
Développement d'une méthode de type "attract and kill" dans le cadre d'une stratégie de lutte biologique contre *Drosophila suzukii*

Auteur : Parent, Rémy

Promoteur(s) : Verheggen, François

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : sciences agronomiques, à finalité spécialisée

Année académique : 2022-2023

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/18346>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

**DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE DE TYPE
« ATTRACT-AND-KILL » DANS LE CADRE D'UNE
STRATEGIE DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE
*DROSOPHILA SUZUKII***

REMY PARENT

TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER BIOINGENIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES

ANNEE ACADEMIQUE 2022-2023

(CO)-PROMOTEUR(S): FRANÇOIS VERHEGGEN
CHLOE GALLAND

© Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique¹ de Gembloux Agro-Bio Tech.

Le présent document n'engage que son auteur.

1. L'autorité académique est représentée par le(s) promoteur(s) membre du personnel(s) enseignant de GxABT.

**DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE DE TYPE
« ATTRACT-AND-KILL » DANS LE CADRE D'UNE
STRATEGIE DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE
*DROSOPHILA SUZUKII***

REMY PARENT

TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER BIOINGENIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES

ANNEE ACADEMIQUE 2022-2023

(CO)-PROMOTEUR(S): FRANÇOIS VERHEGGEN
CHLOE GALLAND

Remerciements

Je tiens à remercier François VERHEGGEN pour son aide précieuse et ses nombreux conseils tout au long de ce mémoire.

Je remercie également Chloé GALLAND qui a veillé à ce que l'ensemble des expériences se déroulent pour le mieux et qui m'a toujours poussé à aller plus loin dans mes réflexions.

Merci à Brice CHECCONI et Giancarlo BATTAGLIA, deux stagiaires avec qui l'entraide était de mise.

Merci à Fanny RUHLAND, Andrea CHACON, Solène TRAVAILLARD et Clément MARTIN pour leur bienveillance et leur temps consacré aux nombreuses discussions pour la bonne réalisation de mes expériences et de mon mémoire en général.

Merci à l'équipe du laboratoire de mycologie de UCLouvain et en particulier à Ismahen LALAYMA pour m'avoir permis de travailler dans leur laboratoire avec des champignons entomopathogènes.

Je remercie également Emma pour son soutien durant ces 5 années et les nombreuses relectures effectuées pour ce travail.

Un immense merci à ma sœur et mes parents qui m'ont toujours encouragé tout au long de mes études et qui n'ont jamais hésité à me venir en aide lorsque l'occasion se présentait.

Je souhaite enfin remercier toutes les belles rencontres avec qui j'ai passé de superbes moments à l'AG, en particulier aux étudiants du Master Agro. Merci à mes amis Théo, Simon et Valentin pour les innombrables moments passés à rire.

Résumé

Drosophila suzukii Matsumara (Diptera : Drosophilidae) est un ravageur capable de pondre dans les fruits mûrs grâce à son ovipositeur dentelé. En plus des larves qui s'y développent, la cicatrice laissée lors de l'oviposition sur la membrane du fruit est une voie d'entrée pour les infections microbiennes secondaires, empêchant sa commercialisation. Originnaire de l'Asie du Sud-Est, cette drosophile s'est répandue rapidement en Europe et en Amérique du Nord, provoquant des dégâts économiques importants dans les cultures de fruits rouges.

Le levier principal employé pour lutter contre ce ravageur est, depuis des années, l'utilisation de produits phytopharmaceutiques comme les néonicotinoïdes. Les restrictions de plus en plus contraignantes sur l'utilisation de ces produits poussent cependant au développement de méthodes de lutte alternatives durables et respectueuses de l'environnement.

Ce mémoire avait pour objectif de développer une stratégie de lutte biologique « attract-and-kill », méthode associant des sémiochimiques attractives pour l'insecte cible à des microorganismes, capables de les tuer.

L'attractivité de plusieurs sémiochimiques a été testée à l'aide de tests comportementaux à deux choix. Ainsi, la phéromone cis-11-Vaccényl Acétate (cVA) s'est montrée attractive pour les adultes femelles de *D. suzukii*. Malheureusement, aucun effet synergique entre la cVA et les odeurs de fruits rouges n'a été observé.

Trois molécules ont été sélectionnées car elles sont issues d'extrait de fruits rouges. Le linalool et le trans-2-hexenal ont été attractifs tandis que le cis-3-hexen-1-ol n'a pas suscité d'attractivité. Lorsque les trois molécules ont été combinées, elles ont été attractives pour *D. suzukii*.

Les réponses antennaires des adultes de *D. suzukii* à la cVA ont été analysées par électroantennographie. Bien qu'aucune réponse antennaire dose-dépendante n'ait été significativement observée, celle-ci tend à augmenter avec l'élévation de la concentration. Le sexe de la mouche n'a pas eu d'impact sur la réponse antennaire observée.

Finalement, la virulence de quatre souches de champignons entomopathogènes a été évaluée sur les adultes *D. suzukii*. Les souches *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* (souche F52) ont été efficaces pour tuer les adultes *D. suzukii*. Quant aux souches *Metarhizium anisopliae* (souche MUCL6859) et *Lecanicillium lecanii*, elles n'ont pas induit une mortalité significativement différente comparé au témoin.

Abstract

Drosophila suzukii Matsumara (Diptera : Drosophilidae) is a pest able of laying eggs in ripe fruits thanks to its serrated ovipositor. Besides the development of larvae, the scars left on the fruit membrane during oviposition is a pathway for secondary microbial infection, preventing it from being marketable. Native from Southeast Asia, this drosophila has spread rapidly in Europe and North America, causing major economic damage to soft fruit crops. For years, various plant protection products such as neonicotinoids have been effective in controlling these pests. However, the increasingly restrictive legislation on the use of these products encourages the need to develop sustainable and environmentally friendly alternative control methods. This master thesis aims to develop a biological control strategy called « attract-and-kill », a method involving semiochemicals associating with microorganisms able to kill them.

The attractiveness of several semiochemicals has been tested using two-choice behavioral tests. The pheromone cis-11-Vaccenyl Acetate (cVA) was attractive for adult female *D. suzukii*. Unfortunately, no synergistic effect was observed when combined with red fruit odours.

Three molecules have been selected because they are derived from red fruit extract. Linalool and trans-2-hexenal were attractive, while cis-3-hexen-1-ol was not. When combined, the three molecules were attractive to *D. suzukii*.

The antennal responses of *D. suzukii* adults to cVA were also analysed by electroantennography. Although a dose-dependent antennal response was not significantly observed, it appeared to increase with higher concentration. The fly's sex had no effect on antennal response.

Then, the virulence of four strains entomopathogenic fungi was evaluated on *D. suzukii* adults. *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (strain F52) were effective in killing *D. suzukii* adults. *Metarhizium anisopliae* (strain MUCL6859) and *Lecanicillium lecanii* did not induce significantly different mortality compared to the control.

Liste des abréviations

- **cVA** : cis-11-Vaccényl Acétate
- **CEP** : Champignon Entomopathogène
- **COV** : Composé Organique Volatil
- **EAG** : ElectroAntennoGraphie

Table des matières

1	Synthèse bibliographique	1
1.1	Contexte	1
1.2	<i>Drosophila suzukii</i>	1
1.2.1	Introduction	1
1.2.2	Diversité et description morphologique	2
1.2.3	Répartition géographique	2
1.2.4	Cycle biologique et milieu de vie	3
1.2.5	Dynamique saisonnière & limitations climatiques	5
1.2.6	Hôtes	5
1.2.7	Conclusion	6
1.3	La problématique de <i>D. suzukii</i> en agriculture et les méthodes de lutte	7
1.3.1	Impact économique	7
1.3.2	Moyens de lutte	7
2	Objectifs et hypothèses	15
3	Matériels & Méthode	16
3.1	<i>Drosophila suzukii</i>	16
3.2	ATTRACTANTS.....	16
3.2.1	Molécules testées	16
3.3	Tests comportementaux d'attraction (2 choix).....	17
3.3.1	Dispositif expérimental	17
3.3.2	Tests comportementaux – phéromone cis-11-Vaccényl Acétate (cVA)	18
3.3.3	Tests comportementaux - combinaison de la cVA et d'un extrait de fruits rouges	19
3.3.4	Tests comportementaux – molécules de fruits rouges	19
3.3.5	Tests comportementaux – synergie entre les molécules de fruits rouges.....	20
3.4	Electroantennographie.....	20
3.4.1	Système et logiciel & montage de la <i>D. suzukii</i>	20
3.4.2	Dispositif expérimental	21
3.5	Champignons entomopathogènes	22
3.5.1	Traitements	22
3.5.2	Inoculation des champignons entomopathogènes (CEP) sur la diète	22
3.5.3	Test de virulence	23
3.6	Statistiques	23
4	Résultats	25
4.1	Attractivité de la phéromone cis-11-Vaccényl Acétate.....	25
4.2	Attractivité des molécules de fruits rouges	27
4.3	Electroantennographie.....	28
4.4	Evaluation de la virulence des souches de champignons entomopathogènes	29
5	Discussion	31
5.1	Composés organiques volatiles testés	31
5.1.1	La phéromone cis-11-Vaccényl Acétate.....	31
5.1.2	Les molécules extraites de fruits rouges	32
5.2	Les Champignons entomopathogènes	33
6	Conclusion & perspectives	35
7	Références bibliographiques	37
8	Annexes	44

Table des figures

Figure 1. Représentation d'une <i>Drosophila suzukii</i> mâle à gauche (Walsh et al., 2011) et de l'ovipositeur dentelé de la femelle à droite (Hauser, 2011)	2
Figure 2. Répartition de <i>D. suzukii</i> dans le monde (EPPO Global Database, 2023)	3
Figure 3. Cycle de <i>Drosophila suzukii</i> (Galland et al., 2020).....	4
Figure 4. Illustration du comportement de cour chez <i>Drosophila suzukii</i> (Revadi et al., 2015).....	4
Figure 5. Morphes saisonniers et variation de la niche écologique en fonction des saisons (Tait et al, 2021)	5
Figure 6. Comportements sociaux et sexuels de <i>D. melanogaster</i> liés à la phéromone cis-11-Vacényl Acétate (cVA) (Ejima, 2015).....	12
Figure 7. Stratégie « Push-pull » et « Attract and kill » contre <i>D. suzukii</i> (Alkema et al., 2019).....	13
Figure 8. Cycle de vie des <i>D. suzukii</i> dans les tubes d'élevage.....	16
Figure 9. (a) dispositif expérimental utilisé, cage ventilée - (b) boîte de Petri avec papier blanc circulaire en dessous.....	17
Figure 10. (a) Peignes sexuels sur le 1 ^{er} et 2 ^{ème} tarsomères de la patte antérieure du mâle (OEPP/EPPO, 2013) (b) Pupe d'une <i>D. suzukii</i> mâle à gauche et puce d'une <i>D. suzukii</i> femelle à droite	19
Figure 11. Représentation EAG de la réponse antennaire d'un insecte suite à l'application d'un stimulus. La courbe noire correspond au signal émis par l'insecte.....	20
Figure 12. Electroantennographie et ses différents composants avec zoom sur le montage de la tête de <i>D. suzukii</i>	21
Figure 13. (a) Estimation du nombre de conidies de la souche testée - (b) Inoculation de la souche testée sur la boîte de Petri contenant la diète.....	23
Figure 14. Pourcentage des adultes femelles de <i>D. suzukii</i> ayant choisi l'odeur testée (vert) ou le témoin (brun). A droite, pourcentage de choix/non choix pour chaque attractant. Les données sont les résultats de 16 répliques cumulés (N=16).	25
Figure 15. Pourcentage des adultes femelles de <i>D. suzukii</i> ayant choisi la phéromone (vert) ou le témoin (brun) suivant 2 facteurs de l'état physiologique de la mouche ("faim" et "virginité"). A droite, pourcentage de choix/non-choix pour chaque attractant. (N=16).....	26
Figure 16. Pourcentage des adultes femelles de <i>D. suzukii</i> ayant choisi (1) la cVA seule (vert) ou le mélange cVA/extrait de fruits rouges (vert hachuré) (2) l'extrait de fruits rouges seul (noir hachuré) ou le mélange cVA/extrait de fruits rouges (vert hachuré). A droite, pourcentage de choix/non-choix pour chaque test. (N=16)	27

Figure 17. Pourcentage des adultes femelles de <i>D. sukii</i> ayant choisi la molécule (vert) ou le témoin (brun). A droite, pourcentage de choix/non-choix pour chaque attractant. (N=16)	27
Figure 18. Réponses de l'électroantennographie (EAG) en mV de 8 adultes mâles et 8 adultes femelles <i>D. sukii</i> au N,N-diméthylformamide (solvant), à un mélange de vin-vinaigre (60:40), et aux différentes concentrations [$\mu\text{g}/\mu\text{L}$] de la phéromone cVA.	28
Figure 19. Probabilité de survie des adultes <i>D. sukii</i> en fonction du temps après une exposition de 3 heures aux champignons entomopathogènes (CEP), au spinosad (témoin positif) ou à l'eau peptonée (témoin négatif). MUCL8115 = <i>Lecacillium lecanii</i> , MUCL6859 = <i>Metarhizium anisopliae</i> , MUCL 1555 = <i>Beauvaria bassiana</i> et F52 = <i>Metarhizium anisopliae</i>	29
Figure 20. Probabilité de survie des adultes <i>D. sukii</i> en fonction du temps à une exposition continue pendant 10 jours aux champignons entomopathogènes (CEP). témoin = eau peptonée, insecticide = spinosad, MUCL8115 = <i>Lecacillium lecanii</i> , MUCL6859 = <i>Metarhizium anisopliae</i> , MUCL 1555 = <i>Beauvaria bassiana</i> et F52 = <i>Metarhizium anisopliae</i>	30
Figure 21. Modèle vierge d'encodage des résultat des tests comportementaux en cage ventilée à deux choix	44
Figure 22. Modèle vierge d'encodage des résultat des tests de virulence des CEP. Exemple avec la souche MUCL6859 pour les deux durées d'exposition	44

Liste des tableaux

Tableau 1. Ensemble des hôtes de <i>Drosophila suzukii</i> (EPPO Global Database, 2023)	6
Tableau 2. Les différentes catégories de sémiochimiques et leurs effets sur les émetteurs et receveurs (Galland, 2022).....	10
Tableau 3. Présence des 3 composés volatils étudiés dans les extraits de myrtilles, cerises, framboises ou fraises (Abraham et al., 2015). « X » signifie que la molécule est présente et « – » signifie qu'elle n'est pas présente dans l'extrait de fruit.	17
Tableau 4. Combinaison des facteurs (virginité et faim) et de leurs modalités (vierge/non-vierge et affamée/non-affamée) pour les tests comportementaux avec la cVA	18
Tableau 5. Espèces et souches de champignons entomopathogènes dont l'effet biocide a été testé chez <i>D. suzukii</i>	22
Tableau 6. Réponses (moyenne \pm SEM) de l'électroantennographie (EAG) de 16 adultes <i>D. suzukii</i> au N,N-diméthylformamide (solvant), à un mélange de vin-vinaigre (60:40) et aux différentes concentrations [$\mu\text{g}/\mu\text{L}$] de la phéromone cVA.	28

1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Contexte

D'ici 2050, la production alimentaire mondiale doit doubler pour répondre à la croissance démographique et à la diversification des habitudes alimentaires (Commission Européenne, 2017). Depuis 1960, les rendements n'ont cessé d'augmenter. La révolution verte a largement modifié les systèmes agricoles par le développement de la mécanisation, des systèmes d'irrigation, des variétés plus résistantes, la monoculture ou l'utilisation de produits chimiques dont l'objectif était d'accroître considérablement les productions et d'apporter une alimentation plus riche et plus équilibrée (Ickowitz et al., 2020).

Malgré cette intensification, le nombre de personnes sous-alimentées n'a pas diminué proportionnellement depuis les années 1970 de même que pour les personnes souffrant de carences alimentaires (Delcourt, 2023). Cette modification des pratiques agricoles a engendré différentes perturbations sur l'environnement et la santé humaine. En effet, les apports massifs d'intrants chimiques ont eu pour conséquence la hausse de certaines maladies. Même exposé à de faibles concentrations, le système nerveux peut être perturbé par l'altération de la densité des neurotransmetteurs (Cimino et al., 2017). De plus, une diminution de la biodiversité a également été observée du fait de la dispersion élevée et du manque de spécificité des produits utilisés à l'encontre de la cible initialement choisie (Pisa et al., 2015).

En parallèle à l'arrivée de ce nouveau modèle agricole, la mondialisation s'est développée de manière exponentielle permettant le transport de nourritures et de matériaux partout dans le monde. Ces nombreux échanges ont permis l'accroissement de commerces internationaux. Cependant, ils ont impacté négativement le système agricole par la dispersion de ravageurs qui s'adaptent et s'attaquent à de nouveaux territoires et de nouvelles cultures (Bertelsmeier., 2021; Meyerson & Mooney, 2007). De plus, les conséquences du changement climatique rendent possible l'établissement et la propagation de ravageurs dans de nouvelles régions jusqu'alors peu propices à leur développement. Ces insectes acquièrent de nouveaux hôtes et peuvent supplanter les espèces locales, car aucun ennemi naturel n'est présent pour réguler leur propagation (Masters & Norgrove, 2010).

A l'heure où l'intensification prime pour répondre aux besoins alimentaires d'une population mondiale toujours grandissante, un deuxième objectif s'impose à nos systèmes agricoles. En effet, une gestion plus durable, plus performante et plus respectueuse de l'environnement doit être mise en place. Pour ce faire, plusieurs stratégies sont étudiées (Schreinemachers & Tipraqsa, 2012). La gestion intégrée des cultures est une de ces alternatives et fait partie du sujet de nos recherches. Nous nous pencherons ici sur le cas de *Drosophila suzukii*, une espèce invasive, sujette à de nombreuses recherches ayant pour objectif le développement de nouvelles stratégies de lutttes biologiques.

1.2 *Drosophila suzukii*

1.2.1 Introduction

Drosophila suzukii est un ravageur qui s'est rapidement répandu sur tous les continents. S'attaquant principalement aux cultures de baies et de petits fruits à peau fine, cet insecte cause d'importants dégâts économiques (Asplen et al., 2015). Originaire de l'Asie du sud-est, le ravageur s'est déplacé

vers l'ouest, menaçant les cultures américaines et européennes (Cini et al., 2012). Cette espèce se différencie des autres Drosophilidae car les femelles pondent sur des fruits mûrs et non des fruits en décomposition. Les larves se nourrissent alors du fruit, empêchant leur commercialisation. Cette ponte, possible grâce à l'ovipositeur dentelé de la femelle, blesse le fruit, ce qui facilite l'entrée des infections fongiques ou bactériennes (Walsh et al., 2011).

1.2.2 Diversité et description morphologique

L'espèce *D. suzukii* (Matsumara, 1931), aussi appelée la drosophile à ailes tachetées (Spotted Wing Drosophila, SWD) fait partie de la famille des Drosophilidae et de l'ordre des Diptères (Asplen et al., 2015). Bien que n'étant pas un organisme de quarantaine en Europe, cette espèce figure sur la liste d'alerte de l'OEPP (Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes) (Ephytia, 2020).

Les adultes de *D. suzukii* mesurent entre 2 et 3 mm. Leurs thorax et abdomen sont de couleur jaun-brunâtre avec des stries noires sur le premier et dernier segments du tarse, et leurs yeux sont rouges. Ces caractéristiques morphologiques générales ne sont pas exclusives à *D. suzukii*, mais partagées avec d'autres espèces (Walsh et al., 2011).

Le dimorphisme sexuel présent chez *D. suzukii* permet de la différencier de certaines espèces. Le mâle a une tache noire au bout des deux ailes, inexistante chez la femelle (Figure 1). Cette tache noire apparaît 1 à 2 jours après émergence. Cette caractéristique est cependant partagée avec *Drosophila subpulchrella* et *Drosophila biarmipes* (Gompel, 2023). Les mâles ont des peignes sexuels sur le premier tarse et le deuxième segment tarsien, ce qui permet de les sexer dans la puppe (Cini et al., 2012). La femelle *D. suzukii* est légèrement plus grande que le mâle et a un ovipositeur long et étroit muni de petites dents sclérotisées lui donnant une forme dentelée (Figure 1). Cette forme permet à la femelle d'enfoncer l'ovipositeur dans des fruits durs comme les baies mûres, ou les fruits à noyaux. *Drosophila immigrans* et *D. subpulchrella* ont également un ovipositeur dentelé. La reconnaissance morphologique étant complexe, le seul outil fiable à l'identification de *Drosophila suzukii* est une analyse ADN.



Figure 1. Représentation d'une *Drosophila suzukii* mâle à gauche (Walsh et al., 2011) et de l'ovipositeur dentelé de la femelle à droite (Hauser, 2011)

1.2.3 Répartition géographique

Drosophila suzukii est originaire de l'Asie du Sud-Est. Identifiée pour la première fois en 1916 au Japon, c'est en 1931 que l'espèce est décrite par Matsumara qui lui donna son nom (Hauser, 2011). En 1980, *D. suzukii* est détectée à Hawaï. Le ravageur se disperse vers l'Ouest et arrive sur le

continent européen et américain dans les années 2000 (Calabria *et al.*, 2012; Cini, Ioriatti and Anfora, 2012). *D. suzukii* est alors détectée en 2008 sur le sol californien et en 2009 en Floride (Lewald *et al.*, 2021). Ces mêmes années, l'insecte est repéré en Espagne et en Italie. D'autres pays méditerranéens ont ensuite été touchés comme la Croatie, la Slovénie et le Portugal. Rapidement, *D. suzukii* s'est répandue dans toute l'Europe jusqu'à être localisée en 2011 en Angleterre, en Belgique et dans le nord, en Suède. Enfin, le ravageur descend dans le sud-américain et est détecté en 2013 au Mexique, au Brésil et en Argentine, et au Chili en 2014 (Briem *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2011; Asplen *et al.*, 2015). Des études récentes ont montré qu'elle continue à s'étendre, avec notamment son arrivée en Afrique et en Australie, en 2016 et 2017 respectivement (Boughdad *et al.*, 2021).

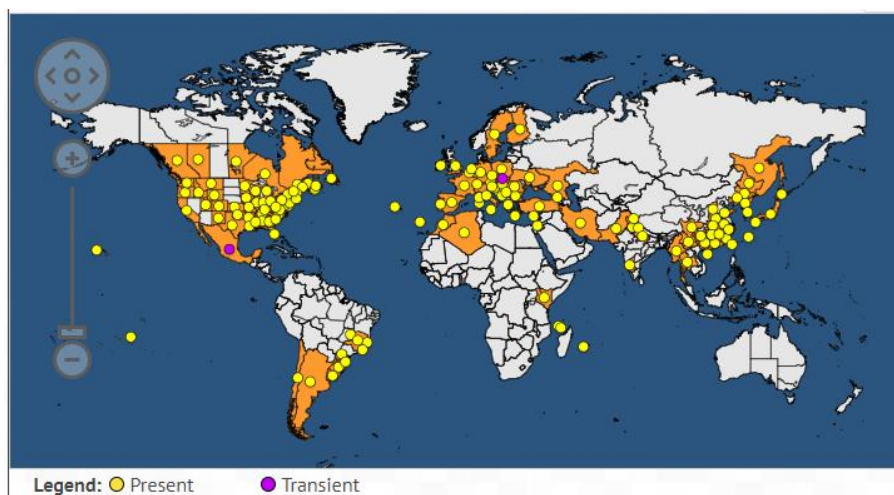


Figure 2. Répartition de *D. suzukii* dans le monde (EPPO Global Database, 2023)

Sa dispersion à travers les continents a été possible grâce aux commerces internationaux. En effet, l'insecte s'est déplacé aux stades larvaire, pupal ou adulte dans les bateaux lors de transport de marchandises. Ce ravageur est polyphage et ne possède pas de prédateurs connus en dehors de l'Asie (Tait *et al.*, 2021).

1.2.4 Cycle biologique et milieu de vie

Cini *et al.* (2012) ont décrit le cycle de vie de *D. suzukii*. Le cycle complet de *D. suzukii* dure en moyenne de 13 à 16 jours, en fonction des conditions climatiques et de la disponibilité en nourriture (Figure 3). L'accouplement peut avoir lieu dès le premier jour de l'émergence de l'adulte. La femelle atteint sa maturité et pond dès le deuxième jour suivant son émergence. Pour cela, la femelle perce, à l'aide de son ovipositeur dentelé, la couche externe du fruit afin de déposer les œufs au niveau de la cicatrice d'oviposition. 1 à 3 œufs translucides de couleur blanc-crème sont déposés par fruit, et ce sur 8 à 16 fruits par jour.

Etant donné que l'adulte vit entre 10 à 60 jours, une femelle pond en moyenne 400 œufs durant son existence. Une fois l'œuf déposé dans le fruit, 2 à 72 heures d'incubation sont nécessaires pour que la larve en sorte. La larve, de forme cylindrique et de couleur blanche, mesure entre 0,6 et 3,5 mm en fonction de son stade. Ses organes internes sont facilement visibles, surtout lorsqu'elle s'est déjà nourrie. Deux crochets buccaux noirs lui permettent de manger l'intérieur du fruit durant 3 à 13 jours. Elle passe par 3 stades larvaires différents avant de se transformer en puppe (Figure 3). La puppe est d'abord de couleur jaune avant de se durcir. Ensuite, la mouche à l'intérieur se pigmente donnant à la puppe une couleur brunâtre par transparence. Elle a une forme de petit cylindre de 1x3mm. Ses stigmates antérieurs sont étoilés, la distinguant d'une drosophile commune (Walsh *et*

al., 2011 ; Ctifl, 2016). La pupa se développe à l'intérieur ou à l'extérieur du fruit durant 3 à 15 jours. En moyenne, 10 à 15 générations sont observées par an si les conditions sont favorables au développement de *D. suzukii*. Cette espèce a une fécondité élevée avec un temps de génération court (Asplen et al., 2015).

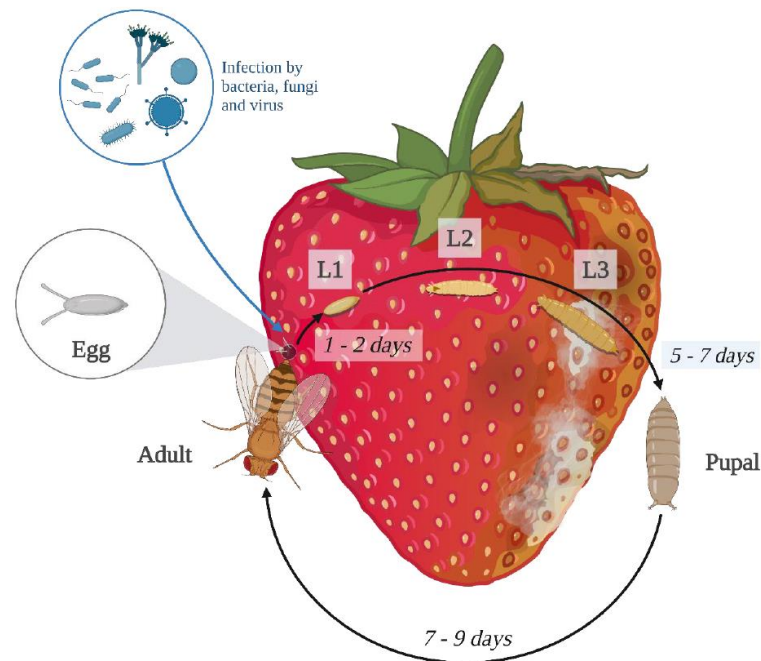


Figure 3. Cycle de *Drosophila suzukii* (Galland et al., 2020)

L'accouplement s'effectue en 4 étapes. Premièrement, le mâle s'oriente et bouge ses ailes frénétiquement, ainsi que son abdomen, afin d'attirer la femelle (Figure 4a). Il tape ensuite avec sa patte sur la femelle (Figure 4b). Il poursuit sa parade par des mouvements de droite à gauche (Figure 4c). Enfin, le mâle s'oriente vers l'arrière de la femelle, en déployant 1 ou 2 ailes (Figure 4d) (Revadi et al., 2015). L'accouplement dure en moyenne 26 minutes (Lee et al., 2011).

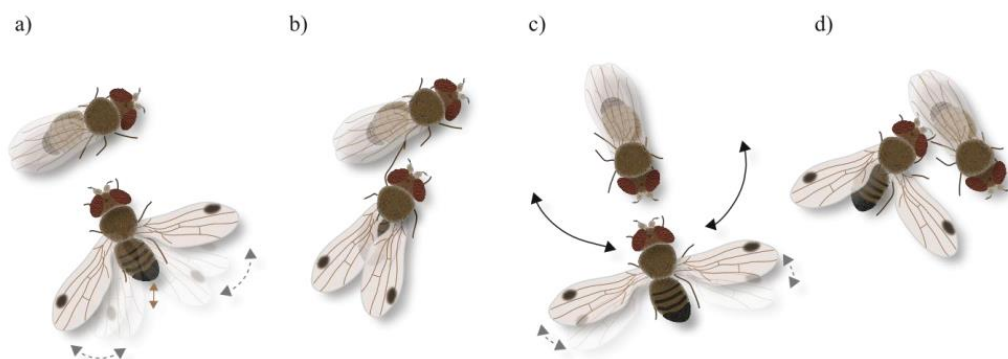


Figure 4. Illustration du comportement de cour chez *Drosophila suzukii* (Revadi et al., 2015)

1.2.5 Dynamique saisonnière & limitations climatiques

Durant l'été, un pic de reproduction est observé. Ainsi, les stades immatures sont beaucoup plus présents que le stade adulte (ratio 90 : 10). En hiver, ce ratio s'inverse ne laissant quasiment que des adultes.

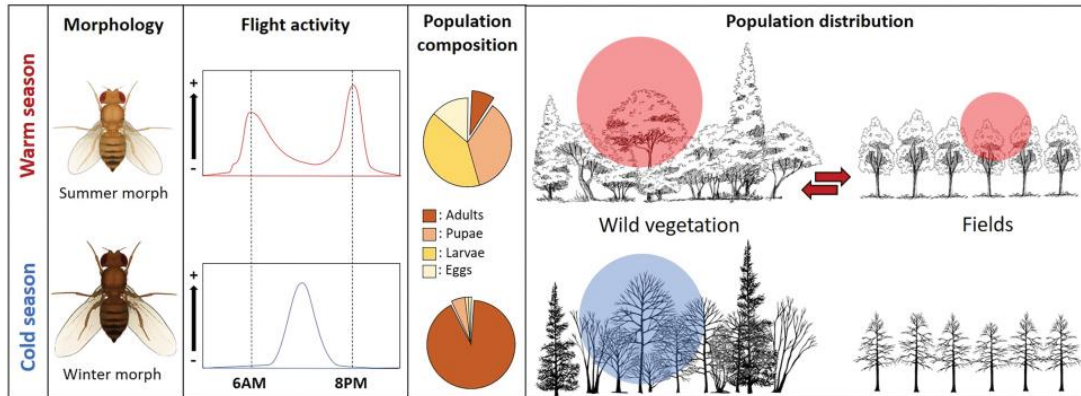


Figure 5. Morphes saisonniers et variation de la niche écologique en fonction des saisons (Tait et al, 2021)

Chez l'adulte *D. suzukii*, il existe un polymorphisme en fonction des saisons. A des températures supérieures à 20°C, le morphe d'été est plus petit et sa pigmentation est plus claire que le morphe d'hiver, plus grand et plus foncé (Figure 5) (Tait et al, 2021). L'habitat est également différent en fonction des saisons. L'insecte se retrouve exclusivement dans les cultures de juin à juillet jusqu'à la fin de l'automne, et dans la forêt en hiver. Les forêts sont des habitats écologiques favorables au développement de *D. suzukii*. En effet, les températures sont plus basses et l'humidité est plus élevée. De plus, la présence d'hôtes non cultivés offre une ressource nutritionnelle et reproductive importante chez *D. suzukii* (Tait et al., 2020). La plupart des femelles peuvent survivre durant l'hiver, contrairement aux mâles : c'est la diapause reproductive. La spermathèque chez *D. suzukii* est plus grande et plus extensible que chez *D. melanogaster*, permettant un stockage plus important de spermatozoïdes (Rossi-Stacconi et al., 2016). De janvier à mars, les femelles n'ont pas d'œufs matures. La reproduction commence lorsque les conditions printanières sont réunies et que plusieurs fruits ont déjà mûri (Arnó et al., 2016).

La température optimale pour le développement de *D. suzukii* est de 22-28°C. Cependant, elle peut survivre entre 8 et 30°C. Au-dessus de 28°C, la drosophile subit un stress thermique qui diminue sa durée de vie et sa reproduction. Seul le stade pupa tolère des températures plus élevées. Pour les températures basses, la mouche se développe normalement jusqu'à 11°C. En dessous de 5°C, larves et pupes ne survivent pas. Les adultes en revanche survivent l'hiver et peuvent passer 6 semaines à 1°C en continu. Certains adultes sont même capables de survivre 1 heure avec une température à -7,5°C (Little et al., 2020 ; Cini et al., 2012).

1.2.6 Hôtes

D. suzukii fait son cycle dans des petits fruits à peau fine comme les cerises, myrtilles, pêches, prunes, kakis, framboises, fraises et raisins (Walsh et al., 2011 ; Kenis et al., 2016). Elle pond principalement dans les fruits mûrs et commercialisables, avec pour conséquence un impact économique non-négligeable pour ces cultures de fruits à hautes valeurs ajoutées (De Ros et al., 2020). Parmi l'ensemble de ces hôtes, *D. suzukii* a une préférence pour les framboises, fraises et myrtilles (Bellamy, 2013). Elle est également retrouvée sur des plantes hôtes non-cultivées qui sont

des refuges et des sources de nourriture importantes pour passer l'hiver (Tait et al., 2020; Kenis et al., 2016). L'EPPO a identifié les hôtes de *D. suzukii*, et les distingue comme suit : hôtes, hôtes majeurs et sauvages/mauvaises herbes (Tableau 1).

Tableau 1. Ensemble des hôtes de *Drosophila suzukii* (EPPO Global Database, 2023)

Plantes hôtes	Types d'hôtes	Plantes hôtes	Types d'hôtes
<i>Actinida chinensis</i>	Hôte	<i>Prunus armenaciaca</i>	Hôte majeur
<i>Actinida deliciosa</i>	Hôte	<i>Prunus domestica</i>	Hôte majeur
<i>Actinida kolomikta</i>	Hôte	<i>Prunus laurocerasus</i>	Hôte
<i>Arbutus unedo</i>	Sauvage/mauvaises herbes	<i>Prunus lusitanica</i>	Hôte
<i>Berberis aquifolium</i>	Hôte	<i>Prunus persica</i>	Hôte majeur
<i>Citrus sinensis</i>	Hôte	<i>Pyrus pyrifolia</i>	Hôte
<i>Cornus sp.</i>	Hôte	<i>Rubus fruticosus</i>	Hôte majeur
<i>Cotoneaster lacteus</i>	Hôte	<i>Rubus hedycarpus</i>	Hôte majeur
<i>Disopsyros kaki</i>	Hôte	<i>Rubus idaeus</i>	Hôte majeur
<i>Elaeagnus umbellata</i>	Hôte	<i>Rubus laciniatus</i>	Hôte majeur
<i>Eriobotrya japonica</i>	Hôte	<i>Rubus microphyllus</i>	Hôte
<i>Eugenia involucrata</i>	Hôte	<i>Rubus sp.</i>	Hôte majeur
<i>Ficus carica</i>	Hôte	<i>Rubus spectabilis</i>	Hôte
<i>Fragaria x ananassa</i>	Hôte majeur	<i>Rubus ursinus</i>	Hôte majeur
<i>Lindera benzoin</i>	Hôte	<i>Rubus x loganobaccus</i>	Hôte majeur
<i>Lonicera caerulea</i>	Hôte	<i>Sambucus nigra</i>	Hôte
<i>Malpighia emarginata</i>	Hôte	<i>Sarcococa confusa</i>	Hôte
<i>Malus domestica</i>	Hôte	<i>Solanum dulcamara</i>	Sauvage/mauvaises herbes
<i>Mangifera indica</i>	Hôte	<i>Solanum lycopersicum</i>	Hôte
<i>Morella rubra</i>	Hôte	<i>Solanum villosum</i>	Sauvage/mauvaises herbes
<i>Morus sp.</i>	Hôte	<i>Symphoricarpos albus</i>	Hôte
<i>Phytolacca americana</i>	Hôte	<i>Vaccinium corymbosum</i>	Hôte majeur
<i>Prunus avium</i>	Hôte majeur	<i>Vitis vinifera</i>	Hôte

1.2.7 Conclusion

D. suzukii possède une fécondité élevée, un temps de génération court, un grand nombre d'hôtes et une haute résistance thermique. Ces caractéristiques lui permettent de s'adapter et de proliférer dans de nombreuses régions du monde. S'attaquant aux fruits commercialisables, elle suscite un intérêt particulier auprès des producteurs et des chercheurs qui souhaitent diminuer sa propagation et son impact sur les cultures de fruits.

1.3 La problématique de *D. suzukii* en agriculture et les méthodes de lutte

1.3.1 Impact économique

L'impact majeur causé par *D. suzukii* est la perte de rendement et l'utilisation souvent onéreuse de produits chimiques pour sa gestion. Les pertes économiques sont rencontrées dans les cultures de fraises, framboises et mûres. En Italie, les cultures de mûres et framboises ont subi 30 à 40% de pertes à cause de ce ravageur, soit une perte de 800.000 € en 1 an dans la province de Trento (De Ros et al., 2020). En France, dans la région des Alpes maritimes, ces pertes sont montées jusqu'à 80% dans les cultures de fraises (Lee et al., 2011). En 2017, les pertes étaient de 20% dans les productions de framboises du Minnesota. En Californie, les pertes de revenus pour l'industrie de la framboise sont entre 2 et 5% en fonction du système agricole (Farnsworth et al., 2017). Les dommages engendrés par *D. suzukii* sont moins importants en Asie qu'en Amérique ou en Europe. En effet, des parasitoïdes de *D. suzukii* sont naturellement présents en Asie. De plus, *D. melanogaster* et *Drosophila hydei* ont des populations plus importantes, créant une compétition interspécifique pour l'accès aux ressources (alimentaires et sites de ponte) (Asplen et al., 2015). *D. suzukii* est la seule drosophile connue, avec *D. pulchrella*, à pondre ses œufs dans des fruits mûrs et commercialisables (Farnsworth et al., 2017).

1.3.2 Moyens de lutte

1.3.2.1 Pratiques chimiques

L'utilisation de produits chimiques est souvent le premier levier utilisé dans les cultures à risque susceptibles d'être infestées par *D. suzukii*. Les agriculteurs ont adopté dans leur calendrier un programme de pulvérisation d'insecticides avec en moyenne 5 à 6 applications avant la récolte. Deux classes d'insecticides sont principalement utilisés : les organophosphorés et les pyréthriinoïdes synthétiques (Knight et al., 2016). Ces produits ont un large spectre d'application et touchent d'autres insectes bénéfiques.

Un passage à l'utilisation de produits plus spécifiques comme le spinosad ou le diamide pourrait être une alternative. Le spinosad est la seule alternative pour les producteurs de fruits biologiques (Disi & Sial, 2021; Van Timmeren et al., 2019). Cependant, son efficacité n'est pas optimale. D'autres classes d'insecticides sont également utilisées comme les néonicotinoïdes et sont pulvérisées en pré-récolte. Ces insecticides ont des effets à long terme en réduisant le nombre d'adultes jusqu'à 7 semaines après la pulvérisation (Beers et al., 2011). La temporalité d'application du produit doit cependant être prise en considération. En effet, le produit est inefficace s'il est employé trop tôt avant la récolte.

L'utilisation d'insecticides soulève la problématique de la présence de résidus toxiques dans les fruits. En effet, l'exposition longue des arbres fruitiers à certains produits provoque le dépassement des Limites Maximales de Résidus (LMR) sur le fruit (Santoiemma et al., 2020). L'usage intensif d'insecticides favorise aussi le développement d'une résistance chez l'insecte. Spinosad et malathion ont perdu en efficacité suite à l'apparition d'une résistance après 10 à 11 générations de *D. suzukii* (Disi & Sial, 2021). Par ailleurs, l'application d'insecticides a pour effet le déplacement du ravageur vers les zones situées en dehors de la culture où il se réfugie (Kenis et al., 2016). De plus, une différence de mortalité est observée en fonction du sexe de la mouche. Les mâles sont davantage tués par l'insecticide que les femelles (Van Timmeren et al., 2019).

1.3.2.2 Pratiques sanitaires et culturelles

La première gestion préconisée lorsque la culture est infectée est l'entretien régulier de ces parcelles. La gestion de la végétation aux abords des cultures et l'élimination des fruits pourris et infectés tombés au sol perturbe la dynamique de développement de *D. suzukii* (Walsh et al., 2011). Par ailleurs, une fois les fruits récoltés, ces derniers peuvent être recouverts de sable ou de terre, diminuant ainsi les nouveaux risques d'infestations. Une autre méthode consiste à placer ces fruits dans des contenants fermés exposés en plein soleil pendant quelques jours, afin d'y augmenter considérablement la température et tuer larves et adultes (Leach et al., 2018). De plus, la fermentation des fruits récoltés peut également être utilisée pour diminuer l'infestation. *D. suzukii* est sensible aux phénomènes d'hypercapnie et d'hypoxie (Noble et al., 2017). Les hôtes non cultivés situés aux abords des cultures doivent être gérés car ils représentent un habitat riche en ressources nutritionnelles et reproductives (Tait et al., 2020).

La surveillance dans les parcelles est également utilisée. L'utilisation de pièges aux abords de la culture permet de détecter la présence de *D. suzukii* et d'agir en conséquence. Cependant, la capture du ravageur et l'infestation dans la culture ne sont pas toujours positivement corrélées. En effet, en Californie, des pièges ont permis de capturer un grand nombre de *D. suzukii* au printemps alors que l'infestation était basse. Au contraire, début juillet, l'infestation était élevée et la capture était faible (Beers et al., 2011).

Dans les pratiques culturelles, la gestion de l'humidité dans les parcelles influence l'infestation de *D. suzukii*. Les agriculteurs tendent à diminuer l'humidité au sein de leurs cultures afin de diminuer l'émergence et la fécondité des adultes. Pour ce faire, deux techniques sont employées. Premièrement, le système d'irrigation par goutte à goutte est recommandé afin de ne pas humidifier l'ensemble du couvert (Rendon et al., 2019). Deuxièmement, un élagage régulier permet de diminuer la densité du feuillage. Cela permet aussi de diminuer l'activité des adultes (Tait et al., 2021).

Pour faire face au ravageur, les producteurs installent également des filets sur leurs parcelles, comme en Suède sur les cultures de cerises, raisins et prunes. Cette installation est aussi mise en place dans les serres. Cependant, cette technique, bien qu'efficace, coûte chère et nécessite certains travaux du sol supplémentaires (Knapp et al., 2021). De plus, du fait de la taille du ravageur, le maillage doit être petit, ce qui empêche en parallèle l'entrée de certains auxiliaires de culture. Par ailleurs, l'aération n'est plus optimale (Ctifl, 2016). Enfin, le filet s'abîme relativement vite obligeant son remplacement.

Le choix des variétés permet d'influencer le comportement de *D. suzukii* et la performance de sa descendance. Les facteurs visuels (couleur, taille, fermeté de la peau) ou chimiques (volatiles) ont différents effets sur l'attractivité aux plantes hôtes (Weißinger et al., 2019). Ainsi, pour le raisin, les variétés avec les fruits de couleur rouge attirent plus que les variétés avec des fruits blancs.

La date de plantation et/ou de récolte permet également la gestion du ravageur. Les cultures plantées en début de saison combinée avec des variétés non remontantes et avec des dates de récolte ne se chevauchant pas sont plus faiblement infestées (Knight et al., 2016). La récolte des fruits 1 à 3 jours avant la pleine maturité diminue l'infestation par les larves (Santoemma et al., 2020).

Enfin, un traitement au froid peut être envisagé après la récolte. En effet, la détection des fruits infestés n'est pas toujours évidente. Ainsi, exposer les fruits récoltés à une température de 0,5°C pendant 24h réduit l'émergence des adultes en maintenant la qualité du fruit à la commercialisation (Saeed, 2019). De même, l'irradiation par rayon X inhibe le développement de tous les stades de *D. suzukii* (Kim et al., 2016).

1.3.2.3 Pratiques biologiques

a. Insectes stériles

L'utilisation d'insectes stériles est un moyen permettant de diminuer voire d'éradiquer une population. Le principe consiste en le relargage en masse de mâles préalablement stérilisés afin qu'ils s'accouplent aux femelles sauvages. Les œufs pondus ne seront pas viables. La stérilisation du mâle est effectuée à l'aide de radiations ionisantes, rayons gamma ou X (Nikolouli et al., 2018). Cette stratégie comprend plusieurs avantages comme la spécificité à *D. suzukii* car le mâle ne s'accouplera qu'avec les femelles de son espèce. De plus, cela ne représente aucun danger pour la santé de l'homme ou pour l'environnement dans lequel ils sont relâchés. Cependant, la stérilisation des mâles en laboratoire est un processus onéreux, d'autant plus qu'un grand nombre est nécessaire. Cette quantité doit être supérieure au nombre de mâles sauvages présents dans le milieu. De plus, la radiation peut perturber les capacités d'accouplement de l'insecte stérile, diminuant sa compétitivité par rapport aux mâles sauvages. Enfin, étant donné le temps de génération court chez *D. suzukii*, les mâles stériles sont rapidement éliminés de la population (Lanouette et al., 2017).

b. Ennemis naturels

Les deux approches biologiques principales étudiées utilisant des ennemis naturels contre *D. suzukii* sont l'utilisation de macro-organismes et micro-organismes.

b.1. Macro-organismes

D. suzukii a plusieurs ennemis naturels s'attaquant aux différents stades de son développement : les araignées, fourmis, perce-oreilles et carabes, mais aussi les oiseaux et mammifères (Lee et al., 2019). Comme prédateurs, plusieurs espèces d'hémiptères sont étudiées. *Orius laevigatus* est un prédateur que l'on rencontre abondamment dans les cultures de fraises et de framboises qui se nourrit des œufs de *D. suzukii*. Sur ces mêmes cultures, *Labidura riparia* se nourrit des pupes et des larves (Gabarra et al., 2015; Tait et al., 2021). Sur les trois agents biologiques testés, *Orius insidiosus* est celui ayant diminué le plus la population de *D. suzukii*. Pour une bonne efficacité, une densité de 12 à 18 *O. insidiosus* par plant est recommandée. Cependant, cette quantité est difficile à atteindre en condition de champ (Renkema & Cuthbertson, 2018).

Chez les parasitoïdes, plusieurs espèces sont capables de pondre dans les larves de *D. suzukii* bien que la résistance immunitaire soit élevée. *Asobara japonica*, *Leptopilina japonica* et *Ganapsis brasiliensis* sont présents au Japon et en Chine et sont capables de se développer dans la larve du ravageur (Woltz et al., 2015). Ces deux derniers ont été identifiés dans la province de Trento en Italie, région fortement touchée par *D. suzukii*. Le suivi des deux populations de parasitoïdes en conditions naturelles a montré qu'ils étaient capables de survivre et de se développer dans la région malgré les températures basses de l'hiver. De plus, les deux espèces sont des spécialistes de *D. suzukii* (Fellin et al., 2023). Ces résultats sont positifs et encouragent le développement de cette lutte biologique. *Pachycrepoideus vindemiae*, *Trichopria drosophilae* sont quant à eux des parasitoïdes du stade pupal (Renkema & Cuthbertson, 2018). Cependant, leur taux de parasitisme chez *D. suzukii* est inférieur à 10% car ils s'attaquent également à d'autres espèces (Lee et al., 2019).

b.2. Micro-organismes

L'utilisation de nématodes peut être envisagée pour atteindre directement les stades larvaires ou pupes. Plusieurs espèces de nématodes ont été testées. Les résultats ont montré une mortalité des larves de *D. suzukii* allant jusqu'à 95% avec l'espèce *Heterorhabditis bacteriophora* (Cuthbertson & Audsley, 2016). Cependant, des études en conditions contrôlées de laboratoire n'ont pas permis d'observer d'infection des larves de *D. suzukii* par *H. bacteriophora* (Woltz et al., 2015). De plus,

l'utilisation de nématodes requiert un milieu humide et il s'agit d'une pratique onéreuse (Lee et al, 2019).

Les microsporidies, eucaryotes unicellulaire, peuvent également être utilisées. Cependant, ces microsporidies provoquent des maladies chez d'autres arthropodes bénéfiques. D'autres recherches supplémentaires sont attendues pour pouvoir les utiliser comme ennemis naturels (Biganski et al, 2020).

Enfin, les champignons entomopathogènes (CEP) peuvent également être utilisés dans la gestion intégrée de *D. suzukii*. Comme mode d'action, les CEP adhèrent dans un premier temps à la cuticule de leur hôte sous forme de conidies. Ils pénètrent ensuite à l'intérieur de l'insecte en proliférant des hyphes à travers tout le corps, entraînant la mort de l'hôte. Les CEP émergent du cadavre et produisent à nouveau des conidies afin d'infester d'autres insectes (Sharma et al. 2020). *Beauveria bassiana* et *Metharizium anisopliae* sont deux exemples de CEP largement étudiés. Des recherches antérieures ont démontré leurs efficacités quant à la mortalité des populations du ravageur (Cuthbertson & Audsley, 2016). Jusqu'à 70% de mortalité était observée pour les populations de *D. suzukii* et *D. melanogaster* après contact avec *B. bassiana* (Bing et al., 2021). L'avantage des CEP est qu'ils peuvent être cultivés en grande quantité et utilisés sous formes de sprays ou en granules. De plus, la production de toxines n'est pas nécessaire pour tuer les insectes, évitant ainsi la mort d'autres organismes non ciblés (Liu et al., 2023).

c. Les sémiouchimiques

Les êtres vivants communiquent via l'émission de signaux visuels, sonores, gustatifs et olfactifs. Ces derniers sont appelés sémiouchimiques. L'émetteur va envoyer un signal odorant qui entraînera des changements physiologiques et/ou comportementaux sur l'individu récepteur. Les sémiouchimiques sont appelés phéromones en intraspécifique et allélochimiques en interspécifique (Tableau 2). Les phéromones peuvent avoir différents rôles comme le marquage, l'alarme, l'attraction ou l'agrégation pour une source de nourriture et/ou un lieu propice à l'oviposition dans le cas de la drosophile (Blassioli-Moraes et al., 2019). Dans le cas d'interactions hétérosécifiques (allélochimiques), on rencontre les allomones, kairomones et synomones, classées selon leurs effets sur l'émetteur et le receveur, qu'il soit négatif ou positif (Tableau 2). Elles jouent un rôle dans les comportements de défense (allomone), de prédation (kairomone), ou de pollinisation (synomone) par exemple (Alkema et al., 2019).

Tableau 2. Les différentes catégories de sémiouchimiques et leurs effets sur les émetteurs et receveurs (Galland, 2022)

Semiochemicals	Type of communication	Effect on emitter	Effect on receiver	Example	
Pheromone	Intraspecific	+	+	Mate finding, alarm, aggregation	
Allelochemical	Interspecific				
		<i>Allomone</i>	+	-	Defense
		<i>Kairomone</i>	-	+	Predation
	<i>Synomone</i>	+	+	Pollination	

Les sémiochimiques sont utilisés dans la lutte intégrée par le développement de stratégies comme les piègeages en masse, les systèmes « Push-pull » et « Attract and kill ». Les sémiochimiques utilisés se distinguent par leurs effets répulsifs ou attractifs. Leurs usages principaux restent néanmoins la surveillance dans les cultures.

c.1. Répulsifs

Les répulsifs peuvent être appliqués directement sur le champ ou disposés dans des pièges. Plusieurs huiles essentielles, émettant des Composés Organiques Volatils (COVs) produits par les plantes comme métabolites secondaires, semblent efficaces contre *D. suzukii*. Après application, l'oviposition est réduite, diminuant le nombre d'œufs déposés par fruit (Souza et al., 2022). De plus, toutes les huiles testées sont faiblement toxiques pour les insectes non-cibles. Souza et al. (2022) ont montré qu'au Brésil, la mortalité de l'endoparasite *Trichopria anastrephae* était faible après application et ingestion des huiles.

Différents COVs issus d'huiles essentielles, tels que le menthone, menthol, menthyle acétate, limonène, nérol, fenchone et α -thujon, ont un effet répulsif pour *D. suzukii* (Wang et al., 2021). L'application d'huile de menthe poivrée repousse également le ravageur (Galland et al., 2020).

La géosmine est l'un des répulsifs les plus anciennement utilisés contre *D. suzukii*. C'est un volatil d'origine bactérienne efficace contre *D. melanogaster*. Testé sur des framboisiers en condition de champs, le nombre de fruits infestés a diminué après application (Cha et al., 2021 ; Wallingford et al., 2018). La géosmine est cependant moins efficace à long terme due à une plus grande accoutumance de la Drosophile (Cha et al., 2021). Le 1-octen-3-ol (octenol) est une molécule issue d'un champignon alcoolique produit par des microbes fortement répulsifs pour *D. suzukii*. La molécule d'octenol combinée à la menthe poivrée était moins répulsif que l'utilisation de ces deux composés seuls (Galland et al., 2020). Le 2-pentylfuran a également été identifié comme un répulsif efficace. Il s'agit d'un volatil à l'odeur d'agrumes qui, contrairement à la géosmine et à l'octenol, n'est pas associé à une activité entomopathogène connue. A une exposition prolongée, les risques d'accoutumance de la *D. suzukii* à l'octenol et au 2-pentylfuran sont faibles.

c.2. Attractants

D. suzukii est attirée par les odeurs de fermentation. Le mélange 60:40 de vin de type Merlot et de vinaigre de cidre est très attractif pour ce ravageur (Galland et al., 2020). Ces deux composés agissent plus efficacement en mélange que lorsqu'ils sont utilisés seuls (Landolt et al., 2012). Plus précisément, l'acide acétique et l'éthanol, deux COVs, contenus dans ce mélange, sont responsables de l'attraction de l'insecte. Cependant, les pièges n'utilisant que la combinaison de ces deux composés, attirent moins de mouches que le mélange de vin-vinaigre. D'autres COVs issus de ce mélange, comme l'acétoïne et le methionol, ont une co-attractivité avec la mixture d'acide acétique et l'éthanol (Cha et al., 2014).

D. suzukii est également attirée par un attractif actif à base de levure (*Saccharomyces cerevisiae*). Les adultes sont attirés efficacement à la période de récolte des fruits. De plus, la spécificité est élevée : 30 à 70% des insectes capturés à l'aide de piège avec cette levure active étaient des *D. suzukii* (Toledo-Hernández et al; 2021).

Les COVs dégagés par les fruits sont aussi utilisés comme attractant. Par exemple, *D. suzukii* est plus attirée par les COVs émis par les myrtilles sauvages que par celles cultivées (Urbaneja-Bernat et al., 2021). Ces résultats sont contraires aux études antérieures montrant que *D. suzukii* était plus attirée visuellement par les fruits cultivés, car plus grands et de meilleure qualité pour le développement des larves (Rodriguez-Saona et al., 2018). Cette contradiction peut s'expliquer par la différence de composition entre les métabolites secondaires des fruits domestiqués et sauvages. La modification

des fruits domestiqués les a rendus plus grands visuellement mais leur émission de composés volatils est diminuée. Dans l'ordre de préférence, *D. suzukii* est plus attiré par l'odeur de framboises, de fraises, de cerises et de myrtilles (Abraham et al., 2015). Ainsi, deux molécules issues de la fermentation des myrtilles, l'isobutyl acétate et l'isoamyl acétate, sont connus comme attractants avec des réponses antennaires importantes chez *D. suzukii* (Urbaneja-Bernat et al., 2021).

Les odeurs de feuilles attirent davantage *D. suzukii* que *D. melanogaster* ou *Drosophila biarmipes* (Keesey et al., 2015). Cette sensibilité peut s'expliquer car les volatils de feuilles permettent au ravageur d'identifier les stades précoces de maturation du fruit. De plus, *D. suzukii* se nourrit et pond dans les fruits se trouvant dans la canopée contrairement à *D. melanogaster* qui s'attaque aux fruits tombés au sol (Keesey et al., 2015).

Les phéromones sexuelles sont utilisées comme sémiachimiques afin d'attirer plus spécifiquement le ravageur cible. Le cis-11-Vacényl Acétate (cVA) est une phéromone ayant des effets sur le comportement social et sexuel chez *D. melanogaster* (Figure 6). Produite par le mâle et transmise à la femelle durant l'accouplement, l'émission du cVA conduit à l'attraction des femelles vierges vers les mâles, la réduction de l'attraction des mâles aux femelles accouplées (anti-aphrodisiaque), la stimulation des agressions mâle-mâle et l'induction d'un comportement d'agrégation (Dekker et al., 2015 ; Ejima, 2015).

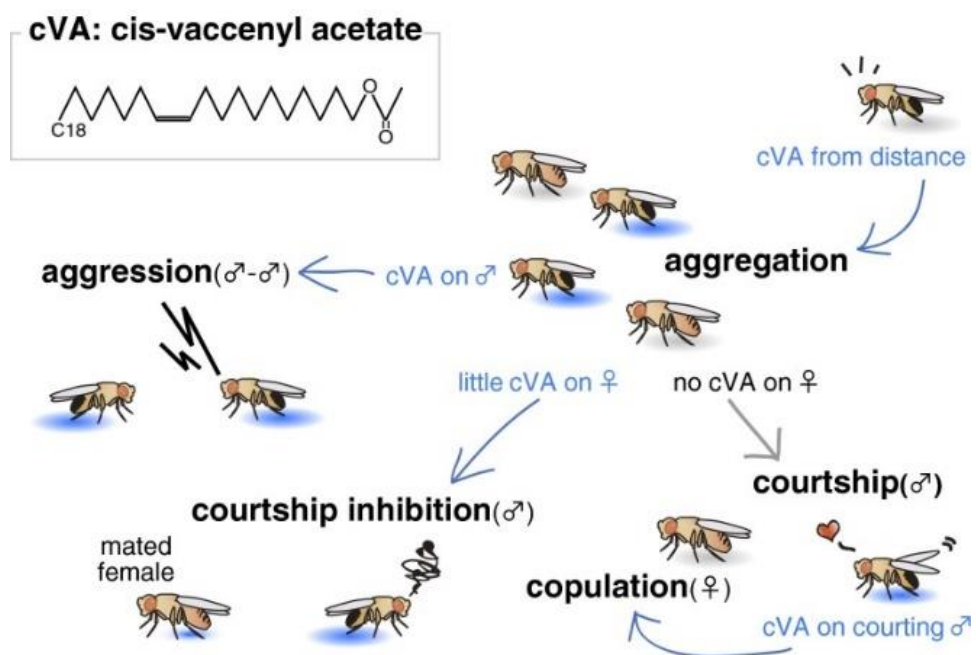


Figure 6. Comportements sociaux et sexuels de *D. melanogaster* liés à la phéromone cis-11-Vacényl Acétate (cVA) (Ejima, 2015)

D. suzukii fait partie du groupe des melanogaster mais ne produit pas la cVA. Le site de production de cette phéromone chez *D. suzukii* est considérablement réduit comparé à *D. melanogaster*. Cependant, deux gènes, *elo68* et *desat1*, sont présents dans le génome de *D. suzukii*. Sur l'antenne, le neurone olfactif exprimant le récepteur Or67d (sensille tricoïde T1) est essentiel dans la réponse de l'insecte au cVA. Le neurone exprimant le récepteur olfactif Or65a (sensille tricoïde T4) induit également une réponse à la phéromone en réduisant le comportement d'agression mâle-mâle, ainsi que l'attraction des mâles aux femelles nouvellement accouplées (Wang & Anderson, 2010). Chez *D. suzukii*, les sensilles T1 et le neurone exprimant Or67d sont très peu développés contrairement

aux sensilles T4 et au neurone Or65a qui sont abondamment présents. L'application de cVA sur *D. suzukii* a pour effet la diminution de l'accouplement jusqu'à atteindre un taux de 0% d'accouplement lorsque la dose est trop importante. L'effet est contraire chez *D. melanogaster* qui possède les sensilles T1 et le neurone Or67d bien développés (Dekker et al., 2015). L'association du cVA à une odeur de fruit est significativement plus attractive que l'odeur de fruit seul. Une synergie semble donc possible entre l'odeur de nourriture et le cVA pour attirer mâles et femelles chez *D. suzukii* (Bartelt et al., 1985).

c.3. Stratégie utilisant les sémiachimiques

1. Push-pull

La stratégie « Push-pull » utilise simultanément un répulsif et un attractant. Le répulsif est employé dans la culture afin d'éloigner le ravageur (Push). L'attractant est placé en dehors de la culture pour l'attirer en dehors de la parcelle (Pull) (Figure 7) (Alkema et al., 2019). Des essais en champ ont comparé les trois stratégies suivantes : « Pull », « Push » et « Push-pull ». La population de *D. suzukii* a diminué avec les deux stratégies « Push » et « Push pull » mais il n'y a eu aucune différence significative entre les deux (Wallingford et al., 2018). Le répulsif ne semble pas avoir amélioré l'attractivité de l'attractant. Cela peut être dû au type d'application du répulsif. Dans l'étude, il s'agissait d'une émanation passive au sommet de chaque plante. Un émetteur actif peut, par exemple, être utilisé permettant de maintenir l'odeur à une forte concentration à des moments propices de la journée (Wallingford et al., 2018). Le répulsif pourrait également être disposé à l'entrée de la culture afin de diminuer davantage l'infestation (Galland et al., 2020).

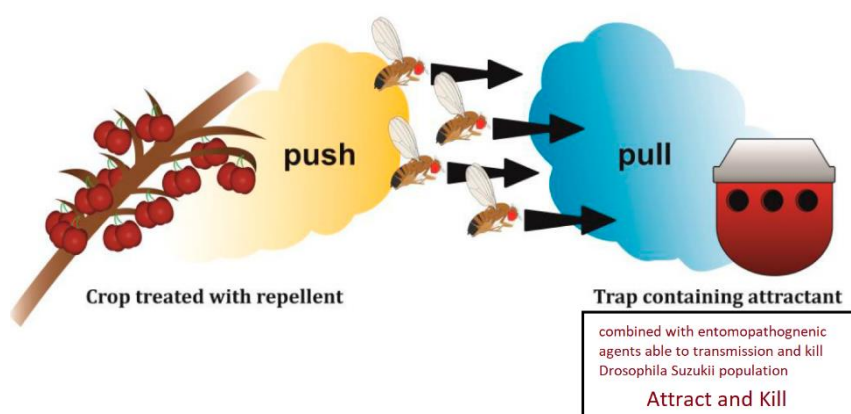


Figure 7. Stratégie « Push-pull » et « Attract and kill » contre *D. suzukii* (Alkema et al., 2019)

Cette stratégie peut être combinée avec une attraction visuelle. Dans leur milieu, les insectes s'orientent également avec des repères visuels pour chercher de la nourriture ou des sites favorables à l'oviposition. Ces signaux peuvent être des couleurs mais également des formes. *D. suzukii* est attirée par les grands disques de couleurs noire et rouge (Rice et al., 2016).

2. Attract and kill

La stratégie « Attract and kill » consiste en un piège dont l'objectif est d'attirer, avec un attractant, l'insecte et de le tuer par l'utilisation d'insecticides, de bactéries, de virus, de nématodes ou de champignons entomopathogènes (Figure 7).

Jusqu'à présent, les principaux attractants mis en œuvre dans les stratégies « attract and kill » sont dérivés des odeurs de levures, des processus de fermentation ainsi que des COVs émis par les fruits mûrs ou en décomposition (Grassi et al., 2014 ; Bianchi et al., 2020 ; Bi et al., 2023). Petit à petit, l'utilisation de phéromones sexuelles comme sémiochimiques a été largement étudiée pour attirer les larves et les adultes d'insectes (Gregg et al., 2018). En élargissant nos connaissances sur les multiples fonctions des phéromones, des études antérieures ont démontré l'efficacité de ces composés, offrant une plus grande spécificité dans la capture des ravageurs cibles (Gregg et al., 2018 ; Kevin et al., 2018). Dans le cas précis des drosophiles, les communications intra et interspécifiques sont régulées en grande majorité par les hydrocarbures cuticulaires, variant qualitativement et quantitativement entre les sexes et les espèces de drosophiles (Billeter & Levine, 2015). Ces composés peuvent être semi-volatils, peuvent se trouver à la surface du corps de la mouche ou sont déposés de manière précise sur des sites où la nourriture est généralement présente et/ou les conditions sont favorables à la reproduction/l'oviposition (Gregg et al., 2018 ; Kevin et al., 2018).

La majorité des substances employées pour éliminer les insectes par cette approche sont les insecticides tels que les néonicotinoïdes ou le spinosad (Klick et al., 2019; Disi & Sial, 2019). Néanmoins, l'utilisation des CEP dans le développement d'une méthode attract-and-kill est intéressante parce qu'ils ont l'avantage d'être plus spécifiques à l'insecte ciblé, tout en étant moins dommageables pour l'environnement et la santé humaine (Yousef et al., 2018).

2 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES

L'objectif de ce mémoire est de participer au développement d'une méthode de lutte « attract-and-kill » destinée à lutter contre *D.suzukii*. Ce travail est subdivisé en 2 parties distinctes, chacune avec ses objectifs et ses hypothèses associées.

Partie 1 – Attractants

Objectif : Evaluer la réponse comportementale et électrophysiologique au cVA (synthétique) chez *D. suzukii*.

- Hypothèses :
- La cVA repousse les femelles adultes ;
 - La cVA induit une réponse antennaire dose-dépendante chez les femelles et les males.

Objectif : Evaluer l'attractivité pour le cVA (synthétique) en mélange avec des odeurs de fruits rouges.

- Hypothèse :
- La cVA en combinaison avec les odeurs de fruits rouges attire les femelles.

Objectif : Evaluer l'attractivité pour les COVs linalool, cis-3-hexen-1-ol et trans-2-hexenal (synthétiques) chez *D. suzukii*.

- Hypothèse :
- Le linalool, le cis-3-hexen-1-ol et le trans-2-hexenal attirent les femelles.

Partie 2 – Champignons entomopathogènes

Objectif : Identifier les souches de champignons entomopathogènes les plus virulentes envers les *D. suzukii*.

- Hypothèse :
- Des différences significatives de virulence existent entre les souches testées, et permettront d'identifier une ou plusieurs souches efficaces.

3 MATÉRIELS & MÉTHODE

3.1 *Drosophila suzukii*

Les *D. suzukii* utilisées proviennent d'un élevage d'un laboratoire de l'université de la KU Leuven. Les mouches sont élevées dans des tubes à essais d'un diamètre de 3 cm et d'une hauteur de 9,5 cm, fermés sur le dessus par des bouchons filtres. Ces tubes sont conservés en conditions contrôlées à une température de 23 +/- 1°C et une photopériode de 16 : 8 (J : N) dans un laboratoire de quarantaine de Gembloux Agro-Bio Tech. Dans chaque tube, de la diète artificielle servant à la fois de substrat pour nourrir adultes et larves de *D. suzukii* et de substrat pour la ponte, est coulée sous hotte. Les différentes étapes à la préparation de 1L de diète sont les suivantes : un mélange de 1L d'eau distillée et de 7g d'agar-agar est d'abord porté à ébullition. 100g de maïs (polenta), 60g de sucre et 15g de levure sont ensuite rajoutés au mélange. La préparation est homogénéisée et maintenue à ébullition pendant 5 minutes. 0,75g de nipagin (antibactérien) dilué dans 5 mL d'éthanol et 4,8 mL d'acide propionique (anti-fongique) sont enfin ajoutés à la préparation. Une goutte d'un mélange levure-eau est ajoutée sur la diète une fois cette dernière durcie dans le tube afin de favoriser la ponte. Ces tubes sont conservés au réfrigérateur minimum 24 heures avant utilisation.

Le cycle de vie des *D. suzukii* se déroule comme suit : 20 à 30 mouches adultes matures sexuellement (âgées de 2-3 jours) sont disposées par tube afin qu'elles s'accouplent et pondent dans la diète à disposition (J+2 et J+7, Figure 8). Après une incubation des œufs de 1-3 jours, les larves se développent dans le substrat durant le stade larvaire (3-4 jours) avant de puper (J+11, Figure 8). Après 3-4 jours dans la puppe, les mouches adultes émergent (J+15, Figure 8).

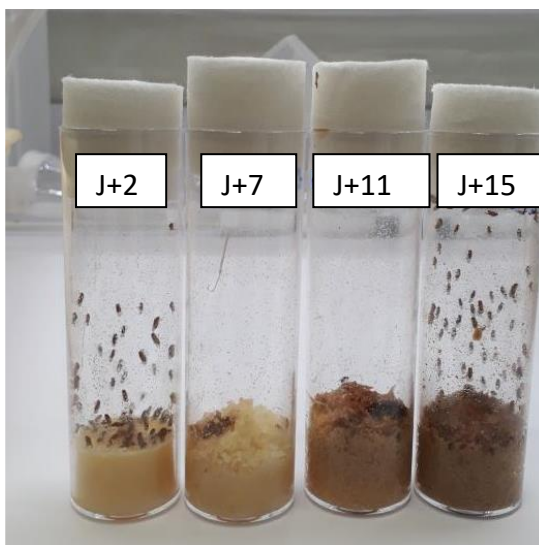


Figure 8. Cycle de vie des *D. suzukii* dans les tubes d'élevage

3.2 ATTRACTANTS

3.2.1 Molécules testées

Les attractants testés au cours de cette étude sont la phéromone cis-11-Vaccényl Acétate (cVA) (n° CAS 6186-98-7, pureté ≥ 98%) ainsi que 3 composés volatils issus de fruits rouges. Ces molécules ont été sélectionnées sur base de leur présence récurrente sur les fruits étudiés (Tableau 3) : le linalool (n° CAS 78-70-06, pureté ≥ 97,5%), le cis-3-hexen-1-ol (n° CAS 928-96-1, pureté ≥ 97,5%) et

le trans-2-hexenal (n° CAS 6728-26-3, pureté $\geq 97,5\%$). Ces molécules ont été commandées chez Sigma-Aldrich (SIAL).

Tableau 3. Présence des 3 composés volatils étudiés dans les extraits de myrtilles, cerises, framboises ou fraises (Abraham et al., 2015). « X » signifie que la molécule est présente et « - » signifie qu'elle n'est pas présente dans l'extrait de fruit.

Molécules	Myrtille	Cerise	Framboise	Fraise
linalool	X	X	X	-
cis-3-hexen-1-ol	X	X	-	X
trans-2-hexenal	X	-	X	X

3.3 Tests comportementaux d'attraction (2 choix)

3.3.1 Dispositif expérimental

Les tests comportementaux destinés à évaluer l'effet attractif ou répulsif des molécules d'intérêts sont effectués dans des cages ventilées de dimension 60 x 20 x 20 cm (BugDorm). Dans chaque cage, 2 boîtes de Petri en verre (5,4 cm de diamètre) sont positionnées aux extrémités, à 19 cm du centre de la cage (Figure 9a). Un papier blanc de forme circulaire (12 cm de diamètre) est placé en-dessous de ces 2 boîtes (Figure 9b). Chaque test comporte un témoin et l'attractant testé. Aléatoirement, un papier filtre (3,5 cm de diamètre), imbibé de la solution contenant la molécule testée, est placé dans la boîte de droite ou de gauche et inversement pour le papier filtre imbibé du témoin. Un papier aluminium percé de 5 trous recouvre chaque boîte de Petri. Les trous sont suffisamment grands pour permettre l'entrée de la mouche tout en limitant la sortie par l'excès d'aluminium créant une forme d'entonnoir à l'intérieur de la boîte de Petri. La préparation des boîtes de Petri a été réalisée sous hotte afin de diminuer le risque d'un mélange d'odeurs avec l'extérieur. Les tests comportementaux ont été réalisés en conditions contrôlées à une température de $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Dans chaque cage sont lâchées 20 femelles préalablement affamées 24h avant le lancement des expérimentations. Le nombre de mouches dans les 2 boîtes de Petri et dans la cage est comptabilisé après 3h d'expérimentation. On considère que la mouche a fait un choix lorsqu'elle est dans ou sur la boîte de Petri ou sur la surface du papier blanc.

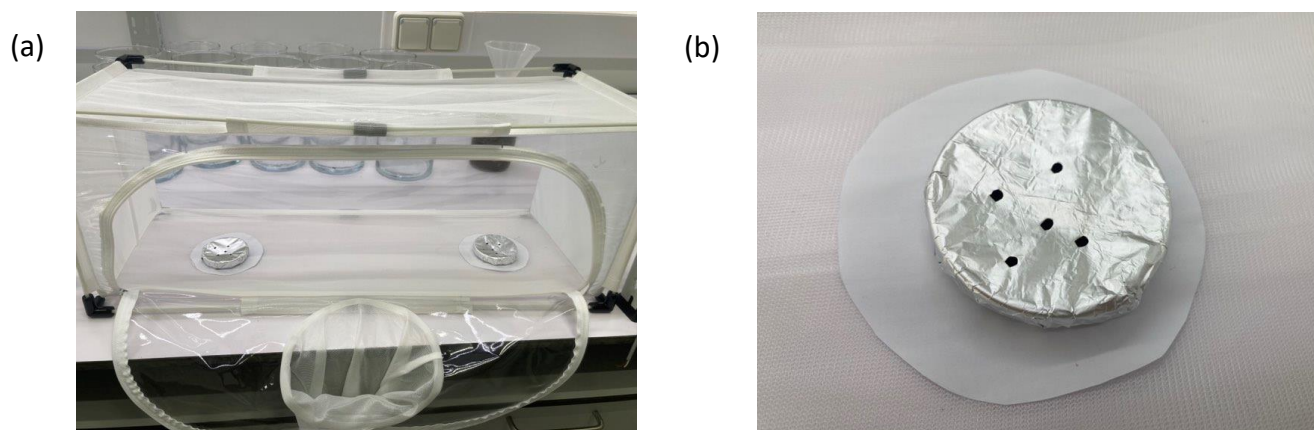


Figure 9. (a) dispositif expérimental utilisé, cage ventilée - (b) boîte de Petri enveloppée d'aluminium avec papier blanc circulaire en dessous

3.3.2 Tests comportementaux – phéromone cis-11-Vaccényl Acétate (cVA)

La phéromone cVA a été réceptionnée dans une solution contenant de l'éthanol. Ce dernier a été évaporé sous hotte à l'aide d'un gaz inerte (azote). Le solvant N,N-diméthylformamide (n° CAS 68-12-2, pureté = 98%) a ensuite été utilisé pour re-suspendre la phéromone. Pour tester si la cVA seule est répulsive pour les adultes femelles de *D. sukii*, deux expériences distinctes ont été effectuées. Dans un premier temps, deux concentrations de cVA ont été testées afin d'observer si la réponse comportementale était influencée par la dose appliquée. Dans un deuxième temps, deux états physiologiques des adultes femelles, faim (affamées ou non) et virginité (vierges ou non), ont été testés afin d'observer si la réponse comportementale à la cVA seule était influencée par ces deux facteurs.

Deux concentrations testées

- (a) 0,3 µg de cVA versus N,N-diméthylformamide (témoin solvant)
- (b) 0,1 µg de cVA versus N,N-diméthylformamide (témoin solvant)

Les solutions à 0,3 µg/µL et à 0,1 µg/µL de cVA ont été testées avec le témoin. Ces deux concentrations ont été sélectionnées à partir de la littérature scientifique. Plusieurs études ont testé les réponses comportementales des *D. melanogaster* à la cVA seule en utilisant des concentrations approximativement similaires (Ejima, 2015). Pour les tests (a) et (b), l'une des deux boîtes de Petri contient un papier filtre imbibé d'1 µL de la solution à tester tandis que l'autre boîte contient un papier filtre imbibé d'1 µL du solvant.

Etat physiologique des adultes *D. sukii* : faim et virginité

L'influence de 2 facteurs, « virginité » et « faim » comportant chacun 2 modalités, respectivement vierge/non-vierge et affamée/non-affamée a été évaluée. Toutes les combinaisons de ces facteurs et de leurs modalités ont été testées à l'exception de la combinaison vierge/non-affamée. Pour ce test, l'une des deux boîtes de Petri contient un papier filtre imbibé d'1 µL de la solution à tester (cVA à 0,3 µg/µL) tandis que l'autre boîte contient un papier filtre imbibé d'1 µL de solvant.

- (c) (d) (e) 0,3 µg de cVA versus N,N-diméthylformamide (témoin solvant)

Tableau 4. Combinaison des facteurs (virginité et faim) et de leurs modalités (vierge/non-vierge et affamée/non-affamée) pour les tests comportementaux avec la cVA

Tests	Virginité	Faim
(c)	Non-vierges	Affamées
(d)	Non-vierges	Non-affamées
(e)	Vierges	Affamées

Les femelles vierges ont été obtenues en isolant les pupes de *D. sukii* femelles préalablement sexées. Les pupes femelles peuvent être identifiées à la loupe binoculaire par l'absence de peignes sexuels (Figure 10). Les femelles dites non-vierges ont été prises dans les tubes J+15 (Figure 8), 3-4 jours après leurs émergences. Il s'agit plus précisément de femelles gravides, définies par l'action de s'être accouplées et à la recherche d'un site pour l'oviposition.



Figure 10. (a) Peignes sexuels sur le 1^{er} et 2^{ième} tarsomères de la patte antérieure du mâle (OEPP/EPPO, 2013)
 (b) Pupe d'une *D. suzukii* mâle à gauche et pupa d'une *D. suzukii* femelle à droite

3.3.3 Tests comportementaux - combinaison de la cVA et d'un extrait de fruits rouges

- (f) cVA *versus* fruits rouges + cVA
- (g) fruits rouges *versus* fruits rouges + cVA

Les expérimentations visaient à évaluer si les réponses comportementales des femelles adultes de *D. suzukii* résultaient d'un effet synergique induit par l'association de la cVA et des odeurs de fruits rouges. Les deux expériences distinctes (f) et (g) ont été réalisées dans cet objectif. Le test (f) avait pour objectif d'observer si la cVA avec des odeurs de fruits rouges était plus attractive que la cVA seule. Un papier filtre a donc été imbibé d'une solution contenant 1 µL de cVA (0,3 µg/µL) et 0,5 ml d'eau distillée. Le second papier filtre a été imbibé d'une solution contenant 1 µL de cVA (0,3 µg/µL) et 0,5 ml de l'extrait de fruits rouges. Pour le test (g), l'objectif était d'observer si l'attractivité des odeurs de fruits rouges était plus importante lorsque la phéromone y était associée comparé aux odeurs de fruits rouges seules. Un papier filtre a donc été imbibé d'une solution contenant 0,5 mL de l'extrait de fruits rouges. Le second papier filtre a été imbibé d'une solution contenant 1 µL de cVA (0,3 µg/µL) et 0,5 mL de l'extrait de fruits rouges. L'extrait de fruits rouges a été préparé en mixant des fruits surgelés (groseilles 30%, myrtilles 10%, fraises 17%, framboises 15%, mûres 15%, cassis 13%), passé ensuite au tamis et conservé au frigo à 4°C.

3.3.4 Tests comportementaux – molécules de fruits rouges

Les trois molécules testées (Tableau 3) ont été diluées dans de l'eau distillée. Pour chaque test, 0,5 mL de la molécule choisie ont été déposés sur le papier filtre, soit : (h) le linalool (0,335 µg/µL), (i) le cis-3-hexen-1-ol (0,128 µg/µL) et (j) le trans-2-hexen-1-al (0,765 µg/µL). Ces concentrations ont été calculées à partir de données issues de la littérature scientifique. Abraham et al (2015) ont enregistré lors d'une analyse GC-FID la quantité totale de composés volatiles émise par heure des extraits de fraises (0,9 µg/h), framboises (1,6 µg/h), cerises (0,3 µg/h) et myrtilles (1,2 µg/h). De plus, ils ont identifié les COVs présents ainsi que leur proportion (%) dans chacun de ces extraits. Le calcul suivant a été utilisé :

[Quantité totale de composés volatiles émise par un extrait de fruit (µg/h) x ratio du COV (%) dans cet extrait de fruit x 3 (trois heures d'expérimentation)]

Pour chaque COV, la concentration a été calculée pour les trois extraits dans lesquels ils ont été identifiés. La concentration finale utilisée correspond à la moyenne des trois valeurs obtenues.

- (h) 167,5 µg de linalool *versus* eau distillée (témoin solvant)
- (i) 64 µg decis-3-hexen-1-ol *versus* eau distillée (témoin solvant)
- (j) 382,5 µg de trans-2-hexen-1-al *versus* eau distillée (témoin solvant)

3.3.5 Tests comportementaux – synergie entre les molécules de fruits rouges

L'attractivité des trois molécules en mélange, aux concentrations testées au point 2.2.1.3, a été testée selon le dispositif expérimental décrit au point 2.2.1. Le papier filtre a été imbibé par 0,5 mL de cette solution.

- (k) linalool + cis-3-hexen-1-ol + trans-2-hexen-1-al *versus* eau distillée (témoin solvant)

3.4 Electroantennographie

L'électroantennographie (EAG) a été employée pour évaluer l'effet de la dose de cVA appliquée sur la réponse antennaire chez les adultes mâles et femelles de *D. sukukii*. Syntech (2015) ont décrit son fonctionnement. Cette méthode permet d'enregistrer les différences de potentiel causées par des dépolarisations électriques de nombreux neurones olfactifs présents dans l'antenne de l'insecte suite à l'application d'un stimulus (Figure 11). Chaque récepteur olfactif dans l'antenne est la combinaison d'une résistance et d'une source de tension. L'amplitude (mV) mesurée par l'EAG est la somme des réponses émises par l'ensemble de ces récepteurs. Le stimulus appliqué dans notre étude est la cVA.

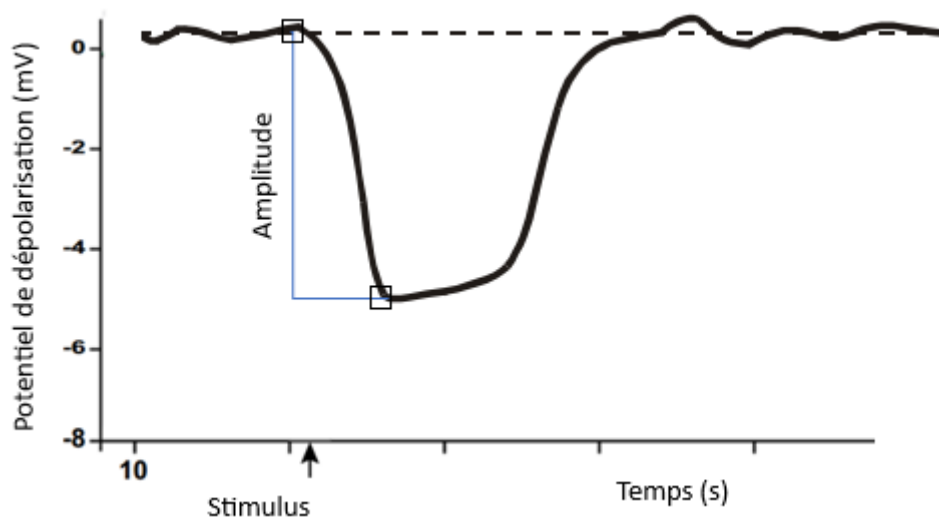


Figure 11. Représentation EAG de la réponse antennaire d'un insecte suite à l'application d'un stimulus. La courbe noire correspond au signal émis par l'insecte.

3.4.1 Système et logiciel & montage de la *D. sukukii*

Pour enregistrer la réponse antennaire, deux électrodes en verre ont été mises en contact avec la *D. sukukii*, l'une au niveau de l'antenne (électrode de travail) et l'autre à l'arrière de la tête (électrode de référence). Ces électrodes ont été fabriquées à partir de tubes capillaires (1 mm de diamètre) qui ont été chauffés puis étirés afin d'obtenir une pointe fine. Cette pointe étant trop petite pour un contact approprié, une cassure a été réalisée afin d'obtenir un diamètre suffisamment large pour permettre l'insertion de l'antenne. Cette manipulation a été réalisée à la loupe binoculaire pour une plus grande précision. Les électrodes ont ensuite été remplies d'une solution conductrice d'électricité, appelée solution de Ringer (NaCl 7,5 g/L, CaCl₂ 0.21 g/L, KCl 0.35 g/L, NaHCO₃ 0.2 g/L).

La tête de la mouche a été excisée de son corps pour faciliter les manipulations. Pour ce faire, la mouche a été endormie au froid préalablement. La tête a ensuite été fixée à la pointe de l'électrode de référence à la loupe binoculaire. Enfin, les deux électrodes ont été insérées dans les supports prévus à cet effet, laissant entrer un filament d'argent. Sous microscope, la pointe de l'électrode de travail a été approchée délicatement vers l'antenne de la mouche jusqu'à entrer en contact (Figure 12). A ce stade, si les électrodes ont été correctement mises en contact avec la tête, un signal était visible sur l'écran de l'appareil d'enregistrement (Figure 11). Les fluctuations de tension étant relativement faibles, l'électrode de travail a été raccordée à un amplificateur (impédance 1 :100) afin d'accroître la réponse antennaire. Plusieurs éléments peuvent créer des perturbations (bruits) au niveau du signal comme le bruit généré par l'insecte (mouvements des muscles encore en activités) ou le bruit de sources externes (ex : radiations émises par le système d'alimentation, mouvements et odeurs de l'expérimentateur). Pour pallier à ces bruits, une cage de Faraday a été installée autour du système d'enregistrement comme bouclier électromagnétique. Le paramètre Filtre a également été activé sur le logiciel.

Pour tester la réponse antennaire à la cVA, un papier filtre (1 x 2 cm) a été plié et inséré à l'extrémité d'une pipette pasteur. 10 μL de la solution de cVA diluée dans le solvant ont été appliqués sur le papier filtre. Après 30 secondes durant lesquels le solvant s'est évaporé, la pointe de la pipette pasteur a été introduite dans une petite ouverture situé sur le tube dirigé vers la tête de la mouche. Sur la partie supérieure de la pipette, une légère pulsion (puff), contrôlée par une électrovalve, d'une durée de 0,5 s a été appliquée afin d'expulser une petite quantité de cVA. Le puff envoyé est mélangé, dans le tube, à un air (25 cm/s) filtré et humidifié par le générateur de flux. Les pics du signal étaient visualisés et stockés sur le PC. L'analyse a été réalisée à l'aide du logiciel AutoSpike v. 3.2 (Syntech).

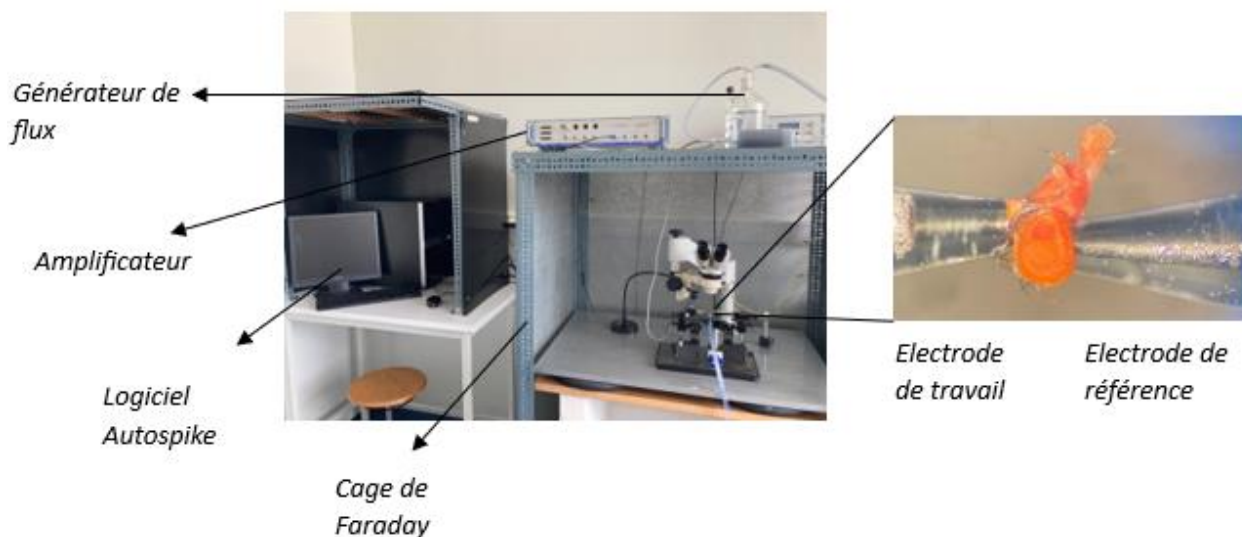


Figure 12. Electroantennographie et ses différents composants avec zoom sur le montage de la tête de *D. sukuzii*

3.4.2 Dispositif expérimental

L'électroantennographie (EAG) a été effectuée sur 8 mouches mâles et 8 mouches femelles âgées entre 3 et 5 jours. Une solution stock de 10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de cVA dans du solvant N,N-diméthyleformamide a été préparée. Cette solution a été diluée afin d'obtenir les 4 concentrations en cVA suivantes : 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0,1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0,01 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 0,001 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.




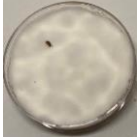
Au total, 7 solutions ont été testées : les solutions de cVA à 0,001, 0,01, 0,1, 1 et 10 µg/µL, une solution de vin-vinaigre (60/40) (témoin positif) et le solvant N,N-diméthylformamide (témoin négatif). Pour chaque mouche, le schéma d'expérimentation était identique. Un total de 8 puffs à la suite a été appliqué sur une mouche. Pour chaque puff, un volume de 10 µL a été pipeté. Une durée de 30 secondes séparait chacun des puffs. Le premier et le dernier appliqués étaient la solution de vin-vinaigre. L'ordre de succession des 6 solutions testées entre a été randomisé.

3.5 Champignons entomopathogènes

3.5.1 Traitements

L'efficacité biocide de 4 souches de CEP (Tableau 5) sur les adultes de *D. sukukii* a été évaluée selon un protocole adapté de Galland et al (2023). Ces souches proviennent de la collection BCCM/MUCL (<https://bccm.belspo.be/about-us/bccmmucl>). Elles ont été conservées sur un milieu gélosé V8 (V8, jus de légumes, Continental foods, Belgique), stérilisé (121°C pendant 15 minutes) dans des boîtes de Petri (90 mm de diamètre), à l'obscurité jusqu'à leur utilisation.

Tableau 5. Espèces et souches de champignons entomopathogènes dont l'effet biocide a été testé chez *D. sukukii*

Espèces	Souches	Répétitions		Images
		3 heures	10 jours	
<i>Beauveria bassiana</i>	MUCL 1555	20	20	
<i>Metarhizium anisopliae</i>	MUCL 6859	20	20	
<i>Metarhizium anisopliae</i>	F52	20	20	
<i>Lecanillium lecanii</i>	MUCL 8115	20	20	

A ces 4 souches, s'ajoute un contrôle négatif, contenant de l'eau peptonée et un contrôle positif contenant un insecticide, Conserve® Garden (120g/L spinosad à 11.6% de matière active).

3.5.2 Inoculation des champignons entomopathogènes (CEP) sur la diète

Pour chaque CEP, le même procédé a été appliqué. Sous flux laminaire, 7 mL d'eau peptonée ont été versées de manière homogène sur l'ensemble de la gélose. La surface a été grattée à l'aide d'une lame. 5 mL de la solution contenue dans la boîte de Petri ont ensuite été pipetées dans un tube. L'estimation du nombre de conidies a été réalisée sur cellule de Thoma (Figure 13a). La solution a ensuite été diluée si nécessaire dans le but d'atteindre une concentration de 10⁶ conidies/µL pour

chaque CEP. Les boîtes de Petri (90 mm de diamètre) contenant de la diète ont enfin été inoculées par 2 mL de cette solution. Cette diète (point 3.1) ne contenant pas d'antifongique a été préalablement autoclavée et coulée sous flux laminaire à raison de 7 g par boîte. Les boîtes de Petri contenant la solution avec la souche ont été fermées avec du parafilm et stockées dans un incubateur (20°C) pendant 10 à 15 jours (Figure 13b).

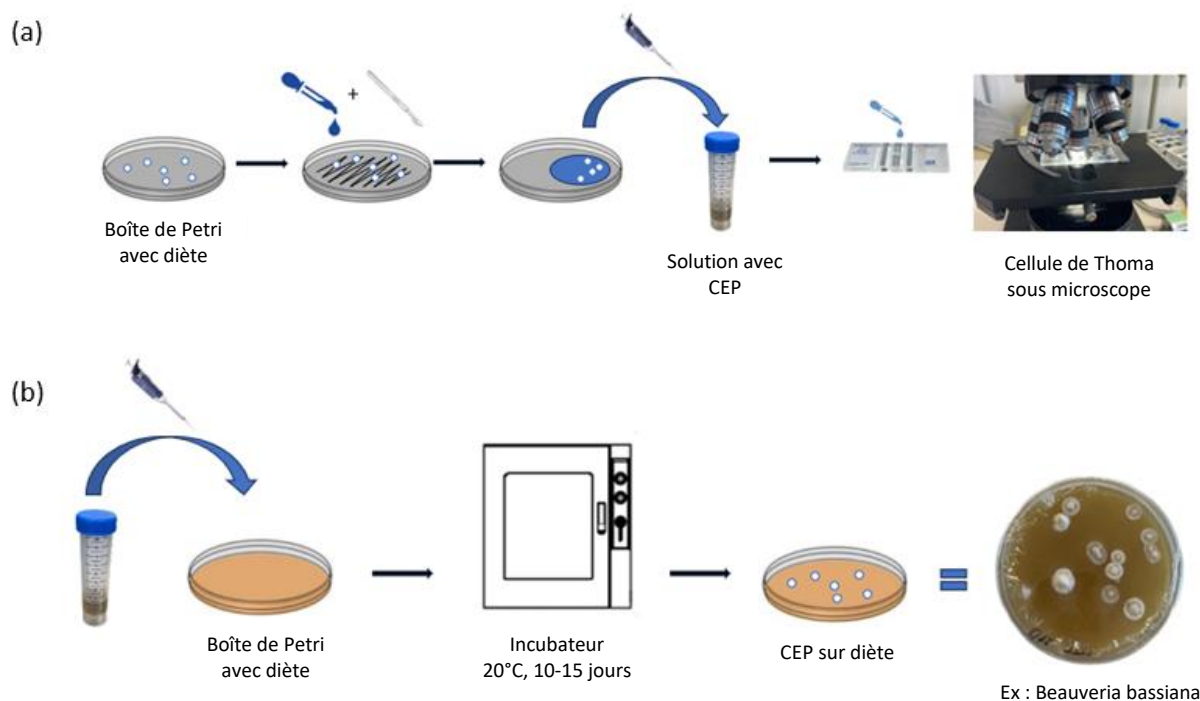


Figure 13. (a) Estimation du nombre de conidies de la souche testée - (b) Inoculation de la souche testée sur la boîte de Petri contenant la diète.

3.5.3 Test de virulence

Pour les 4 souches ainsi que pour le témoin positif et le témoin négatif, 2 modalités ont été testées : exposition limitée (3 heures) et exposition continue (10 jours). Pour tester l'effet d'une exposition limitée, une seule *D. sukii* a été placée par boîte de Petri contenant de la diète, avec à sa surface le CEP ayant sporulé. Après 3 heures d'exposition à la souche, la mouche a été retirée de la boîte de Petri et déposée dans un tube en verre (2,5 x 6 cm) dans lequel de la diète sans-antifongique avait été préalablement coulée. Un suivi de la mortalité de la mouche, chaque jour durant 10 jours, a été réalisé. Pour tester l'effet d'une exposition continue avec le CEP, la mouche a été laissée dans la boîte de Petri les 10 jours de suivi de la mortalité. Pour les 2 durées et les 6 traitements, 10 mouches mâles et 10 mouches femelles, âgées de 3 à 5 jours, ont été testées. Le chiffre 1 a été utilisé pour désigner les mouches mortes en spécifiant le jour exact de la mort. Le chiffre 0 a été utilisé pour désigner les mouches vivantes après 10 jours.

3.6 Statistiques

L'ensemble des analyses statistiques a été réalisé sur le logiciel R (version 3.6.0.). Pour les tests comportementaux, des modèles linéaires généralisés mixtes (GLMM) (distribution binomiale) ont été utilisés pour traiter les données. Pour le 1^{er} test, l'effet d'un seul facteur fixe "la concentration" a été testé. Le 2^{ème} test testait l'effet des facteurs fixes "virginité" et "faim". Pour les autres tests

comportementaux, seul l'effet du facteur fixe "molécule" ou du facteur "mélange" était testé. Un facteur aléatoire, bloc, a été inclu pour l'ensemble des expérimentations. Un bloc est représenté par un lot de 8 cages ventilées.

Pour l'analyse des réponses de l'électroantennographie, une ANOVA à un facteur a été réalisée suivi d'un test post hoc HSD de Tukey.

Des régressions de Cox ont été réalisées sur les données issues des tests de virulence des souches de champignons entomopathogènes en utilisant le témoin négatif comme référence. Seul l'effet du facteur traitement (CEPs, témoin positif et témoin négatif) a été évalué pour les deux durées (3h et 10) en comparant la distribution des résidus du modèle nul (intercept) et du modèle contenant le facteur d'intérêt (souche) avec une distribution χ^2 . Des courbes de survies de Kaplan-Meier ont ensuite été réalisées. Les packages suivants ont été utilisés : survival, ggplot2, survminer, car, lsmeans et lm4.

4 RÉSULTATS

4.1 Attractivité de la phéromone cis-11-Vaccényl Acétate

La solution vin-vinaigre (témoin positif) a été hautement attractive pour les adultes femelles de *D. sukuzii* ($z = 6,66$; $p < 0.001$). Pour le test témoin-témoin, le nombre de mouches ayant répondu a été équitablement réparti entre les deux boîtes de Pétri ($z = 0,62$; $p = 0,536$) (Figure 14). Ces résultats ont permis de montrer une absence de biais dans le dispositif et de valider le système expérimental.

Impact de la concentration de la phéromone

Sur l'ensemble des mouches testées, la proportion ayant réalisé un choix est supérieure pour la solution à 0,3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de cVA avec 31,74 % de choix contre 26,25 % pour celle à 0,1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (Figure 14). Ces proportions ne sont pas différentes significativement avec celle obtenue pour le témoin.

Les boîtes de Pétri contenant les papiers filtres imbibés de la phéromone seule ont été significativement plus attractives pour les adultes femelles de *D. sukuzii* comparées aux boîtes contenant le témoin et ce pour les deux concentrations : 0,3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ($z = 2,33$; $p = 0,019$) et 0,1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ($z = 2,07$; $p = 0,039$). Entre les deux concentrations testées, aucune différence significative de l'attractivité de la cVA n'a été observée ($z = -1.10$; $p = 0.275$).

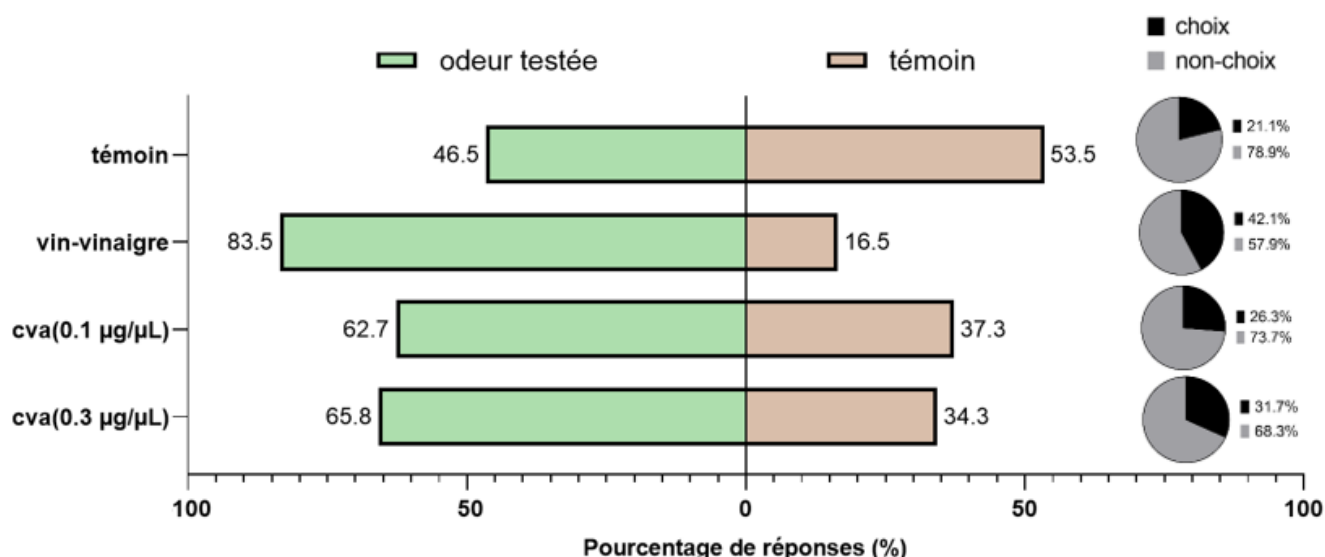


Figure 14. Pourcentage des adultes femelles de *D. sukuzii* ayant choisi l'odeur testée (vert) ou le témoin (brun). A droite, pourcentage de choix/non choix pour chaque attractant. Les données sont les résultats de 16 réplicas cumulés ($N=16$).

Impact de l'état physiologique de D. sukuzii

Suite aux résultats obtenus montrant l'attractivité des femelles (affamées et non-vierges) pour la cVA à 0,3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, des tests comportementaux ont été réalisés afin de tester l'effet de l'état physiologique sur ce choix. Les facteurs "faim" et "virginité" avec leurs modalités respectives affamées/non-affamées et vierges/non-vierges ont été testés.

Les femelles affamées/vierges ($z = 1,41$ et $p = 0,159$) et non-affamées/non-vierges ($z = -0,92$ et $p = 0,356$) n'ont montré aucune attractivité significative pour la phéromone comparée au témoin.

Le facteur "virginité" n'a pas eu d'impact sur l'attraction des mouches adultes pour la phéromone. L'attraction des femelles affamées pour la cVA était similaire qu'elles soient vierges ou non-vierges (Figure 15).

Le facteur "faim" a eu un impact sur l'attractivité des mouches testées. Une différence significative de l'attraction à la cVA des femelles non-vierges affamées et non-affamées a été observée ($z = -3,27$; $p = 0,047$). Entre les femelles affamées/vierges et non-affamées/non-vierges, l'attraction à la cVA était similaire significativement ($z = 2,22$; $p = 0,159$) bien que le test avec femelles affamées/vierges a enregistré 60% de choix pour phéromone contre 44,1% pour le test avec femelles non-affamées/non-vierges. Le pourcentage de mouches ayant fait un choix est plus élevé pour les femelles affamées/non-vierges. A l'inverse, les femelles non-affamées/non-vierges sont celles ayant le moins répondu.

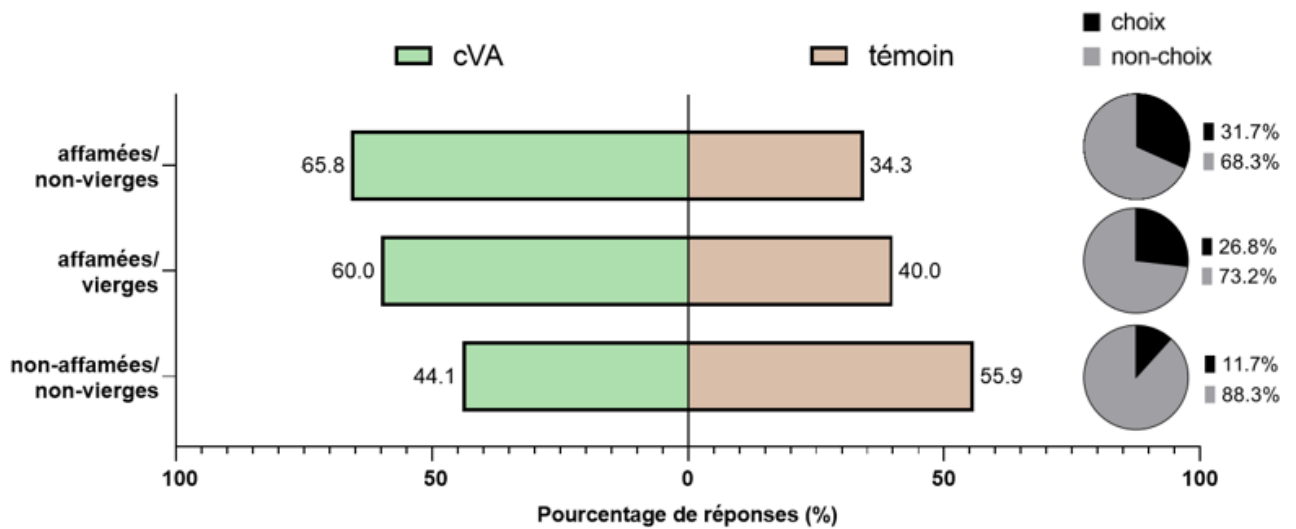


Figure 15. Pourcentage des adultes femelles de *D. sukii* ayant choisi la phéromone (vert) ou le témoin (brun) suivant 2 facteurs de l'état physiologique de la mouche ("faim" et "virginité"). A droite, pourcentage de choix/non-choix pour chaque attractant. (N=16)

Evaluation de la synergie entre la cis-11-Vaccényl Acétate et un extrait de fruits rouges

Parmi l'ensemble des combinaisons de modalités des deux facteurs, les mouches adultes femelles affamées et non-vierges ont montré une plus forte attractivité à la phéromone. Des mouches affamées et non-vierges ont donc été utilisées pour les tests comportementaux en présence de la phéromone et d'un extrait de fruits rouges.

Le nombre de mouches ayant choisi la phéromone seule (13,6%) est significativement inférieur au nombre de mouches ayant choisi le mélange phéromone/fruits rouges (86,4%) ($z = -3,49$; $p < 0,001$; Figure 16).

Le mélange phéromone/fruits rouges a été significativement moins attractif pour *D. sukii* (41%) que l'extrait de fruits rouges seul (59%) ($z = 2,68$; $p = 0,007$; Figure 16).

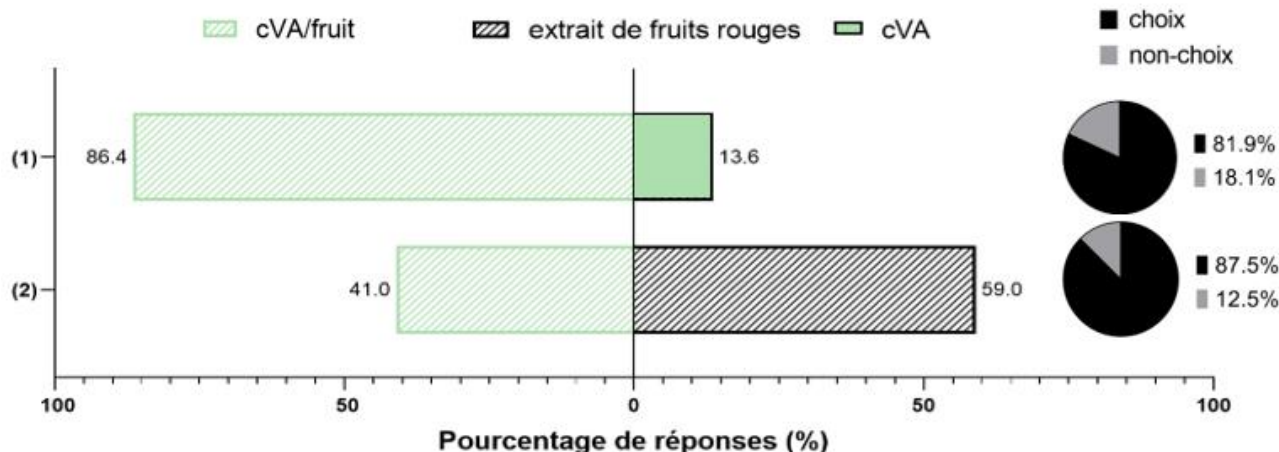


Figure 16. Pourcentage des adultes femelles de *D. sukuzii* ayant choisi (1) la cVA seule (vert) ou le mélange cVA/extrait de fruits rouges (vert hachuré) (2) l'extrait de fruits rouges seul (noir hachuré) ou le mélange cVA/extrait de fruits rouges (vert hachuré). A droite, pourcentage de choix/non-choix pour chaque test. (N=16)

4.2 Attractivité des molécules de fruits rouges

Individuellement, le linalool ($z = 2,198$; $p = 0,028$), le trans-2-hexenal ($z = 2,098$; $p = 0,0359$), le cis-3-hexen-1-ol ($z = 1,799$; $p = 0,072$) et le mélange des trois molécules ($z = 2,434$; $p = 0,0149$) ont été attractifs pour les adultes femelles de *D. sukuzii* (affamées et non-vierges). La cis-3-hexen-1-ol a eu le pourcentage le plus élevé de mouches ayant fait un choix (52%). Pour les trois autres molécules, le pourcentage de choix oscille entre 40 et 44 % (Figure 17).

Aucune différence significative de la proportion de mouches ayant choisi la(les) molécule(s) par rapport au nombre total de mouches ayant répondu n'a été observée entre les 4 tests. Parmi eux, les boîtes de Pétri comportant les molécules de linalool et de trans-2 hexenal-1-ol ont été légèrement plus attractives pour *D. sukuzii* avec respectivement 71% et 67% de choix pour la molécule comparé au témoin (eau).

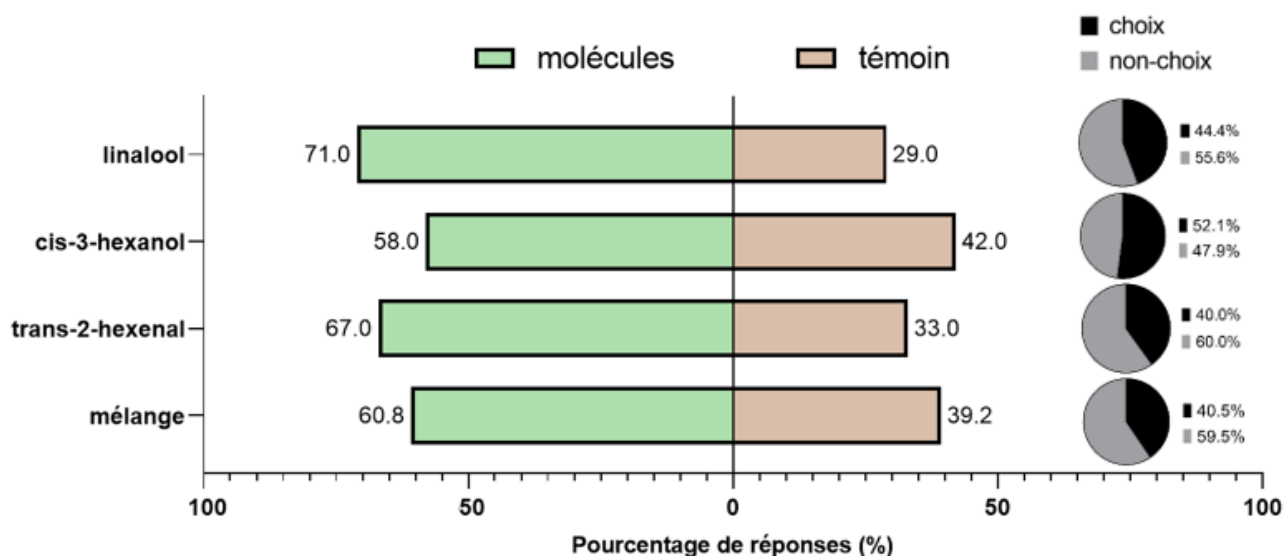


Figure 17. Pourcentage des adultes femelles de *D. sukuzii* ayant choisi la molécule (vert) ou le témoin (brun). A droite, pourcentage de choix/non-choix pour chaque attractant. (N=16)

4.3 Electroantennographie

Les réponses antennaires enregistrées avec le témoin négatif (solvant) et le témoin positif (vin-vinaigre) sont respectivement 431 et 1266 mV (Tableau 6). Ces résultats ont permis de montrer une absence de biais dans le dispositif et de valider le système expérimental.

Statistiquement, il n'y a pas eu de différence significative de la réponse antennaire entre mâles et femelles pour l'ensemble des traitements, excepté pour le mélange vin et vinaigre ($p = 0,0055$; Figure 18).

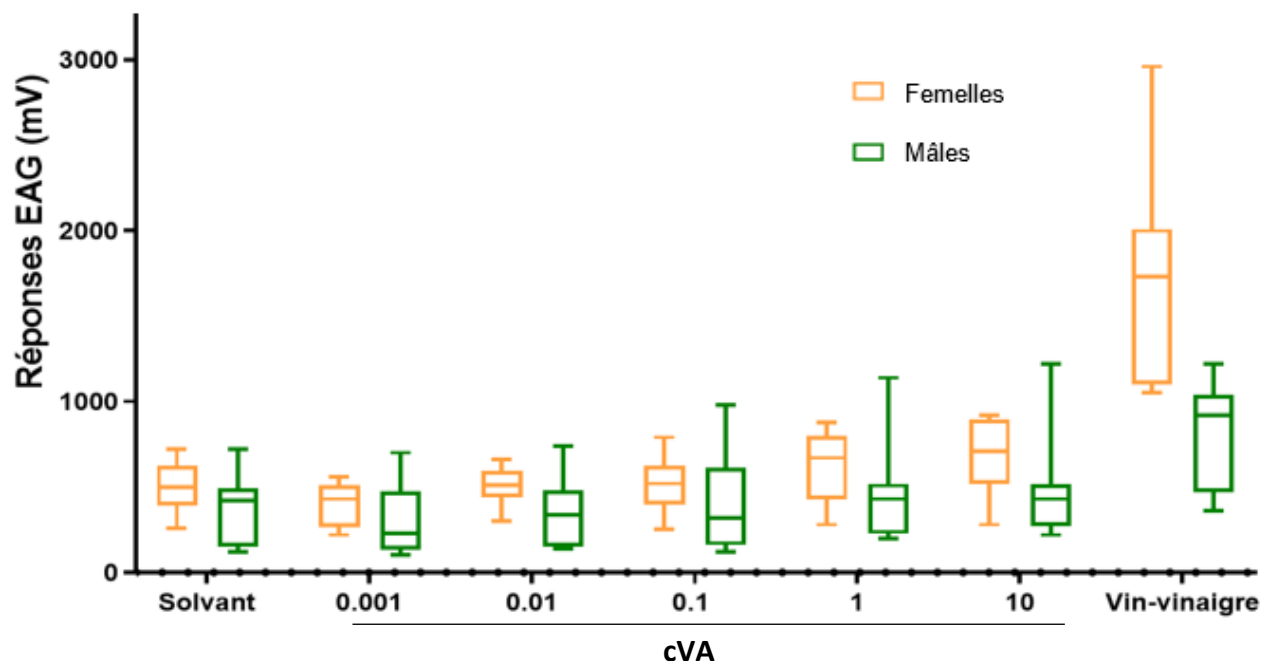


Figure 18. Réponses de l'électroantennographie (EAG) en mV de 8 adultes mâles et 8 adultes femelles *D. sukukii* au *N,N*-diméthylformamide (solvant), à un mélange de vin-vinaigre (60:40), et aux différentes concentrations [$\mu\text{g}/\mu\text{L}$] de la phéromone cVA.

Les réponses antennaires de *D. sukukii* à la solution de cVA ont augmenté sensiblement avec la concentration, bien qu'aucune différence significative n'ait été observée avec le témoin (solvant) (Tableau 6). A partir d'une concentration de 0,1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de cVA, les réponses enregistrées en EAG étaient supérieures aux réponses au témoin (solvant).

Tableau 6. Réponses (moyenne \pm SEM) de l'électroantennographie (EAG) de 16 adultes *D. sukukii* au *N,N*-diméthylformamide (solvant), à un mélange de vin-vinaigre (60:40) et aux différentes concentrations [$\mu\text{g}/\mu\text{L}$] de la phéromone cVA.

Réponses EAG (mV)						
Solvant	Cis-11-Vaccényl Acétate [$\mu\text{G}/\mu\text{L}$]					Solvant
	0.001	0.01	0.1	1	10	
431 \pm 46	357 \pm 44	427 \pm 45	466 \pm 59	538 \pm 66	587 \pm 70	1266 \pm 169

4.4 Evaluation de la virulence des souches de champignons entomopathogènes

Quatre souches de champignons entomopathogènes ont été testées afin de sélectionner les plus virulentes pour les adultes *D. suzukii*. Deux durées d'exposition, 3 heures et 10 jours, ont été évaluées (Figures 19 et 20). Un témoin positif (insecticide) et un témoin négatif (eau peptonée) ont également été testés.

3 heures d'exposition

La probabilité de survie diffère entre les traitements (Cox model, $\chi^2 = 40,82$, $p < 0,001$). En plus de l'insecticide ($p < 0,001$), la souche MUCL1555 ($p = 0,014$) a induit une différence significative de mortalité avec le témoin négatif (eau peptonée). Les souches MUCL8115 ($p = 0,76$), MUCL6859 ($p = 0,59$) et F52 ($p = 0,12$) n'ont pas eu d'effet significatif sur la mortalité comparé au témoin.

MUCL8115 a été la souche la plus efficace avec 85 % de mortalité 10 jours après une exposition de 3 heures au CEP. L'insecticide a montré une moins bonne efficacité avec 75% de mortalité en fin d'expérimentation. Cependant, ce pourcentage était atteint 5 jours après l'exposition. Pour la souche MUCL8115, ce n'est qu'au 6^{ème} jour que la probabilité de survie a commencé à diminuer.

La souche MUCL1555 a été efficace plus rapidement avec 10% de mort dès le 2^{ème} jour et 20 % le 4^{ème} jour. Les 3 autres souches ont enregistré une augmentation de la mortalité seulement à partir du 5^{ème} ou 6^{ème} jour. A la fin de l'expérimentation, le taux de mortalité des mouches exposées aux souches F52 et MUCL8115 était identique (70%). La souche MUCL6859 a été la moins efficace avec 45% de mouches mortes 10 jours après exposition, soit proche de la mortalité obtenue pour le témoin négatif (40%).

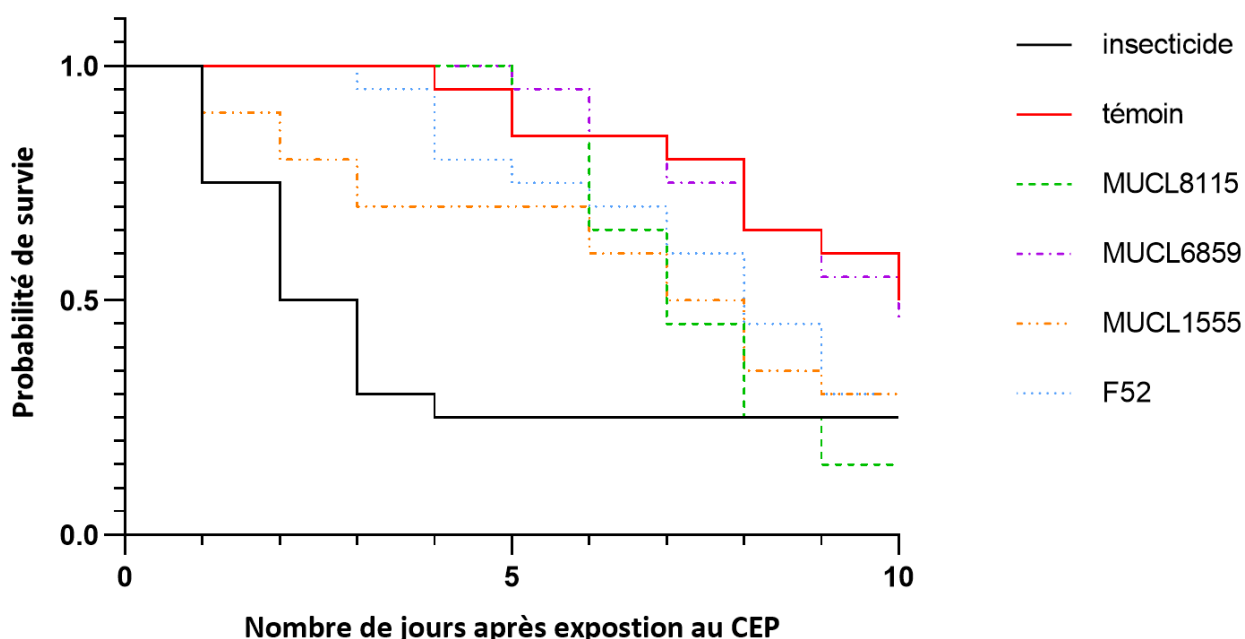


Figure 19. Probabilité de survie des adultes *D. suzukii* en fonction du temps après une exposition de 3 heures aux champignons entomopathogènes (CEP), au spinosad (témoin positif) ou à l'eau peptonée (témoin négatif). MUCL8115 = *Lecanillium lecanii*, MUCL6859 = *Metarhizium anisopliae*, MUCL 1555 = *Beauveria bassiana* et F52 = *Metarhizium anisopliae*.

10 jours d'exposition

La probabilité de survie diffère entre les traitements (Cox model, $\chi^2 = 31,24$, $p < 0,001$). En plus de l'insecticide ($p < 0,001$), la souche F52 ($p < 0,001$) a induit une différence significative de mortalité avec le témoin négatif (eau peptonée). Les souches MUCL8115 ($p = 0,41$), MUCL6859 ($p = 0,079$) et MUCL1555 ($p = 0,079$) n'ont pas eu d'effet significatif sur la mortalité comparé au témoin.

Comme attendu, l'exposition continue d'une durée de 10 jours a offert un niveau d'efficacité sensiblement plus élevé qu'après une exposition de 3 heures, excepté pour la souche MUCL8115, considéré comme la souche la moins efficace pour cette modalité. Au terme de l'expérimentation, seulement 65% des mouches exposées au CEP étaient mortes comparé à 85% après une exposition de 3 heures. La souche F52 a montré le meilleur résultat avec 95% de mortalité surpassant l'insecticide ayant 85% de mouches mortes après 10 jours d'exposition. Néanmoins, l'insecticide a agi plus rapidement avec 35% de mortalité dès le 1^{er} jour comparé à 5% pour la souche F52. Pour les 2 autres souches, dans l'ordre d'efficacité croissante on retrouve MUCL1555 puis MUCL6859 avec respectivement 70% et 80% de mortalité en fin d'expérimentation.

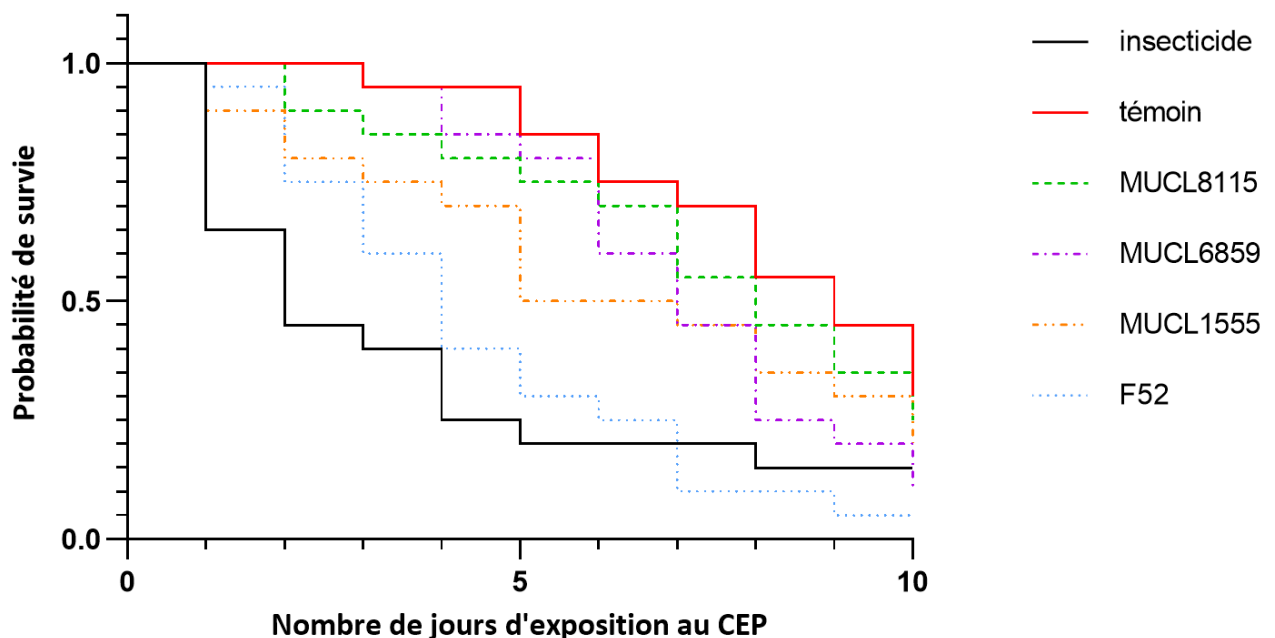


Figure 20. Probabilité de survie des adultes *D. sukii* en fonction du temps à une exposition continue pendant 10 jours aux champignons entomopathogènes (CEP). témoin = eau peptonée, insecticide = spinosad, MUCL8115 = *Lecanillium lecanii*, MUCL6859 = *Metarhizium anisopliae*, MUCL 1555 = *Beauveria bassiana* et F52 = *Metarhizium anisopliae*.

5 DISCUSSION

La première partie du travail avait pour objectif d'évaluer l'attractivité de différents composés organiques volatils pour *D. suzukii* afin de les intégrer par la suite dans une stratégie de lutte biologique de type « attract-and-kill ». Ainsi, l'attractivité pour la phéromone cis-11-Vaccényl Acétate a été évaluée lors de tests comportementaux, seule ou en mélange avec une mixture de fruits rouges. Une analyse par électroantennographie (EAG) a également été effectuée afin d'évaluer si (1) le sexe et (2) la concentration en cVA influençait la réponse antennaire. Trois molécules, linalool, cis-3-hexen-1-ol et trans-2-hexenal, retrouvées dans divers fruits hôtes de *D. suzukii* ont également été testées seules ou en mélange par des tests comportementaux afin d'évaluer leur attractivité.

La deuxième partie du travail consistait à évaluer la virulence de 4 souches de champignons entomopathogènes (MUCL8115, MUCL1555, MUCL6859 et F52) afin de sélectionner la souche la plus performante contre *D. suzukii*.

5.1 Composés organiques volatiles testés

5.1.1 La phéromone cis-11-Vaccényl Acétate

Dans ce travail, la phéromone sexuelle cis-11-Vaccényl acétate a fait l'objet de plusieurs tests, évaluant son attractivité sur la *D. suzukii*. Comme dit précédemment, cette espèce ne produit pas la cVA mais possède les récepteurs essentiels à la détection de cette phéromone (Wang & Anderson, 2010). L'analyse des résultats électrophysiologiques n'a pourtant pas permis de confirmer une sensibilité de la part des mouches. Les réponses antennaires des 5 solutions testées avec des concentrations en cVA respectives de 0,001 µg/µL, 0,01 µg/µL, 0,1 µg/µL, 1 µg/µL et 10 µg/µL n'ont pas montré de différence significative comparé à la réponse au témoin. La réponse au solvant étant élevée (431 mV), la réponse, plus faible, de la cVA a pu être cachée. Le temps d'attente (30 s) entre chaque puff était probablement trop court empêchant le solvant de s'évaporer entièrement. Une durée d'une à deux minutes est généralement utilisée (Beck et al., 2012 ; Syntech, 2015). La moyenne des amplitudes de dépolarisation (mV) a néanmoins augmenté avec l'augmentation de la concentration à partir de 0,1 µg/µL de cVA appliqué suggérant une réponse dose-dépendante et ce pour les deux sexes. Ces résultats sont appuyés par une étude comparant les réponses en EAG entre *D. suzukii* et *D. melanogaster* pour la cVA montrant une augmentation significative de la sensibilité à la phéromone avec l'augmentation de la dose appliquée (Dekker et al., 2015). Deux autres études ont également montré une augmentation similaire de la réponse (mV) à partir d'une concentration en cVA de 1 µg/µL pour *D. melanogaster* (Tolassy et al., 2023 ; Kurtovic et al., 2007). Une réponse dose-dépendante a été observée au niveau du comportement. Wang and Anderson (2021) ont montré une augmentation de l'agressivité entre les mâles *D. melanogaster* suite à l'augmentation de la concentration en phéromone. Les femelles quant à elles s'orientent et sélectionnent l'emplacement pour pondre leurs œufs en fonction de la dose perçue en cVA, agissant comme un indicateur du nombre de mâles présents à cet endroit (Verschut et al., 2023). De plus, ces recherches ont mis en évidence une similarité entre les réponses EAG émises par les mâles et les femelles. Les résultats obtenus renforcent cette observation. En effet, aucune différence significative n'a été observée entre les deux sexes pour l'ensemble des concentrations.

Étudiée principalement chez la *D. melanogaster*, la cVA remplit différentes fonctions parmi lesquelles l'agrégation des deux sexes pour l'accouplement (Knight et al., 2016). Chez *D. suzukii*, les réponses comportementales à la cVA sont différentes, caractérisées par un effet anti-aphrodisiaque marqué. Une étude précédente a montré qu'à la suite de l'application de la phéromone sur la

cuticule des adultes mâles de *D. suzukii*, le taux de reproduction a considérablement diminué (Dekker et al., 2015). De manière étonnante, les résultats des tests comportementaux effectués sur les adultes femelles de *D. suzukii* avec la cVA seule ne sont pas en accord avec cette étude. Au contraire, elles ont été davantage attirées par la boîte de Petri contenant la phéromone que par celle contenant le témoin, bien que le taux de réponses ait été relativement faible pour l'ensemble des tests (en moyenne 28% de choix).

La privation de nourriture des adultes femelles 24h avant le lancement de l'expérimentation a eu un impact sur l'attractivité de la cVA avec une augmentation significative du nombre de mouches se dirigeant vers la phéromone lorsqu'elles étaient affamées. En revanche, la virginité des femelles n'a pas influencé l'attractivité. Les drosophiles peuvent déposer leurs phéromones à l'endroit elles se sont nourries indiquant au reste de la population la présence d'un endroit favorable à la reproduction (Wertheim et al., 2006 ; Das et al., 2017). Ce phénomène d'agrégation est particulièrement vrai pour *D. melanogaster*. Il a été montré que pour cette espèce, les mouches s'agglutinaient préférentiellement sur la nourriture marquée préalablement par la cVA (Bartelt et al., 1985). Si un comportement identique se confirme chez *D. suzukii*, il n'est pas étonnant que les femelles, vierges ou non, aient été attirées de manière similaire à cette phéromone. De même, les *D. suzukii* ont pu associer la cVA à la présence de nourriture expliquant une plus grande attractivité pour les mouches affamées. Il serait intéressant de poursuivre ces recherches en vérifiant que les femelles se soient bien accouplées et à la recherche d'un site de ponte. Les femelles non-vierges sélectionnées pour l'expérimentation ont été récupérées dans des tubes contenant des adultes mâles et femelles de 3 à 5 jours, mais aucune vérification sur leur virginité n'a été réalisée.

Les tests comportementaux testant la combinaison de la phéromone et des odeurs de fruits rouges n'ont pas mis en évidence une synergie. Au contraire, un effet répulsif de la phéromone a été observé attirant les mouches préférentiellement vers la mixture de fruits rouges seule. La cVA n'a pas un effet co-attractif avec la nourriture pour toutes les espèces. *D. simulans* et *D. virilis* ne montrent pas une attractivité plus importante à la phéromone lorsque celle-ci est combinée avec une odeur de nourriture (Schaner et al., 1987). De plus, plusieurs études ont montré que *D. suzukii* avait tendance à éviter les sites de nourriture occupés par d'autres espèces de drosophiles. La compétition interspécifique pour un même site de ponte a un impact négatif sur la survie de sa population par la réduction du nombre d'œufs pondus (Dancau et al., 2017 ; Tungadi et al., 2023).

5.1.2 Les molécules extraites de fruits rouges

La mixture de fruits rouges a été attractive pour les femelles de *D. suzukii*. Ces résultats ne sont pas étonnants étant donné que les fruits hôtes principaux pour cette espèce sont par ordre de préférence la framboise, la fraise, la cerise et la myrtille et ce pour tous les stades de maturité (Abraham et al., 2015; Lee et al., 2019 ; Souza et al., 2020).

La recherche des ressources en nourriture est principalement guidée par les COVs émis par ces fruits. Les 3 substances volatiles synthétiques testées dans ce travail ont été sélectionnées car elles ont toutes été identifiées dans les extraits de fruits de framboise et induisent chez les femelles de *D. suzukii* une réponse électrophysiologique importante (Abraham et al., 2015). Le linalool a induit la plus grande attractivité chez *D. suzukii* parmi les 3 composés. Ce résultat est appuyé par une étude testant également l'attractivité de cette molécule pour *D. suzukii*. Baena et al ont démontré que la concentration en linalool était un indicateur du niveau de maturité des fruits permettant aux drosophiles de s'orienter vers la source de nourriture.

La molécule cis-3-hexen-1-ol n'a pas été attractive de manière significative. Pour d'autres diptères comme *Anastrepha ludens* et *Anastrepha obliqua*, on retrouve ce composé dans la formulation de leurs attractants (Abraham et al., 2015). L'absence d'attractivité pourrait s'expliquer par le

système expérimental utilisé. L'olfactomètre en Y est généralement employé pour tester l'attractivité des odeurs de COVs induisant un pourcentage de réponse plus important (Revadi et al., 2013). La durée d'expérimentation de 3 h peut influencer également les résultats. Une durée plus longue pourrait amener à un nombre plus important de mouche se dirigeant vers la molécule. Dans les études antérieures l'attractivité des composés est testée sur une durée de 24h (Revadi et al., 2013 ; Abraham et al., 2015).

Enfin, il convient de noter que le mélange des 3 composés s'est avéré significativement attractif pour *D. sukii*, bien que le nombre de mouches ayant répondu positivement aux boîtes de Petri contenant ce mélange soit inférieur au nombre de mouches ayant opté pour celles contenant le linalool ou le trans-2-hexenal seul.

5.2 Les Champignons entomopathogènes

Beauveria bassiana, *Metarizhium anisopliae* et *Lecacillium lecanii* sont trois espèces de champignons entomopathogènes dont la virulence envers *D. sukii* a été récemment testée en condition de laboratoire suivant plusieurs durées d'exposition (Galland et al., 2023). Les CEP étaient inoculés sur des plaques multi-puits remplis d'agar. Dans chaque puit, une *D. sukii* a été introduite. Ainsi, après une exposition de 10 secondes, 1 minutes, 10 minutes, 1 heure ou 3 heures au CEP, la mortalité des mouches était évaluée chaque jour durant 10 jours. Ce travail s'inscrit dans la continuité de ces recherches. L'évaluation de la virulence des trois espèces de CEP a été analysée après une exposition de 3 heures mais également à une exposition continue de 10 jours.

La différence principale avec l'expérimentation précédente réside dans le substrat utilisé pour l'inoculation des CEP. L'agar a été remplacé par de la diète ne contenant pas d'antifongique, coulée cette fois dans des boîtes de Petri et non sur une plaque multi-puits. Dans chaque boîte de Petri, la diète a été inoculée par 2 μ L d'eau peptonée contenant 10⁶ conidies/ μ L pour chaque CEP, des quantités comparables à celles appliquées dans chaque puit.

Parmi les trois espèces de CEP étudiées, seule la virulence de la souche de *M. anisopliae* F52 n'avait pas été analysée. Cette souche a induit une mortalité significativement différente comparé au témoin négatif. Son efficacité avait déjà été répertoriée dans une étude antérieure, dans laquelle 56 et 71% de mortalité après 7 jours d'expérimentation était observé chez *D. sukii* et *D. melanogaster* respectivement (Bing et al., 2021). *B. bassiana* a montré un effet significatif sur la mortalité uniquement pour la durée de 3 heures d'exposition. Ce résultat soutient les observations faites par d'autres études montrant son efficacité comme lutte biologique contre *D. sukii* (Cossentine et al., 2016 ; Alnajjar et al., 2017 ; Galland et al., 2023). La souche de *L. lecanii* et de *M. anisopliae* (MUCL6859) n'ont pas quant à eux induit une augmentation significative de de la mortalité. Cette observation contredit les résultats d'autres études montrant une efficacité significative de ces souches (Cossentine et al., 2016 ; Alnajjar et al., 2017). Dans l'étude de Galland et al (2023), l'absence d'effet pour ces deux souches avait aussi été observé. Trois hypothèses avaient alors été émises par cette même étude.

La première hypothèse consiste en la méthode employée. De nombreuses études ont testé la virulence des CEP en vaporisant les conidies directement sur le corps de l'insecte, induisant une mortalité plus importante que de simplement laisser marcher les mouches sur un substrat traité. La méthode utilisée dans ce travail a l'avantage d'être plus proche des conditions réelles d'applications rencontrées dans une stratégie « attract-and-kill ».

La deuxième hypothèse concernait l'application d'une plus faible concentration en conidies pour chaque CEP (10⁶ conidies/ μ L) associé à un temps d'exposition plus court. L'inoculation d'une concentration de 10⁹ conidies/ μ L pour une durée d'exposition allant jusqu'à 48h est souvent

rencontrée. Une durée d'exposition plus longue (10 jours) a été réalisée dans ce travail. Seule la virulence de la souche de *M. anisopliae* F52 a été impactée par une exposition prolongée comparé à une exposition de 3h.

La troisième hypothèse émise concerne la différence d'efficacité de mortalité entre les souches d'une même espèce.

6 CONCLUSION & PERSPECTIVES

Ce travail avait pour objectif de développer une lutte biologique de type « attract-and-kill » contre *D. suzukii*. Pour les deux parties, les résultats obtenus ont permis d'identifier plusieurs pistes de travaux futurs.

La cis-11-Vaccényl Acétate s'est montrée attractive pour les femelles de *D. suzukii*. Des tests comportementaux visant à tester l'attractivité à la cVA des adultes mâles peuvent être envisagés, étant donné que cette phéromone a un effet d'agrégation pour les deux sexes chez *D. melanogaster*. Il serait également intéressant de confirmer les résultats observés des femelles non-vierges en réalisant de nouveaux tests comportementaux dans lesquels l'état gravide des femelles (affamées ou non) est vérifié.

L'extrait de fruits rouges et la cVA n'ont pas montré d'effet synergique. Plutôt que d'utiliser des odeurs de fruits rouges, la phéromone pourrait être associée avec le mélange acétoïne/éthanol, connu pour être hautement attractive pour *D. suzukii*.

Le linalool et le trans-2-hexenal ont été attractifs pour les adultes de *D. suzukii*. De nouveaux COVs issues d'extrait de fruits peuvent être testés seuls et en mélange. En effet, peu d'études antérieures ont testé l'attractivité des COVs individuellement pour *D. suzukii*.

Enfin, les résultats obtenus de suivi de mortalité des *D. suzukii* exposées aux CEP sont encourageants, confirmant l'efficacité de *B. bassiana* et *M. anisopliae* pour tuer les adultes de *D. suzukii*. Il serait intéressant de poursuivre les expérimentations sur ces deux souches en continuant l'inoculation sur de la diète et ce pour différentes durées d'exposition. Ce substrat se rapproche des conditions réelles d'application rencontrées dans une stratégie « attract-and-kill ». A l'avenir, il serait possible de concentrer les recherches sur la réalisation d'essais en laboratoire qui combinent les CEP efficaces contre *D. suzukii* avec des sémiouchimiques attractifs et spécifiques au ravageur, en les encapsulant dans des billes d'alginate.

Contribution personnelle

Ce travail de fin d'étude a débuté par la recherche d'informations concernant les *D. sukii* et plus particulièrement les différents moyens de luttés existants afin de réaliser la synthèse bibliographique. Le développement d'une stratégie de lutte biologique « attract-and-kill » étant le sujet principal de ce mémoire, des recherches plus approfondies ont été effectuées sur les différents composés attractifs ainsi que les agents tuant la *D. sukii*.

Le fonctionnement de l'élevage de *D. sukii* m'a été rapidement expliqué durant le mois de février. La prise en charge complète de l'élevage m'a ensuite été accordé tout au long du mémoire. Cela impliquait chaque semaine la réalisation d'une diète ainsi que la gestion des tubes dans lesquelles les mouches réalisaient leur cycle.

La première molécule testée était la cis-11-Vaccényl Acétate. Les tests comportementaux testant l'attractivité de cette phéromone, seule ou en mélange avec des odeurs de fruits rouges, ont été mis en place. De l'électroantennographie a ensuite été réalisée testant les réponses antennaires des adultes de *D. sukii* à différentes concentrations en cVA. Pour ce faire, une formation sur l'utilisation de l'appareillage m'a été donnée au préalable.

L'attractivité de trois molécules issues d'extrait de fruits rouges a également été testée par plusieurs tests comportementaux, les testant individuellement et puis en mélange.

Pour la partie concernant les champignons entomopathogènes, je suis allé au laboratoire de mycologie de UCLouvain afin d'inoculer les quatre souches dans des boîtes de Petri. Une fois revenu à Gembloux, l'expérimentation d'une durée de 10 jours a pu être lancée.

Pour l'ensemble des expérimentations, des fiches de relevées ont été préparées. L'ensemble des données récoltées ont été traitées et analysées sur le logiciel Rstudio.

Des réunions d'équipes ont été organisées durant l'année à raison d'une fois par mois. A chaque réunion, une petite présentation m'a été demandée sur l'avancée de mes résultats.

Enfin, la phase finale consistait à rédiger le mémoire et à améliorer le document suite aux nombreuses corrections effectuées par mon promoteur et les doctorantes.

La réalisation de ce travail m'a permis d'acquérir des connaissances en entomologie aussi bien théoriques que pratiques. Ce travail a également renforcé mon intérêt concernant les questions liées au développement de méthodes alternatives pour une agriculture plus durable et respectueuse de l'environnement. En fin de compte, d'un point de vue personnel, les principales compétences acquises durant ce mémoire auront été le travail d'équipe et plus particulièrement l'organisation et la communication.

7 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A. Ickowitz B, 2020. Agricultural intensification, dietary diversity, and markets in the global food security narrative | Elsevier Enhanced Reader. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2018.11.002>
- Agriculture – Action de l'UE | Union européenne, n.d. URL https://european-union.europa.eu/priorities-and-actions/actions-topic/agriculture_fr (accessed 3.15.23).
- Alkema, J.T., Dicke, M., Wertheim, B., 2019. Context-Dependence and the Development of Push-Pull Approaches for Integrated Management of *Drosophila suzukii*. *Insects* 10, 454. <https://doi.org/10.3390/insects10120454>
- Alnajjar, G., Drummond, F.A., Groden, E., 2017. Laboratory and Field Susceptibility of *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae) to Entomopathogenic Fungal Mycoses. *jaue* 33, 111–132. <https://doi.org/10.3954/1523-5475-33.1.111>
- Arnó, J., Solà, M., Riudavets, J., Gabarra, R., 2016. Population dynamics, non-crop hosts, and fruit susceptibility of *Drosophila suzukii* in Northeast Spain. *J Pest Sci* 89, 713–723. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0774-3>
- Asplen, M.K., Anfora, G., Biondi, A., Choi, D.-S., Chu, D., Daane, K.M., Gibert, P., Gutierrez, A.P., Hoelmer, K.A., Hutchison, W.D., Isaacs, R., Jiang, Z.-L., Kárpáti, Z., Kimura, M.T., Pascual, M., Philips, C.R., Plantamp, C., Ponti, L., Véték, G., Vogt, H., Walton, V.M., Yu, Y., Zappalà, L., Desneux, N., 2015. Invasion biology of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*): a global perspective and future priorities. *J Pest Sci* 88, 469–494. <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0681-z>
- Bartelt, R.J., Schaner, A.M., Jackson, L.L., 1985. cis-Vaccenyl acetate as an aggregation pheromone in *Drosophila melanogaster*. *J Chem Ecol* 11, 1747–1756. <https://doi.org/10.1007/BF01012124>
- Beck, J.J., Light, D.M., Gee, W.S., 2012. Electroantennographic Bioassay as a Screening Tool for Host Plant Volatiles. *J Vis Exp* 3931. <https://doi.org/10.3791/3931>
- Beers, E.H., Van Steenwyk, R.A., Shearer, P.W., Coates, W.W., Grant, J.A., 2011. Developing *Drosophila suzukii* management programs for sweet cherry in the western United States. *Pest Management Science* 67, 1386–1395. <https://doi.org/10.1002/ps.2279>
- Bellamy, 2013. Quantifying Host Potentials: Indexing Postharvest Fresh Fruits for Spotted Wing *Drosophila*, *Drosophila suzukii* | PLOS ONE . URL <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0061227> (accessed 4.3.23).
- Bertelsmeier, 2021. Globalization and the anthropogenic spread of invasive social insects | Elsevier Enhanced Reader. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2021.01.006>
- Bi, Y., Zhang, X., Chang, X., Li, J., Xiao, S., Zhang, B., Dang, C., Sun, L., Yao, H., Fang, Q., Wang, F., Ye, G., 2023. Olfactory behavioral responses of two *Drosophila* species and their pupal parasitoid to volatiles from bananas. *Pest Management Science*. <https://doi.org/10.1002/ps.7628>
- Biganski, S., Wennmann, J.T., Vossbrinck, C.R., Kaur, R., Jehle, J.A., Kleespies, R.G., 2020. Molecular and morphological characterisation of a novel microsporidian species, *Tubulinosema suzukii*, infecting *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 174, 107440. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107440>
- Bianchi, F., Spitaler, U., Castellan, I., Cossu, C.S., Brigadoi, T., Duménil, C., Angeli, S., Robatscher, P., Vogel, R.F., Schmidt, S., Eisenstecken, D., 2020. Persistence of a Yeast-Based (*Hanseniaspora uvarum*) Attract-and-Kill Formulation against *Drosophila suzukii* on Grape Leaves. *Insects* 11, 810. <https://doi.org/10.3390/insects11110810>

- Billeter, J.-C., Levine, J., 2015. The role of cVA and the Odorant binding protein Lush in social and sexual behavior in *Drosophila melanogaster*. *Frontiers in Ecology and Evolution* 3.
- Bing, X.-L., Winkler, J., Gerlach, J., Loeb, G., Buchon, N., 2021. Identification of natural pathogens from wild *Drosophila suzukii*. *Pest Management Science* 77, 1594–1606. <https://doi.org/10.1002/ps.6235>
- Blassioli-Moraes, M.C., Laumann, R.A., Michereff, M.F.F., Borges, M., 2019. Semiochemicals for Integrated Pest Management, in: Vaz Jr., S. (Ed.), *Sustainable Agrochemistry: A Compendium of Technologies*. Springer International Publishing, Cham, pp. 85–112. https://doi.org/10.1007/978-3-030-17891-8_3
- Boughdad, A., Haddi, K., El Bouazzati, A., Nassiri, A., Tahiri, A., El Anbri, C., Eddaya, T., Zaid, A., Biondi, A., 2021. First record of the invasive spotted wing *Drosophila* infesting berry crops in Africa. *J Pest Sci* 94, 261–271. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01280-0>
- Briem, F., Staudacher, K., Eben, A., Traugott, M., Gross, J., Vogt, H., 2017. Habitat use and a molecular approach to analyze the diet of *Drosophila suzukii*. *IOBC-WPRS Bulletin* 123, 180–182.
- Cha, D.H., Adams, T., Werle, C.T., Sampson, B.J., Adamczyk Jr, J.J., Rogg, H., Landolt, P.J., 2014. A four-component synthetic attractant for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) isolated from fermented bait headspace. *Pest Management Science* 70, 324–331. <https://doi.org/10.1002/ps.3568>
- Cha, D.H., Roh, G.H., Hesler, S.P., Wallingford, A., Stockton, D.G., Park, S.K., Loeb, G.M., 2021. 2-Pentylfuran: a novel repellent of *Drosophila suzukii*. *Pest Management Science* 77, 1757–1764. <https://doi.org/10.1002/ps.6196>
- Cimino, A.M., Boyles, A.L., Thayer, K.A., Perry, M.J., 2017. Effects of Neonicotinoid Pesticide Exposure on Human Health: A Systematic Review. *Environmental Health Perspectives* 125, 155–162. <https://doi.org/10.1289/EHP515>
- Cini, A., Ioriatti, C., Anfora, G., n.d. 2012 A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. 2012
- Cossentine, J., Robertson, M., Buitenhuis, R., 2016. Impact of acquired entomopathogenic fungi on adult *Drosophila suzukii* survival and fecundity. *Biological Control* 103, 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.09.002>
- Cuthbertson, A.G.S., Audsley, N., 2016. Further Screening of Entomopathogenic Fungi and Nematodes as Control Agents for *Drosophila suzukii*. *Insects* 7, 24. <https://doi.org/10.3390/insects7020024>
- Dancau, T., Stemberger, T.L.M., Clarke, P., Gillespie, D.R., 2017. Can competition be superior to parasitism for biological control? The case of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*), *Drosophila melanogaster* and *Pachycrepoideus vindemmiae*. *Biocontrol Science and Technology* 27, 3–16. <https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1241982>
- Das, S., Trona, F., Khallaf, M.A., Schuh, E., Knaden, M., Hansson, B.S., Sachse, S., 2017. Electrical synapses mediate synergism between pheromone and food odors in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114, E9962–E9971. <https://doi.org/10.1073/pnas.1712706114>
- De Ros, G., Grassi, A., Pantezzi, T., 2020. Recent Trends in the Economic Impact of *Drosophila suzukii*, in: Garcia, F.R.M. (Ed.), *Drosophila Suzukii Management*. Springer International Publishing, Cham, pp. 11–27. https://doi.org/10.1007/978-3-030-62692-1_2
- Dekker, T., Revadi, S., Mansourian, S., Ramasamy, S., Lebreton, S., Becher, P.G., Angeli, S., Rota-Stabelli, O., Anfora, G., 2015. Loss of *Drosophila* pheromone reverses its role in sexual communication in *Drosophila suzukii*. *Proc Biol Sci* 282, 20143018. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.3018>

- Delcourt, L., 2023. Agroécologie : enjeux et défis. Centre tricontinental. URL <https://www.cetri.be/Agroecologie-enjeux-et-defis> (accessed 3.15.23).
- Disi, J.O., Sial, A.A., 2021. Laboratory Selection and Assessment of Resistance Risk in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) to Spinosad and Malathion. *Insects* 12, 794. <https://doi.org/10.3390/insects12090794>
- *Drosophila suzukii* (DROSSU) EPPO Global Database, n.d. URL <https://gd.eppo.int/taxon/DROSSU/distribution> (accessed 3.17.23).
- Ejima, A., 2015. Pleiotropic actions of the male pheromone cis-vaccenyl acetate in *Drosophila melanogaster*. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 201, 927–932. <https://doi.org/10.1007/s00359-015-1020-9>
- Farnsworth, D., Hamby, K.A., Bolda, M., Goodhue, R.E., Williams, J.C., Zalom, F.G., 2017. Economic analysis of revenue losses and control costs associated with the spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii* (Matsumura), in the California raspberry industry. *Pest Management Science* 73, 1083–1090. <https://doi.org/10.1002/ps.4497>
- Fellin, L., Grassi, A., Puppato, S., Saddi, A., Anfora, G., Ioriatti, C., Rossi-Stacconi, M.V., 2023. First report on classical biological control releases of the larval parasitoid *Ganaspis brasiliensis* against *Drosophila suzukii* in northern Italy. *BioControl* 68, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10526-022-10174-2>
- Full article: X-ray radiation and developmental inhibition of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae), URL <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09553002.2016.1230236> (accessed 4.2.23).
- Gabarra, R., Riudavets, J., Rodríguez, G.A., Pujade-Villar, J., Arnó, J., 2015. Prospects for the biological control of *Drosophila suzukii*. *BioControl* 60, 331–339.
- Gabriella Tait, 2021. *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): A Decade of Research Towards a Sustainable Integrated Pest Management Program | *Journal of Economic Entomology* | Oxford Academic. URL <https://academic.oup.com/jee/article/114/5/1950/6369578> (accessed 3.19.23).
- Galland, C.D., Lalaymia, I., Declerck, S., Verheggen, F., 2023. Efficacy of entomopathogenic fungi against the fruit fly *Drosophila suzukii* and their side effects on predator (*Orius laevigatus*) and pollinator (*Bombus terrestris*) insects (preprint). In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3062017/v1>
- Galland, C., 2022. Would you harm a fly? An introduction to *Drosophila suzukii* and alternative methods for controlling this invasive pest. *Bull. Soc. R. Sci. Liege*. <https://doi.org/10.25518/0037-9565.11012>
- Galland, C.D., Glesner, V., Verheggen, F., 2020. Laboratory and field evaluation of a combination of attractants and repellents to control *Drosophila suzukii*. *Entomologia Generalis* 263–272. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2020/1035>
- Grassi, Albert ; Amphore, Gianfranco ; Maistri, Simone ; Ioriatti, Claudio, 2014. Développement et efficacité de Droskidrink, un appât alimentaire pour piéger *Drosophila suzukii*. URL <https://openpub.fmach.it/handle/10449/23692> (accessed 8.9.23).
- Gregg, P.C., Del Socorro, A.P., Landolt, P.J., 2018. Advances in Attract-and-Kill for Agricultural Pests: Beyond Pheromones. *Annu Rev Entomol* 63, 453–470. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-035040>
- Gompel's lab *Drosophilidae* plates – Nicolas, URL <http://gompel.org/images-2/drosophilidae> (accessed 8.16.23).
- Hauser, M., 2011. A historic account of the invasion of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in the continental United States, with remarks on their identification. *Pest Management Science* 67, 1352–1357. <https://doi.org/10.1002/ps.2265>

- John Abraham, 2015. Behavioral and Antennal Responses of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) to Volatiles From Fruit Extracts | Environmental Entomology | Oxford Academic. URL <https://academic.oup.com/ee/article/44/2/356/2465037> (accessed 3.25.23).
- Joseph O Disi, Ashfaq A Sial, 2019. Efficacy of HOOK SWD Attract-and-Kill SPLAT for Management of Spotted-Wing *Drosophila* in Georgia Rabbiteye Blueberry, 2018 | Arthropod Management Tests | Oxford Academic. URL <https://academic.oup.com/amt/article/44/1/tsy112/5290262> (accessed 3.25.23).
- Keeseey, I.W., Knaden, M., Hansson, B.S., 2015. Olfactory Specialization in *Drosophila suzukii* Supports an Ecological Shift in Host Preference from Rotten to Fresh Fruit. *J Chem Ecol* 41, 121–128. <https://doi.org/10.1007/s10886-015-0544-3>
- 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. *J Pest Sci* 89, 735–748. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0755-6>
- Kevin R. Cloonan, John Abraham, Sergio Angeli, Zainulabeuddin Syed & Cesar Rodriguez-Saona, 2018. Advances in the Chemical Ecology of the Spotted Wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*) and its Applications | SpringerLink. URL <https://link.springer.com/article/10.1007/s10886-018-1000-y> (accessed 8.8.23).
- Kevin B. Rice, 2017. Development of an Attract-and-Kill Strategy for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Evaluation of Attracticidal Spheres Under Laboratory and Field Conditions | Journal of Economic Entomology | Oxford Academic. URL <https://academic.oup.com/jee/article/110/2/535/3053353> (accessed 3.25.23).
- Kevin B. Rice, 2016. Behavioral Responses of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) to Visual Stimuli Under Laboratory, Semifield, and Field Conditions | Environmental Entomology | Oxford Academic. URL <https://academic.oup.com/ee/article/45/6/1480/2669410?login=true> (accessed 3.21.23).
- Kim, Junheon, Kim, Jeongmin, Park, C.G., 2016. X-ray radiation and developmental inhibition of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae). *International Journal of Radiation Biology* 92, 849–854. <https://doi.org/10.1080/09553002.2016.1230236>
- Klick, J., Rodriguez-Saona, C.R., Cumplido, J.H., Holdcraft, R.J., Urrutia, W.H., da Silva, R.O., Borges, R., Mafra-Neto, A., Seagraves, M.P., 2019. Testing a Novel Attract-and-Kill Strategy for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) Management. *Journal of Insect Science* 19. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iey132>
- Knapp, L., Mazzi, D., Finger, R., 2021. The economic impact of *Drosophila suzukii*: perceived costs and revenue losses of Swiss cherry, plum and grape growers. *Pest Management Science* 77, 978–1000. <https://doi.org/10.1002/ps.6110>
- Knight, A.L., Basoalto, E., Yee, W., Hilton, R., Kurtzman, C.P., 2016. Adding yeasts with sugar to increase the number of effective insecticide classes to manage *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in cherry. *Pest Management Science* 72, 1482–1490. <https://doi.org/10.1002/ps.4171>
- Kurtovic Amina, Alexandre Widmer & Barry J. Dickson, 2007. A single class of olfactory neurons mediates behavioural responses to a *Drosophila* sex pheromone | Nature [WWW Document]. URL <https://www.nature.com/articles/nature05672> (accessed 8.8.23).
- Kyle M Lewald, 2021. Population genomics of *Drosophila suzukii* reveal longitudinal population structure and signals of migrations in and out of the continental United States | G3 Genes|Genomes|Genetics | Oxford Academic. URL <https://academic.oup.com/g3journal/article/11/12/jkab343/6380432> (accessed 3.17.23).
- Landolt, P.J., Adams, T., Rogg, H., 2012. Trapping spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae), with combinations of vinegar and wine, and acetic

acid and ethanol: Trapping spotted wing drosophila. *Journal of Applied Entomology* 136, 148–154. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2011.01646.x>

- Lanouette, G., Brodeur, J., Fournier, F., Martel, V., Vreysen, M., Cáceres, C., Firlej, A., 2017. The sterile insect technique for the management of the spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*: Establishing the optimum irradiation dose. *PLOS ONE* 12, e0180821. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180821>
- Leach, H., Moses, J., Hanson, E., Fanning, P., Isaacs, R., 2018. Rapid harvest schedules and fruit removal as non-chemical approaches for managing spotted wing *Drosophila*. *J Pest Sci* 91, 219–226. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0873-9>
- Lee, 2019. Biological Control of Spotted-Wing *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae)—Current and Pending Tactics | *Journal of Integrated Pest Management* | Oxford Academic. URL <https://academic.oup.com/iipm/article/10/1/13/5480659> (accessed 4.3.23).
- Lee, J.C., Bruck, D.J., Dreves, A.J., Ioriatti, C., Vogt, H., Baufeld, P., 2011. In Focus: Spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, across perspectives. *Pest. Manag. Sci.* 67, 1349–1351. <https://doi.org/10.1002/ps.2271>
- Little, C.M., Chapman, T.W., Hillier, N.K., 2020. Plasticity Is Key to Success of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) Invasion. *Journal of Insect Science* 20, 5. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieaa034>
- Liu, D., Smagghe, G., Liu, T.-X., 2023. Interactions between Entomopathogenic Fungi and Insects and Prospects with Glycans. *Journal of Fungi* 9. <https://doi.org/10.3390/jof905075>
- Master, L Nogrove 2010. Climate change and invasive alien species CABI Working Paper 1, 30 pp. <https://www.cabi.org/Uploads/CABI/expertise/invasive-alien-species-working-paper.pdf>
- Meyerson, L.A., Mooney, H.A., 2007. Invasive alien species in an era of globalization. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5, 199–208. [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2007\)5\[199:IASIAE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2007)5[199:IASIAE]2.0.CO;2)
- Nadia Saeed, 2017. Postharvest short cold temperature treatment to preserve fruit quality after *Drosophila suzukii* damage. URL <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/09670874.2018.1539531?needAccess=true&role=button> (accessed 3.20.23).
- Nikolouli, K., Colinet, H., Renault, D., Enriquez, T., Mouton, L., Gibert, P., Sassu, F., Cáceres, C., Stauffer, C., Pereira, R., Bourtzis, K., 2018. Sterile insect technique and *Wolbachia* symbiosis as potential tools for the control of the invasive species *Drosophila suzukii*. *J Pest Sci* 91, 489–503. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0944-y>
- Noble, R., Dobrovin-Pennington, A., Shaw, B., Buss, D.S., Cross, J.V., Fountain, M.T., 2017. Fermentation for Disinfesting Fruit Waste From *Drosophila* Species (Diptera: Drosophilidae). *Environmental Entomology* 46, 939–945. <https://doi.org/10.1093/ee/nvx107>
- Pisa, L.W., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L.P., Bonmatin, J.M., Downs, C.A., Goulson, D., Kreuzweiser, D.P., Krupke, C., Liess, M., McField, M., Morrissey, C.A., Noome, D.A., Settele, J., Simon-Delso, N., Stark, J.D., Van der Sluijs, J.P., Van Dyck, H., Wiemers, M., 2015. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environ Sci Pollut Res* 22, 68–102. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3471-x>
- Reherrmann, G., Spitaler, U., Sahle, K., Cossu, C.S., Donne, L.D., Bianchi, F., Eisenstecken, D., Angeli, S., Schmidt, S., Becher, P.G., 2022. Behavioral manipulation of *Drosophila suzukii* for pest control: high attraction to yeast enhances insecticide efficacy when applied on leaves. *Pest Management Science* 78, 896–904. <https://doi.org/10.1002/ps.6699>
- Rendon, D., Walton, V., Tait, G., Buser, J., Lemos Souza, I., Wallingford, A., Loeb, G., Lee, J., 2019. Interactions among morphotype, nutrition, and temperature impact fitness of an invasive fly. *Ecology and Evolution* 9, 2615–2628. <https://doi.org/10.1002/ece3.4928>

- Renkema, J.M., Cuthbertson, A.G.S., 2018. Impact of multiple natural enemies on immature *Drosophila suzukii* in strawberries and blueberries. *BioControl* 63, 719–728.
- Revadi, S., Lebreton, S., Witzgall, P., Anfora, G., Dekker, T., Becher, P.G., 2015. Sexual Behavior of *Drosophila suzukii*. *Insects* 6, 183–196. <https://doi.org/10.3390/insects6010183>
- Revadi, S., Eccher, F., Mazzoni, V., Al-Ani, S., Carlin, S., Vrhovsek, U., Anfora, G., 2013. Olfactory responses of *Drosophila suzukii* to host plant volatiles. *Olfactory responses of Drosophila suzukii to host plant volatiles*. 91, 309–313.
- Ricardo A. Toledo-Hernández, 2021. Efficacy of food-based attractants for monitoring *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in berry crops | Elsevier Enhanced Reader. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105797>
- Rossi-Stacconi, M.V., Kaur, R., Mazzoni, V., Ometto, L., Grassi, A., Gottardello, A., Rota-Stabelli, O., Anfora, G., 2016. Multiple lines of evidence for reproductive winter diapause in the invasive pest *Drosophila suzukii*: useful clues for control strategies. *J Pest Sci* 89, 689–700. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0753-8>
- Santoiemma, G., Tonina, L., Marini, L., Duso, C., Mori, N., 2020. Integrated management of *Drosophila suzukii* in sweet cherry orchards. *Entomologia Generalis* 40, 297–305. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2020/0947>
- Schaner, A.M., Bartelt, R.J., Jackson, L.L., 1987. (Z)-11-octadecenyl acetate, an aggregation pheromone in *Drosophila simulans*. *J Chem Ecol* 13, 1777–1786. <https://doi.org/10.1007/BF00980218>
- Sharma, A., Srivastava, A., Shukla, A.K., Srivastava, K., Srivastava, A.K., Saxena, A.K., 2020. Entomopathogenic Fungi: A Potential Source for Biological Control of Insect Pests, in: Solanki, M.K., Kashyap, P.L., Kumari, B. (Eds.), *Phytobiomes: Current Insights and Future Vistas*. Springer, Singapore, pp. 225–250. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3151-4_9
- Schreinemachers, P., Tipraqsa, P., 2012. Agricultural pesticides and land use intensification in high, middle and low income countries. *Food Policy* 37, 616–626. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2012.06.003>
- Souza, Michele Trombin de, Souza, Mireli Trombin de, Morais, M.C., Oliveira, D. da C., Melo, D.J. de, Figueiredo, L., Zarbin, P.H.G., Zawadneak, M.A.C., Bernardi, D., 2022. Essential Oils as a Source of Ecofriendly Insecticides for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) and Their Potential Non-Target Effects. *Molecules* 27, 6215. <https://doi.org/10.3390/molecules27196215>
- Spitaler, 2020. Yeast species affects feeding and fitness of *Drosophila suzukii* adults - - [WWW Document]. URL <https://bia.unibz.it/esploro/outputs/journalArticle/Yeast-species-affects-feeding-and-fitness/991005802149401241#file-0> (accessed 3.27.23).
- Syntech GmbH Ockenfels Syntech GmbH Ockenfels - Kirchzarten - Germany, 2015. URL <https://www.ockenfels-syntech.com/> (accessed 8.16.23).
- Tait, G., Cabianca, A., Grassi, A., Pfab, F., Oppedisano, T., Puppato, S., Mazzoni, V., Anfora, G., Walton, V.M., 2020. *Drosophila suzukii* daily dispersal between distinctly different habitats. *Entomologia Generalis* 25–37. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2019/0876>
- Tolassy, V., Cazalé-Debat, L., Houot, B., Reynaud, R., Heydel, J.-M., Ferveur, J.-F., Everaerts, C., 2023. *Drosophila* Free-Flight Odor Tracking is Altered in a Sex-Specific Manner By Preimaginal Sensory Exposure. *J Chem Ecol* 49, 179–194. <https://doi.org/10.1007/s10886-023-01416-3>
- Tungadi, T.D., Powell, G., Shaw, B., Fountain, M.T., 2023. Factors influencing oviposition behaviour of the invasive pest, *Drosophila suzukii*, derived from interactions with other *Drosophila* species: potential applications for control. *Pest Management Science* n/a. <https://doi.org/10.1002/ps.7693>

- Urbaneja-Bernat, P., Cloonan, K., Zhang, A., Salazar-Mendoza, P., Rodriguez-Saona, C., 2021. Fruit volatiles mediate differential attraction of *Drosophila suzukii* to wild and cultivated blueberries. *J Pest Sci* 94, 1249–1263. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01332-z>
- Van Timmeren, S., Sial, A.A., Lanka, S.K., Spaulding, N.R., Isaacs, R., 2019. Development of a rapid assessment method for detecting insecticide resistance in spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii* Matsumura). *Pest Management Science* 75, 1782–1793. <https://doi.org/10.1002/ps.5341>
- Vigne - *Drosophile japonaise* (*Drosophila suzukii*), n.d. URL <http://ephytia.inra.fr/fr/C/25234/Vigne-Drosophile-japonaise-Drosophila-suzukii> (accessed 3.16.23).
- Verschut, T.A., Ng, R., Doubovetzky, N.P., Le Calvez, G., Sneep, J.L., Minnaard, A.J., Su, C.-Y., Carlsson, M.A., Wertheim, B., Billeter, J.-C., 2023. Aggregation pheromones have a non-linear effect on oviposition behavior in *Drosophila melanogaster*. *Nat Commun* 14, 1544. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37046-2>
- Wallingford, A.K., Cha, D.H., Loeb, G.M., 2018. Evaluating a push-pull strategy for management of *Drosophila suzukii* Matsumura in red raspberry. *Pest Manag Sci* 74, 120–125. <https://doi.org/10.1002/ps.4666>
- Walsh, D.B., Bolda, M.P., Goodhue, R.E., Dreves, A.J., Lee, J., Bruck, D.J., Walton, V.M., O’Neal, S.D., Zalom, F.G., 2011. *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive Pest of Ripening Soft Fruit Expanding its Geographic Range and Damage Potential. *Journal of Integrated Pest Management* 2, G1–G7. <https://doi.org/10.1603/IPM10010>
- Wang, L., Anderson, D.J., 2010. Identification of an aggression-promoting pheromone and its receptor neurons in *Drosophila*. *Nature* 463, 227–231. <https://doi.org/10.1038/nature08678>
- Wang, Q., Xu, P., Sanchez, S., Duran, P., Andrezza, F., Isaacs, R., Dong, K., 2021. Behavioral and physiological responses of *Drosophila melanogaster* and *D. suzukii* to volatiles from plant essential oils. *Pest Management Science* 77, 3698–3705. <https://doi.org/10.1002/ps.6282>
- Weißinger, L., Samuel, N., Breuer, M., Müller, C., 2019. Effects of Variety and Grape Berry Condition of *Vitis vinifera* on Preference Behavior and Performance of *Drosophila suzukii*. *Insects* 10, 432. <https://doi.org/10.3390/insects10120432>
- Wertheim, B., Allemand, R., Vet, L.E.M., Dicke, M., 2006. Effects of aggregation pheromone on individual behaviour and food web interactions: a field study on *Drosophila*. *Ecological Entomology* 31, 216–226. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2006.00757.x>
- Woltz, J.M., Donahue, K.M., Bruck, D.J., Lee, J.C., 2015. Efficacy of commercially available predators, nematodes and fungal entomopathogens for augmentative control of *Drosophila suzukii*. *Journal of Applied Entomology* 139, 759–770. <https://doi.org/10.1111/jen.12200>
- Yousef, M., Aranda-Valera, E., Quesada-Moraga, E., 2018. Lure-and-infect and lure-and-kill devices based on *Metarhizium brunneum* for spotted wing *Drosophila* control. *Journal of Pest Science* 91, 227–235. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0874-8>

8 ANNEXES

Date :

Cage	mol_G	mol_D	nb_G			nb_non_choix	nb_D			mort
			P	B	Int		P	B	Int	
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										

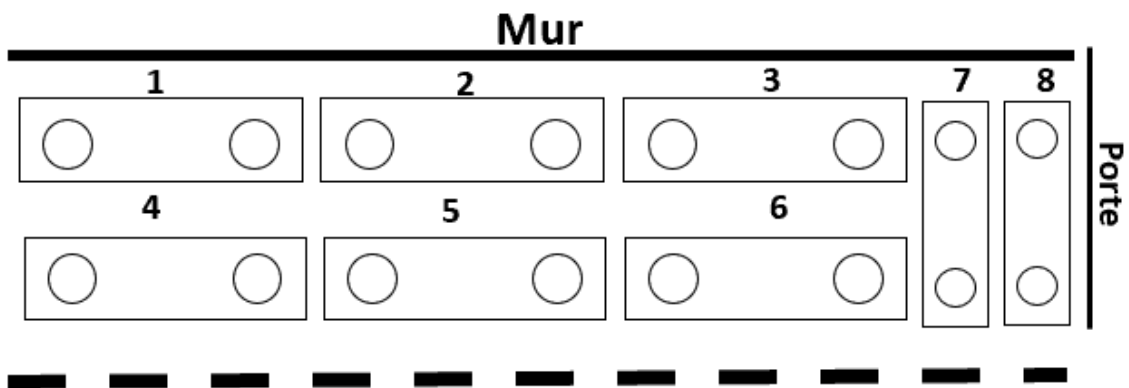


Figure 21. Modèle vierge d'encodage des résultats des tests comportementaux en cage ventilée à deux choix

id	trait	temps	statut	sexe	jours		id	trait	temps	statut	sexe	jours
	6859	3h					1	6859	10j			
2	6859	3h					2	6859	10j			
3	6859	3h					3	6859	10j			
4	6859	3h					4	6859	10j			
5	6859	3h					5	6859	10j			
6	6859	3h					6	6859	10j			
7	6859	3h					7	6859	10j			
8	6859	3h					8	6859	10j			
9	6859	3h					9	6859	10j			
10	6859	3h					10	6859	10j			
11	6859	3h					11	6859	10j			
12	6859	3h					12	6859	10j			
13	6859	3h					13	6859	10j			
14	6859	3h					14	6859	10j			
15	6859	3h					15	6859	10j			
16	6859	3h					16	6859	10j			
17	6859	3h					17	6859	10j			
18	6859	3h					18	6859	10j			
19	6859	3h					19	6859	10j			
20	6859	3h					20	6859	10j			

Figure 22. Modèle vierge d'encodage des résultats des tests de virulence des CEP. Exemple avec la souche MUCL6859 pour les deux durées d'exposition