélection des drosophiles selon la présence de *wSuz*.

L'hypothèse H2 n'a pas été rejetée en raison de l'existence d'un effet significatif de l'interaction entre la présence de *L. japonica* et la population de drosophiles. Contrairement aux cages sans parasitoïdes, la prévalence de *wSuz* n'a pas évolué de façon homogène en présence de *L. japonica* ; la prévalence de *wSuz* est augmentée dans certaines cages et diminuée dans d'autres. Il est possible que la présence d'un parasitoïde, en diminuant la taille de population de *D. suzukii*, crée un goulot d'étranglement aboutissant à la sélection aléatoire des larves de drosophiles. Ces processus aléatoires matérialisés à de faibles densités de population de drosophiles peuvent impliquer de fortes modifications de la prévalence des souches de *Wolbachia*. Par ailleurs, les parasitoïdes peuvent faciliter l'invasion de souches de *Wolbachia* produisant une forte incompatibilité cytoplasmique. En diminuant les tailles de population, les parasitoïdes réduisent la compétition intraspécifique chez les larves de drosophiles qui est considérée comme un frein majeur à l'invasion de *Wolbachia* dans les populations hôtes.

## Conclusion et perspectives

Ce mémoire montre que les souches *wSuz*, *wTei* et *wHa* ne modifient pas les capacités immunitaires de *D. suzukii* contre *L. japonica*. Au terme de ce mémoire, aucune conclusion ne peut être formulée pour *G. brasiliensis*. Les femelles de la seule souche disponible de ce parasitoïde n'ont en effet pas pondu dans les expériences menées. Il existait pourtant un grand intérêt à connaître les capacités des drosophiles possédant *wSuz* à résister au parasitoïde *G. brasiliensis*, actuellement en cours d'introduction dans l'environnement dans le cadre d'un programme de lutte biologique par acclimatation. Ces connaissances auraient permis d'évaluer le succès potentiel de la lutte biologique contre le ravageur *D. suzukii*. Pour finir, ce mémoire a permis d'ouvrir les perspectives de combinaison de la TII avec la lutte biologique par acclimatation. Malgré l'absence d'influence de *Wolbachia* sur l'immunité des drosophiles, la présence d'un parasitoïde semble modifier la dynamique d'invasion de cet endosymbionte dans les populations de drosophiles.

Nom et Prénom de l'auteur : **Dubois Benjamin**

Titre du mémoire : **Succès attendu d'un programme de lutte biologique contre *Drosophila suzukii* – effets du polymorphisme au sein du système hôte - parasitoïde**

Ecole d'inscription : **Institut Agro Rennes Angers**

Lieu du stage : **INRAE Agrobiotech, équipe Recherche et Développement en Lutte Biologique (RDLB), 400 Route des Chappes, BP 167, 06903 Sophia Antipolis**

## **Résumé**

*Drosophila suzukii* est un ravageur majeur des productions de petits fruits rouges. La difficulté des producteurs à gérer ce ravageur et la nécessité de limiter l'utilisation d'insecticides encouragent le déploiement de stratégies de lutte biologique. Le parasitoïde larvaire *Ganaspis brasiliensis* est ainsi introduit à partir de 2023 dans l'environnement français. Toutefois, le succès de la lutte biologique peut être limité par la présence de la bactérie endosymbiotique *Wolbachia*, souche *wSuz*, chez *Drosophila suzukii*. Ce mémoire porte également un intérêt aux souches *wHa* et *wTei* qui sont intéressantes dans la réflexion de la gestion de *D. suzukii* par la technique de l'insecte incompatible. D'une part, il est étudié l'influence de ces souches de *Wolbachia* sur les capacités de *D. suzukii* à résister à deux espèces de parasitoïdes larvaires, *G. brasiliensis* et *L. japonica*. Les résultats ne montrent aucun effet de *Wolbachia* ni sur le degré d'infestation des drosophiles ni sur le succès parasitaire de *L. japonica*. Aucune conclusion claire ne peut être formulée concernant *G. brasiliensis*. D'autre part, les cages expérimentales mises en place montrent que la présence de *L. japonica* agit sur la prévalence de la souche *wSuz* dans des populations de *D. suzukii*. L'échantillonnage aléatoire des drosophiles par le parasitoïde à une faible densité de population semble une piste à étudier pour comprendre les dynamiques éco-évolutives endosymbiontes – hôtes.

**Mots clés** : lutte biologique, *Wolbachia*, *Drosophila suzukii*, parasitoïdes larvaire

## **Abstract**

*Drosophila suzukii* is a major pest of red berry production. Growers' difficulties in managing this pest and the need to limit the use of insecticides are encouraging the deployment of biological control strategies. The larval parasitoid *Ganaspis brasiliensis* will be introduced into the French environment from 2023. However, the success of biological control may be limited by the presence of the endosymbiotic *Wolbachia* bacterium, *wSuz* strain, in *Drosophila suzukii*. This thesis also focuses on the *wHa* and *wTei* strains, which are of interest when considering the management of *D. suzukii* using the incompatible insect technique. On the one hand, the influence of these *Wolbachia* strains on the ability of *D. suzukii* to resist two species of larval parasitoids, *G. brasiliensis* and *L. japonica*, is studied. The results show no effect of *Wolbachia* either on the degree of infestation of *Drosophila* or on the parasitic success of *L. japonica*. No clear conclusions can be drawn concerning *G. brasiliensis*. On the other hand, the experimental cages set up show that the presence of *L. japonica* affects the prevalence of the *wSuz* strain in *D. suzukii* populations. Random sampling of *Drosophila* by the parasitoid at low population density could be an avenue worth exploring to understand endosymbiont-host eco-evolutionary dynamics.

**Key words**: biological control, *Wolbachia*, *Drosophila suzukii*, larval parasitoids

## Annexes

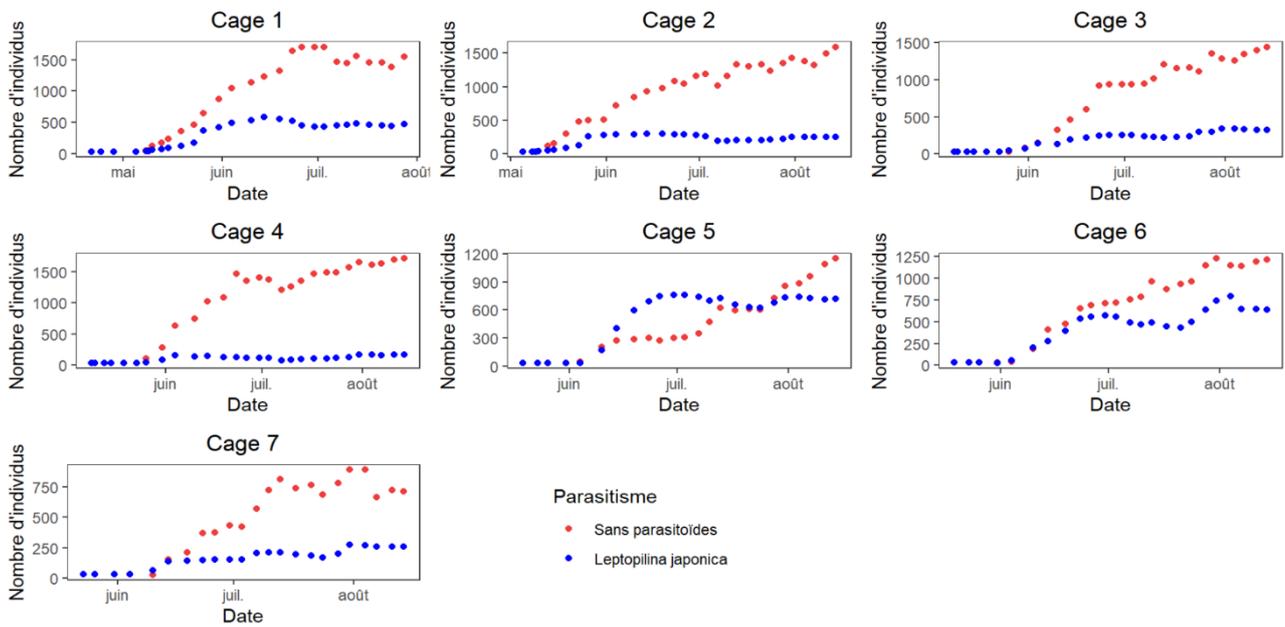
Annexe 1 : Photo de *Drosophila suzukii* ayant encapsulé un parasitoïde larvaire



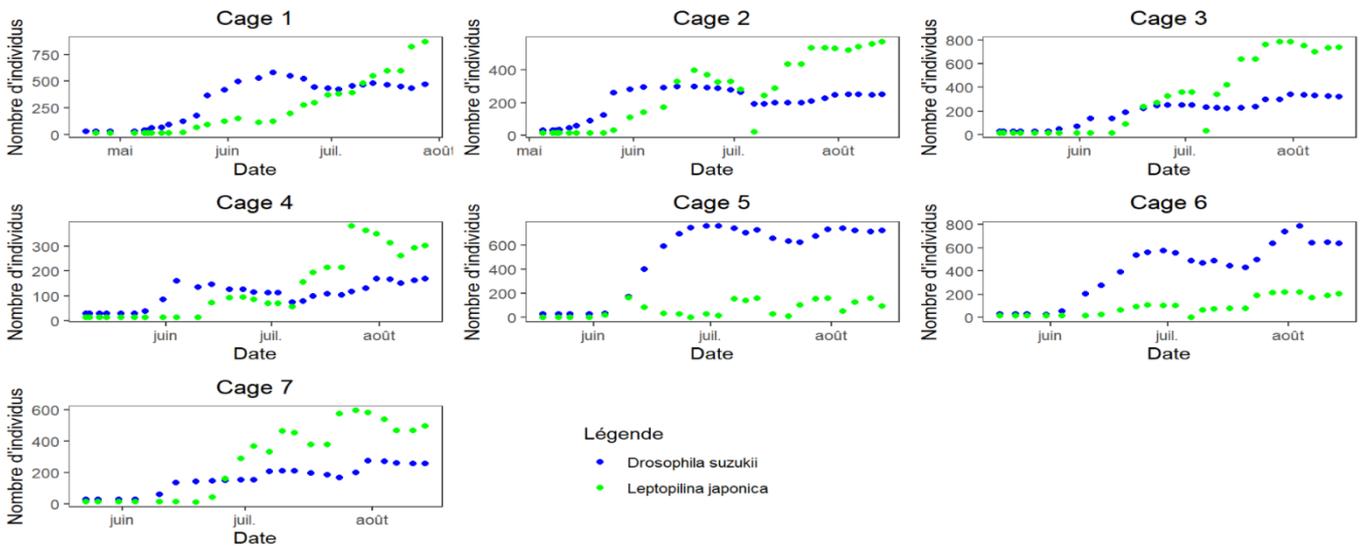
Annexe 2 : Photo d'une population de *D. suzukii* en cage expérimentale (13 semaines)



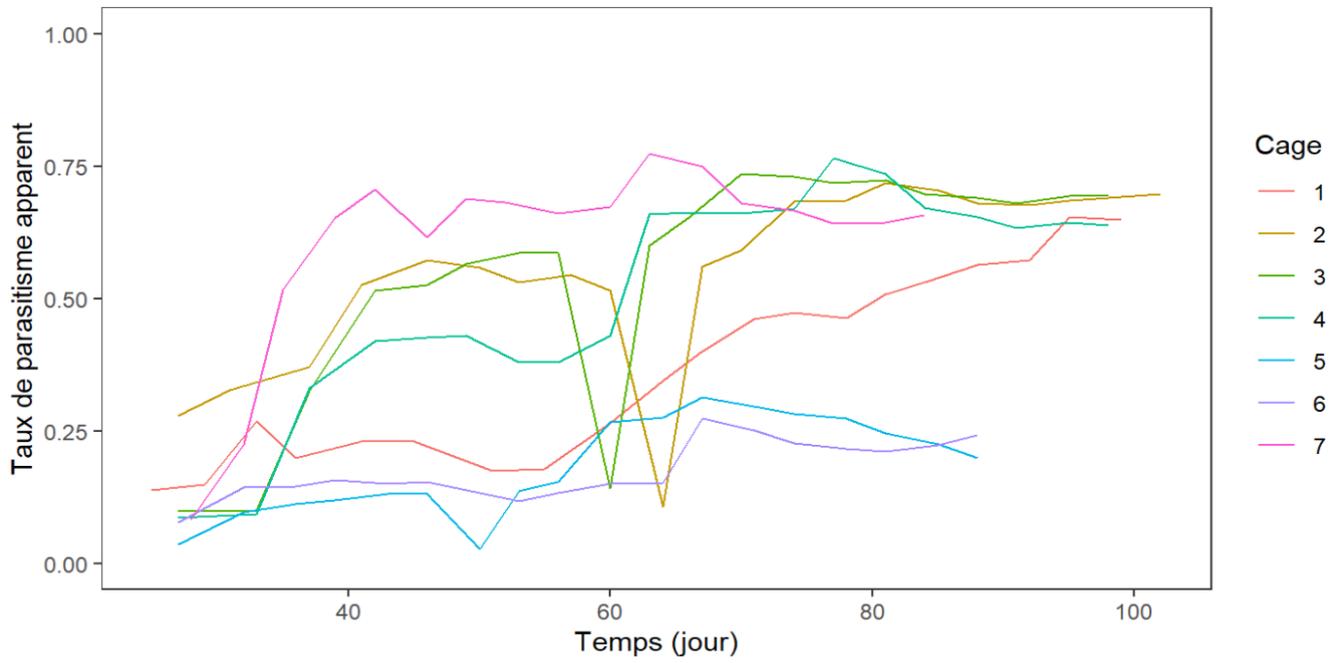
Annexe 3 : Dynamique des populations de *D. sukuzii* exposées ou non à *L. japonica*



Annexe 4 : Dynamique des populations de *D. sukuzii* et de *L. japonica*



Annexe 5 : Evolution du taux de parasitisme apparent dans les populations de *D. sukii* exposées à *L. japonica*



## Bibliographie

- Asplen MK, Anfora G, Biondi A, Choi D-S, Chu D, Daane KM, Gibert P, Gutierrez AP, Hoelmer KA, Hutchison WD, Isaacs R, Jiang Z-L, Kárpáti Z, Kimura MT, Pascual M, Philips CR, Plantamp C, Ponti L, Véték G, Vogt H, Walton VM, Yu Y, Zappalà L, Desneux N (2015) Invasion biology of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*): a global perspective and future priorities. *Journal of Pest Science* 88:469–494
- Auguste A, Ris N, Belgaidi Z, Kremmer L, Mouton L, Fauvergue X (2023) Insect population dynamics under *Wolbachia* -induced cytoplasmic incompatibility: puzzle more than buzz in *Drosophila suzukii*. *Ecology*
- Blackwood JC, Vargas R, Fauvergue X (2018) A cascade of destabilizations: Combining *Wolbachia* and Allee effects to eradicate insect pests Cuddington, K, editor. *Journal of Animal Ecology* 87:59–72
- Bolda MP, Goodhue RE, Zalom FG (2010) Spotted Wing *Drosophila*: Potential Economic Impact of a Newly Established Pest.
- Boulétreau M, Wajnberg E (1986) Comparative responses of two sympatric parasitoid cynipids to the genetic and epigenetic variations of the larvae of their host, *Drosophila melanogaster*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 41:107–114
- Cattel J (2016) Utilisation des bactéries *Wolbachia* pour lutter contre une espèce invasive et ravageur de cultures, *Drosophila suzukii*. phdthesis, Université de Lyon
- Cattel Julien, Kaur R, Gibert P, Martinez J, Fraimout A, Jiggins F, Andrieux T, Siozios S, Anfora G, Miller W, Rota-Stabelli O, Mouton L (2016) *Wolbachia* in European Populations of the Invasive Pest *Drosophila suzukii*: Regional Variation in Infection Frequencies. *PloS one* 11:e0147766
- Cattel J., Martinez J, Jiggins F, Mouton L, Gibert P (2016) *Wolbachia* -mediated protection against viruses in the invasive pest *Drosophila suzukii*: *Wolbachia and antiviral protection in D. suzukii*. *Insect Molecular Biology* 25:595–603
- Chandler JA, James PM, Jospin G, Lang JM (2014) The bacterial communities of *Drosophila suzukii* collected from undamaged cherries. *PeerJ* 2:e474
- Chiu H, Sorrentino R, Govind S (2001) Suppression of the *Drosophila* Cellular Immune Response by *Ganaspis xanthopoda*. *Advances in experimental medicine and biology* 484:161–7
- Chrostek E, Marialva MSP, Esteves SS, Weinert LA, Martinez J, Jiggins FM, Teixeira L (2013) *Wolbachia* Variants Induce Differential Protection to Viruses in *Drosophila melanogaster*: A Phenotypic and Phylogenomic Analysis. *PLOS Genetics* 9:e1003896
- Colautti RI, Ricciardi A, Grigorovich IA, MacIsaac HJ (2004) Is invasion success explained by the enemy release hypothesis? *Ecology Letters* 7:721–733
- Daane KM, Wang X-G, Biondi A, Miller B, Miller JC, Riedl H, Shearer PW, Guerrieri E, Giorgini M, Buffington M, van Achterberg K, Song Y, Kang T, Yi H, Jung C, Lee DW, Chung B-K, Hoelmer KA, Walton VM (2016) First exploration of parasitoids of *Drosophila suzukii* in South Korea as potential classical biological agents. *Journal of Pest Science* 89:823–835
- Devescovi F, Bachmann GE, Nussenbaum AL, Viscarret MM, Cladera JL, Segura DF (2017) Effects of superparasitism on immature and adult stages of *Diachasmimorpha longicaudata* Ashmead

(Hymenoptera: Braconidae) reared on *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of Entomological Research* 107:756–767

Di Giovanni D, Lepetit D, Guinet B, Bennetot B, Boulesteix M, Couté Y, Bouchez O, Ravallec M, Varaldi J (2020) A behavior-manipulating virus relative as a source of adaptive genes for *Drosophila* parasitoids. *Molecular Biology and Evolution* 37:2791–2807

Dion E, Zélé F, Simon J-C, Outreman Y (2011) Rapid evolution of parasitoids when faced with the symbiont-mediated resistance of their hosts. *Journal of Evolutionary Biology* 24:741–750

Dobson SL, Fox CW, Jiggins FM (2002) The effect of *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility on host population size in natural and manipulated systems. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 269:437–445

Eleftherianos I, Heryanto C, Bassal T, Zhang W, Tettamanti G, Mohamed A (2021) Haemocyte-mediated immunity in insects: Cells, processes and associated components in the fight against pathogens and parasites. *Immunology* 164:401–432

Emiljanowicz LM, Ryan GD, Langille A, Newman J (2014) Development, reproductive output and population growth of the fruit fly pest *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on artificial diet. *Journal of Economic Entomology* 107:1392–1398

Fauvergue X, Rusch A, Barret M, Bardin M, Jacqui-Joly E, Malausa T, Lanou C (2020) Biocontrôle. Elements pour une protection agroécologique des cultures. Quae. Versailles

Fraimout A, Debat V, Fellous S, Hufbauer RA, Foucaud J, Pudlo P, Marin J-M, Price DK, Cattel J, Chen X, Deprá M, François Duyck P, Guedot C, Kenis M, Kimura MT, Loeb G, Loiseau A, Martinez-Sañudo I, Pascual M, Polihronakis Richmond M, Shearer P, Singh N, Tamura K, Xuéreb A, Zhang J, Estoup A (2017) Deciphering the Routes of invasion of *Drosophila suzukii* by Means of ABC Random Forest. *Molecular Biology and Evolution* 34:980–996

Gard B, Panel A, Labbetoul A, Bosshard N, Xuéreb A, Cariou B, Debelle A, Oliva C, Fellous S (2023) The Sterile Insect Technique can efficiently reduce the reproduction of the spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*) in strawberry.

Gimmi E, Wallisch J, Vorburger C (2023) Defensive symbiosis in the wild: Seasonal dynamics of parasitism risk and symbiont-conferred resistance. *Molecular Ecology* 32:4063–4077

Giorgini M, Wang X-G, Wang Y, Chen F-S, Hougardy E, Zhang H-M, Chen Z-Q, Chen H-Y, Liu C-X, Cascone P, Formisano G, Carvalho GA, Biondi A, Buffington M, Daane KM, Hoelmer KA, Guerrieri E (2019) Exploration for native parasitoids of *Drosophila suzukii* in China reveals a diversity of parasitoid species and narrow host range of the dominant parasitoid. *Journal of Pest Science* 92:509–522

Girod P, Borowiec N, Buffington M, Chen G, Fang Y, Kimura MT, Peris-Felipo FJ, Ris N, Wu H, Xiao C, Zhang J, Aebi A, Haye T, Kenis M (2018a) The parasitoid complex of *D. suzukii* and other fruit feeding *Drosophila* species in Asia. *Scientific Reports* 8:11839

Girod P, Borowiec N, Buffington M, Chen G, Fang Y, Kimura MT, Peris-Felipo FJ, Ris N, Wu H, Xiao C, Zhang J, Aebi A, Haye T, Kenis M (2018b) The parasitoid complex of *D. suzukii* and other fruit feeding *Drosophila* species in Asia. *Scientific Reports* 8:11839

Hague MTJ, Mavengere H, Matute DR, Cooper BS (2020) Environmental and Genetic Contributions to Imperfect wMel-Like *Wolbachia* Transmission and Frequency Variation. *Genetics* 215:1117–1132

Hamm CA, Begun DJ, Vo A, Smith CCR, Saelao P, Shaver AO, Jaenike J, Turelli M (2014) *Wolbachia* do not live by reproductive manipulation alone: infection polymorphism in *Drosophila suzukii* and *D. subpulchrella*. *Molecular Ecology* 23:4871–4885

Hancock PA, Sinkins SP, Godfray HCJ (2011) Population Dynamic Models of the Spread of *Wolbachia*. *The American Naturalist* 177:323–333

Hochstrasser M (2022) Cytoplasmic incompatibility: A *Wolbachia* toxin–antidote mechanism comes into view. *Current Biology* 32:R287–R289

Hoffmann AA, Turelli M (1997) Cytoplasmic incompatibility in insects.

Hsiao TH (1996) Studies of interactions between alfalfa weevil strains, *Wolbachia* endosymbionts and parasitoids. 53:51–72

Hughes GL, Koga R, Xue P, Fukatsu T, Rasgon JL (2011) *Wolbachia* Infections Are Virulent and Inhibit the Human Malaria Parasite *Plasmodium Falciparum* in *Anopheles Gambiae*. *PLOS Pathogens* 7:e1002043

Kacsoh BZ, Schlenke TA (2012) High Hemocyte Load Is Associated with Increased Resistance against Parasitoids in *Drosophila suzukii*, a Relative of *D. melanogaster*. *PLOS ONE* 7:e34721

Kenis M, Tonina L, Eschen R, van der Sluis B, Sancassani M, Mori N, Haye T, Helsen H (2016) Non-crop plants used as hosts by *Drosophila suzukii* in Europe. *Journal of Pest Science* 89:735–748

Kikuchi Y (2009) Endosymbiotic Bacteria in Insects: Their Diversity and Culturability. *Microbes and environments / JSME* 24:195–204

Kraaijeveld AR, Van Alphen JJ, Godfray HC (1998) The coevolution of host resistance and parasitoid virulence. *Parasitology* 116 Suppl:S29-45

Little CM, Chapman TW, Hillier NK (2020) Plasticity Is Key to Success of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) Invasion. *Journal of Insect Science* 20:5

Martinez J, Duploux A, Woolfit M, Vavre F, O’Neill SL, Varaldi J (2012a) Influence of the virus LbFV and of *Wolbachia* in a host-parasitoid interaction. *PLoS One* 7:e35081

Martinez J, Duploux A, Woolfit M, Vavre F, O’Neill SL, Varaldi J (2012b) Influence of the virus LbFV and of *Wolbachia* in a host-parasitoid interaction. *PLoS One* 7:e35081

Martinez J, Duploux A, Woolfit M, Vavre F, O’Neill SL, Varaldi J (2012c) Influence of the virus LbFV and of *Wolbachia* in a host-parasitoid interaction. *PLoS One* 7:e35081

Martinez J, Ok S, Smith S, Snoeck K, Day JP, Jiggins FM (2015) Should Symbionts Be Nice or Selfish? Antiviral Effects of *Wolbachia* Are Costly but Reproductive Parasitism Is Not. *PLOS Pathogens* 11:e1005021

Mateos M, Winter L, Winter C, Higareda V, Martínez-Romero E, Xie J (2016) Independent origins of resistance or susceptibility of parasitic wasps to a defensive symbiont. *Ecology and Evolution* 6:n/a-n/a

Mazzetto F, Gonella E, Alma A (2015) *Wolbachia* infection affects female fecundity in *Drosophila suzukii*. *Bulletin of Insectology*

- McNeill M, Richards N, White J, Laugraud A (2014) Hidden arsenal: Endosymbionts in arthropods, their role and possible implications for biological control success. *New Zealand Plant Protection* 67:204–212
- Mills N (2009) Chapter 190 - Parasitoids. In: *Encyclopedia of Insects (Second Edition)*. Resh, VH & Cardé, RT, editors. Academic Press, San Diego pp. 748–751.
- Moran NA, Russell JA, Koga R, Fukatsu T (2005) Evolutionary relationships of three new species of Enterobacteriaceae living as symbionts of aphids and other insects. *Applied and environmental microbiology* 71:3302–3310
- Nikolouli K, Sassù F, Mouton L, Stauffer C, Bourtzis K (2020) Combining sterile and incompatible insect techniques for the population suppression of *Drosophila suzukii*. *Journal of Pest Science* 93:647–661
- Oliva C, Mouton L, Colinet H, Debelle A, Gibert P, Fellous S (2020) Principes, mise en œuvre et perspectives de la technique de l'insecte stérile. In: *Biocontrôle. Elements pour une protection agroécologique des cultures*. Versailles.
- Oliver KM, Russell JA, Moran NA, Hunter MS (2003) Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:1803–1807
- Papanastasiou SA, Rodovitis VG, Verykouki E, Bataka EP, Papadopoulos NT (2021) Adaptation of an Invasive Pest to Novel Environments: Life History Traits of *Drosophila suzukii* in Coastal and Mainland Areas of Greece during Overwintering. *Biology* 10:727
- Paredes JC, Herren JK, Schüpfer F, Lemaitre B (2016) The Role of Lipid Competition for Endosymbiont-Mediated Protection against Parasitoid Wasps in *Drosophila*. *mBio* 7:e01006-16
- Pigeault R, Braquart-Varnier C, Marcadé I, Mappa G, Mottin E, Sicard M (2014) Modulation of host immunity and reproduction by horizontally acquired *Wolbachia*. *Journal of Insect Physiology* 70:125–133
- Polturat B, Trottin Y, Gallia V, Ginez A (2018) Projet *Drosophila suzukii* : connaissance du ravageur, caractérisation du risque et évaluation de méthodes de protection.
- Poyet M, Havard S, Prevost G, Chabrierie O, Doury G, Gibert P, Eslin P (2013) Resistance of *Drosophila suzukii* to the larval parasitoids *Leptopilina heterotoma* and *Asobara japonica* is related to haemocyte load. *Physiological Entomology* 38:45–53
- Rizki RM, Rizki TM (1990) Parasitoid virus-like particles destroy *Drosophila* cellular immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87:8388–8392
- Rota-Stabelli O, Blaxter M, Anfora G (2013) *Drosophila suzukii*. *Current Biology* 23:R8–R9
- Schwemmler W (1980) Endocytobiosis: general principles. *Bio Systems* 12:111–122
- Seehausen ML, Ris N, Driss L, Racca A, Girod P, Warot S, Borowiec N, Toševski I, Kenis M (2020a) Evidence for a cryptic parasitoid species reveals its suitability as a biological control agent. *Scientific Reports* 10:19096
- Serbus L, Casper-Lindley C, Landmann F, Sullivan W (2008) The Genetics and Cell Biology of *Wolbachia* -Host Interactions. *Annual review of genetics* 42:683–707

- Turelli M, Hoffmann AA (1991) Rapid spread of an inherited incompatibility factor in California *Drosophila*. *Nature* 353:440–442
- Vorburger C (2022) Defensive Symbionts and the Evolution of Parasitoid Host Specialization. *Annual Review of Entomology* 67:329–346
- Wang X-G, Nance AH, Jones JML, Hoelmer KA, Daane KM (2018) Aspects of the biology and reproductive strategy of two Asian larval parasitoids evaluated for classical biological control of *Drosophila suzukii*. *Biological Control* 121:58–65
- Werren JH (1997) Biology of *Wolbachia*. *Annual Review of Entomology* 42:587–609
- White SM, Sait SM, Rohani P (2007) Population Dynamic Consequences of Parasitised-Larval Competition in Stage-Structured Host-Parasitoid Systems. *Oikos* 116:1171–1185
- Xie J, Tiner B, Vilchez I, Mateos M (2011) Effect of the *Drosophila* endosymbiont *Spiroplasma* on parasitoid wasp development and on the reproductive fitness of wasp-attacked fly survivors. *Evolutionary ecology* 53:1065–1079
- Yen JH, Barr AR (1971) New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in *Culex pipiens* L. *Nature* 232:657–658
- Zug R, Hammerstein P (2015) *Wolbachia* and the insect immune system: what reactive oxygen species can tell us about the mechanisms of *Wolbachia*–host interactions. *Frontiers in Microbiology* 6