

GUIDE D'UTILISATION DE LA BOÎTE À OUTILS

« Méthodologies d'évaluation de la régulation biologique naturelle des bio-agresseurs »

Publics visés

Enseignants, conseillers, expérimentateurs et toute personne qui souhaite travailler sur la régulation biologique des bio-agresseurs par les ennemis naturels.

Objectifs

Cette boîte à outils a pour objectif d'aider à choisir des méthodes¹ pour étudier le contrôle biologique et la régulation des bio-agresseurs par les ennemis naturels. Elle apporte pour cela des renseignements sur les différentes méthodes et techniques¹ disponibles, les classent suivant trois grands types d'objectifs et les évaluent selon plusieurs critères.



La mise en œuvre de chaque méthode ainsi que le plan d'expérience associé (protocole expérimental) restent à l'initiative totale de l'expérimentateur qui devra les adapter à son propre contexte (biologie du ravageur et ennemis visés, contraintes matérielles, objectif global...). Des exemples de mise en œuvre sont toutefois exposés dans chaque fiche à titre indicatif.

Contenu

- Le présent guide d'utilisation
- 7 « fiches méthodes » comprenant des informations techniques sur leur mise en œuvre
- Deux tableaux de synthèse comparatifs sur :
 - Les techniques de suivi des ennemis naturels (tableau n°1)
 - Les méthodes d'évaluation de la régulation naturelle détaillées dans les fiches (tableau n°2).

¹ Voir Glossaire en fin de document

Comment utiliser la boîte à outils ?



Lire ce guide jusqu'au bout !

Bien définir ses objectifs !



Trois objectifs identifiés en fonction d'une progression dans la compréhension des mécanismes relatifs à la régulation naturelle.

1. Mettre en évidence et caractériser les ennemis naturels
2. Montrer qu'il existe un lien de prédation/parasitisme entre un bio-agresseur et un ou des ennemis naturels
3. Quantifier la prédation/le parasitisme et la disparition des proies bio-agresseurs pour mieux évaluer la régulation



Se reporter à la série aux fiches méthodes correspondantes.



Consulter les tableaux de synthèse comparatifs (tableaux 1 et 2).



Pour des approches qui cherchent à faire le lien entre la régulation naturelle et le paysage se reporter au document « Paysage et régulation des bio-agresseurs : approches méthodologiques et connaissances actuelles par Claire Lavigne -UR PSH, INRA, Avignon et Sandrine Petit -UMR Agroécologie, INRA, Dijon, disponible sur le site du RMT (rubrique GT 1 2017). <http://www.rmt-biodiversite-agriculture.fr/moodle/>

Présentation des fiches en fonction des objectifs d'étude de la régulation naturelle

1. Mettre en évidence et caractériser les ennemis naturels

Il s'agit là d'une étape préliminaire indispensable pour aborder les questions relatives à la régulation.

Les objectifs sont, soit de vérifier la présence d'un ou plusieurs ennemis naturels (caractère démonstratif), soit de faire l'inventaire et caractériser les populations d'auxiliaires (caractère descriptif plus ou moins exhaustif et précis selon le niveau des déterminations taxonomiques).

Les techniques de capture et observation les plus couramment utilisées pour les arthropodes sont :

- Piégeage Barber
- Tente Malaise
- Piège à émergence
- Piège cornet
- Aspirateur
- Filets fauchoirs
- Battage ou frappage
- Observation visuelle
- Pièges englués
- Cuvette jaune
- Bandes pièges cartonnées
- Photo-éclosoir
- Berlèse

Dans les deux cas, des observations et/ou des prélèvements répétés de la faune sont requis. La caractérisation de ces techniques a été réalisée dans le cadre des projets Muscari, AuxiMORE et Gargamel. Elles sont présentées dans la **fiche n°1** et le **tableau de synthèse n°1** sur les techniques de suivi.

2. Montrer qu'il existe un lien de prédation/parasitisme entre un bio-agresseur et un ennemi naturel

Les méthodes utilisées sont d'ordre qualitatif et destinées à prouver que la prédation / le parasitisme s'exercent ou à déterminer « quel auxiliaire consomme quel bio-agresseur ? ». Dans les meilleurs cas elles peuvent fournir une approche semi-quantitative ou relative permettant de comparer la prédation/parasitisme dans différents contextes.

Les méthodes sont :

- Mesure de prédation en conditions contrôlées – **fiche n°2**

- Analyse biomoléculaire des contenus stomacaux des prédateurs insectivores et des crottes – **fiche n°3**
- Analyse des restes de proies dans les pelotes de rejection – **fiche n°4**
- Observation directe de la prédation et du parasitisme– **fiche n°5**

3. Quantifier la prédation/le parasitisme et évaluer la régulation

Ces méthodes sont plutôt d'ordre quantitatif et destinées à évaluer l'intensité de la prédation ou son impact et à « mesurer » la disparition des proies.

Les méthodes sont :

- Dispositif d'exclusion de la prédation ou du parasitisme – **fiche n°6**
- Mesure de prédation/parasitisme à l'aide de proies sentinelles – **fiche n°7**

Traitement des données issues de l'expérimentation

Le principe des analyses consiste à mettre en relation des variables biologiques décrivant les bio-agresseurs (abondances ou variation du nombre de bio-agresseurs au cours du temps...) avec des variables explicatives décrivant les auxiliaires (occurrence, abondance, diversité, dynamique..) ou les fonctions écologiques liées à la régulation (taux de prédation, de parasitisme, % de positifs PCR....). Cela peut être étendu à d'autres variables explicatives telles que des caractéristiques du paysage mesurées dans des 'buffers' dessinés autour des parcelles ou des points d'échantillonnage, des données météorologiques, des données d'itinéraires techniques...

Ces relations (ici des corrélations) peuvent être calculées pour plusieurs dates par exemple. On regarde ensuite des caractéristiques de ces corrélations : sens positif ou négatif, valeur, date ou distance de plus forte corrélation... Lorsqu'il y a plusieurs variables explicatives d'autres modèles statistiques sont possibles (modèles linéaires généralisés ou à effet mixtes par exemple).

Quelques notions sur « Les régulations naturelles »

Définitions

La **régulation biologique naturelle** désigne le fait de :

- Au sens écologique : maintenir en équilibre une population au sein d'un système complexe par des organismes vivants ou leurs produits (prédateurs, parasitoïdes, champignons entomopathogènes, toxines émises par certaines bactéries....).
- Au sens agronomique : maintenir la population d'un bio-agresseur en-dessous d'un seuil de nuisibilité (ou seuil économiquement acceptable par le producteur) en relation avec un seuil de dégâts : la récolte doit être assurée ainsi que la pérennité de la production de la parcelle pour les années suivantes

Niveau de population du bio-agresseur et niveau de dégâts ne sont pas toujours linéairement corrélés ! Dans la pratique il s'agit d'étudier une multiplicité de proies et d'ennemis naturels dont l'ensemble forme un réseau trophique comprenant de nombreuses interactions.

Les **ennemis naturels** sont des « êtres vivants qui détruisent les bio-agresseurs ou en atténuent les effets » (adapté de la définition du Ministère en charge de l'agriculture). Ils contribuent donc à réguler les bio-agresseurs de manière naturelle. Si les insectes sont souvent cités comme ennemis naturels, certains micro-organismes ou vertébrés le sont également. Ils peuvent réaliser une action de prédation ou de parasitisme sur les bio-agresseurs.

Les ennemis naturels peuvent consommer sans distinction plusieurs types et groupes de proies (auxiliaires **généralistes**) ou être spécialisés dans la consommation d'un groupe, voire d'une espèce (auxiliaires **spécialistes**).

La **lutte biologique par conservation** se définit comme une « pratique de modification de l'environnement et des pratiques existantes pour protéger et favoriser les populations d'ennemis naturels d'autres organismes phytophages des plantes cultivées, afin d'en réduire l'impact sur les cultures ». Contrairement aux insecticides chimiques qui peuvent éliminer presque totalement les bio-agresseurs (sous réserve de l'absence de résistance), la lutte biologique par conservation propose de diminuer les populations de bio-agresseurs afin qu'elles passent sous le seuil de l'acceptabilité (Murdoch, Chesson, et Chesson 1985).

Elle se base essentiellement sur la mise en œuvre d'aménagements agro-écologiques diversifiés fournissant des ressources, des abris et des sites de reproduction aux ennemis naturels. La régulation naturelle a lieu si la prédation ou le parasitisme par un ennemi naturel augmente suffisamment en réponse à une augmentation de la population du bio-agresseur. Cela se produit si le nombre de prédateurs et parasitoïdes consommant ou tuant le bio-agresseur multiplié par le nombre de ravageurs qu'ils consomment est supérieur à l'augmentation de la population du ravageur. Bien sûr cette vision simpliste prend exemple sur des auxiliaires et ravageurs qui n'ont qu'un stade de développement, et non plusieurs stades dont les capacités de déplacement et régimes alimentaires diffèrent. La croissance des colonies de pucerons (sur les arbres fruitiers par exemple) au printemps suit particulièrement bien ce modèle puisqu'ils sont sédentaires et se multiplient par parthénogénèse selon une croissance exponentielle.

Si le bio-agresseur a plusieurs stades au cours de son cycle de vie, un cortège d'auxiliaires est souvent responsable de sa régulation à des temps et dans des micro-habitats différents.

La prédation et le parasitisme ne peuvent être efficaces que s'il y a coïncidence spatiale et temporelle des auxiliaires et du bio-agresseur aux différentes phases de leur cycle (Losey et Denno 1999).

Dans les faits, les multiples études testant l'efficacité de la régulation de bio-agresseurs par des communautés d'auxiliaires suivant leur degré de richesse aboutissent à des conclusions variées (tantôt plus, tantôt moins de régulation, tantôt pas de différence) ; mais, globalement, la diversité des auxiliaires semble favorable (Letourneau et al. 2009).

Difficultés méthodologiques posées dans l'évaluation de la régulation

Contrairement aux nombreuses études qui ont démontré la consommation de bio-agresseurs par divers auxiliaires (Symondson et al. 2002), un nombre bien plus réduit d'études ont mis en évidence une régulation des bio-agresseurs, en parcelle ou en laboratoire. Les méthodes utilisées sont diverses :

- Cages d'exclusion (Riechert et Bishop 1990)
- Introduction d'auxiliaires dans la parcelle (Marc, Canard, et Ysnel 1999)
- Mésocosme¹ (Birkhofer *et al.* 2008)
- Microcosme¹ en laboratoire (Oelbermann et Scheu 2009)
- Corrélations entre abondance de bio-agresseurs et d'ennemis naturels comptés au champ (Boreau de Roince et al. 2013)
- Effet d'une pratique qui augmente le nombre des ennemis naturels (Isaia *et al.* 2010; Marko et Keresztes 2014)
- Modélisation et comptage au champ (Pekár *et al.* 2015)

Les difficultés méthodologiques de mesure d'une régulation des ravageurs sont assez générales à de nombreux auxiliaires et types de cultures. Le pouvoir de régulation a rarement été mis en évidence au champ, même pour des auxiliaires dont l'activité de régulation est facilement mesurée en laboratoire à petite échelle, comme les larves de coccinelles par exemple (Leslie *et al.* 2009; Wyss *et al.* 1999). Ces difficultés découlent de la non concordance des dynamiques entre auxiliaires et bio-agresseurs, de phénomènes d'agrégation des auxiliaires (et donc du choix de l'échelle d'approche) et du fait que parfois la réponse fonctionnelle (augmentation de la prédation avec l'augmentation du nombre de proies) se confond avec la dynamique de diminution des proies (migration naturelle des pucerons vers un hôte secondaire par exemple). L'analyse de données de comptages ponctuels, sans protocoles d'introduction artificielle d'auxiliaires, est rarement capable d'isoler les effets des différents facteurs. De plus les observations ne peuvent se faire qu'avec une pression minimale de bio-agresseurs, donc avec une pression phytosanitaire la plus basse possible. Par ailleurs l'échelle spatiale de déplacement des auxiliaires et des bio-agresseurs peut rendre caduques les résultats observés en conditions artificialisées (laboratoire, petit mésocosme).



La mesure de dégâts en situation de témoin non traité (absence de tout traitement phytosanitaire intervenant sur le(s) bio-agresseur(s) étudié(s)) est aussi une approche possible qui ne fait pas l'objet d'une fiche méthode. Cette observation doit être effectuée de façon très régulière au cours du temps afin d'identifier la dynamique d'évolution des dégâts (et si possible en parallèle la population du bio-agresseur visé) car il est difficile de relier un niveau final de dégâts avec l'action d'ennemis naturels qui a lieu plusieurs semaines ou mois précédents. De plus, cette mesure est la résultante de la régulation naturelle et de la pression initiale en ravageur qu'il est bien de pouvoir évaluer également. Cette approche peut être couplée aux autres méthodes présentées ici. L'intérêt d'un témoin non traité réside dans le fait d'être « au plus proche » de la régulation biologique naturelle, en biaisant le moins possible la présence des ravageurs et de leurs ennemis naturels (par des facteurs autres que les facteurs climatiques). Il peut être habile de l'inclure dans un dispositif comprenant des parcelles avec différents niveaux d'intrants.

Glossaire

- **Technique** : c'est le moyen d'observation et de recensement de la biodiversité. Par exemple : les pots Barber.
- **Méthode** : la « méthode de collecte est un ensemble de techniques, de savoir-faire et/ou d'outils spécifiques mobilisés de manière logique (règles, étapes et principes) pour collecter des données associées à un paramètre à observer ». Elle doit être reproductible dans le temps et dans l'espace. La méthode est choisie en fonction de la cible et de la question posée. Par exemple, les mesures de prédation en conditions contrôlées.
- **Mésocosme/microcosme** : c'est un lieu confiné et contrôlé ou semi-contrôlé où un expérimentateur peut faire varier tout ou partie des paramètres du milieu ; sol, hygrométrie, température, teneur de l'air en CO₂ ou polluants, etc. Ce dispositif expérimental est destiné à l'étude des réponses d'espèces dans leur milieu (reconstitué). Selon les cas, il est installé dans un laboratoire sous lumière contrôlée, en plein air ou sous serre. Le radical « méso- » signifie qu'il est de taille moyenne, et généralement que les expériences qui s'y déroulent sont d'une durée moyenne. S'il était de petite taille, on parlerait de microcosme.
- **Protocole** : Il s'agit d'un plan d'étude qui précise comment les données doivent être collectées pour répondre à une question scientifique. C'est une technique répétée dans le temps et l'espace. Un protocole peut être associé ou pas à un plan d'échantillonnage. Le protocole est donc intimement lié à un objectif. Par exemple, dans le cadre d'une mesure de prédation en conditions contrôlées, il s'agit du nombre d'individus testés, du temps d'exposition des proies...
- **Plan d'échantillonnage** : C'est l'échelle spatiale et temporelle qui permet de répondre aux objectifs d'une étude. Pour répondre à une question scientifique, un protocole doit être choisi puis le plan d'échantillonnage précis comme ce protocole va être répété dans le temps et dans l'espace pour répondre aux objectifs.
- **Prédation** : la prédation (du latin *predator* : pilleur) est une relation purement alimentaire dans laquelle les prédateurs obtiennent de l'énergie en consommant entièrement ou non leur proie. La prise de nourriture par des insectes phytophages et des herbivores est aussi considérée comme une prédation.
- **Parasitisme** : l'ennemi naturel se développe aux dépens de l'organisme hôte et ne le tue pas au cours de son développement. Le parasitoïdisme est une forme particulière de parasitisme où la relation se termine toujours par la mise à mort de l'hôte par le parasite. Elle concerne les relations trophiques entre insectes.

Bibliographie

- Birkhofer, K., E. Gavish-Regev, K. Endlweber, Y. D. Lubin, K. von Berg, D. H. Wise, et S. Scheu. 2008. « Cursorial Spiders Retard Initial Aphid Population Growth at Low Densities in Winter Wheat ». *Bulletin of Entomological Research* 98 (3): 249-55. doi:10.1017/S0007485308006019.
- Boreau de Roince, C., C. Lavigne, J.-F. Mandrin, C. Rollard, et W. O. C. Symondson. 2013. « Early-season predation on aphids by winter-active spiders in apple orchards revealed by

- diagnostic PCR. » *Bulletin of entomological research* 103 (2): 148-54. doi:10.1017/S0007485312000636.
- Finke, Deborah L., et William E. Snyder. 2010. « Conserving the Benefits of Predator Biodiversity ». *Biological Conservation* 143 (10): 2260-69. doi:10.1016/j.biocon.2010.03.022.
- Isaia, Marco, S Beikes, M Paschetta, S Sarajayakesavalu, et G Badino. 2010. « Spiders as potential biological controllers in apple orchards infested by *Cydia* spp ». *European arachnology*, 79-88.
- Letourneau, Deborah K., Julie A. Jedlicka, Sara G. Bothwell, et Carlo R. Moreno. 2009. « Effects of Natural Enemy Biodiversity on the Suppression of Arthropod Herbivores in Terrestrial Ecosystems ». *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40 (1): 573-92. doi:10.1146/annurev.ecolsys.110308.120320.
- Losey, John E., et Robert F. Denno. 1999. « Factors facilitating synergistic predation: the central role of synchrony ». *Ecological Applications* 9 (2): 378-86. doi:10.1890/1051-0761(1999)009[0378:FFSPTC]2.0.CO;2.
- Marc, Patrick, Alain Canard, et Frédéric Ysnel. 1999. « Spiders (Araneae) useful for pest limitation and bioindication ». *Agriculture, Ecosystems & Environment* 74 (1-3): 229-73. doi:10.1016/S0167-8809(99)00038-9.
- Marko, Viktor, et Balazs Keresztes. 2014. « Flowers for Better Pest Control? Ground Cover Plants Enhance Apple Orchard Spiders (Araneae), but Not Necessarily Their Impact on Pests ». *Biocontrol Science and Technology* 24 (5): 574-96. doi:10.1080/09583157.2014.881981.
- Murdoch, William W., Jean Chesson, et Peter L. Chesson. 1985. « Biological Control in Theory and Practice ». *The American Naturalist* 125 (3): 344-66.
- Myers, Judith H., Charlene Higgins, et Ervin Kovacs. 1989. « How Many Insect Species Are Necessary for the Biological Control of Insects? » *Environmental Entomology* 18 (4): 541-47. doi:10.1093/ee/18.4.541.
- Naeem, Shahid, et Shibin Li. 1997. « Biodiversity Enhances Ecosystem Reliability ». *Nature* 390 (6659): 507-9. doi:10.1038/37348.
- Oelbermann, Katja, et Stefan Scheu. 2009. « Control of aphids on wheat by generalist predators: effects of predator density and the presence of alternative prey ». *Entomologia Experimentalis et Applicata* 132 (3): 225-31. doi:10.1111/j.1570-7458.2009.00876.x.
- Pekár, Stano, Radek Michalko, Pamela Loverre, Eva Líznavá, et Ludmila Černecká. 2015. « Biological Control in Winter: Novel Evidence for the Importance of Generalist Predators ». *Journal of Applied Ecology* 52 (1): 270-79. doi:10.1111/1365-2664.12363.
- Riechert, Susan E., et Leslie Bishop. 1990. « Prey Control by an Assemblage of Generalist Predators: Spiders in Garden Test Systems ». *Ecology* 71 (4): 1441-50. doi:10.2307/1938281.
- Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D., Greenstone, M. H., 2002. Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review of Entomology* 47, 561-594.
- Yachi, Shigeo, et Michel Loreau. 1999. « Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96 (4): 1463-68.