

**UNIVERSITÉ CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR**

Ecole Doctorale Science de la Vie de la Santé et de l'Environnement (**ED-SEV**)

Faculté des Sciences et Techniques (**FST**)

Année : 2019

N° d'ordre :



**THESE DE DOCTORAT**

Spécialité : Génétique des Populations

Présentée par :

M. Ahmadou SOW, né le 5 mai 1988 à Dakar

**Approche moléculaire et écologique pour évaluer les processus de  
régulation naturelle de la mineuse de le l'épi de mil, *Heliocheilus  
albipunctella* De Joannis, dans le bassin arachidier au Sénégal**

Soutenue le 03 juillet 2019 devant le jury composé de :

Président : M. Karamako Diarra, Professeur titulaire (UCAD)

Rapporteur : Mme. Constance AGBOGBA, Professeur assimilé (UCAD)

Rapporteur : M. Amadou Bocar BAL, Professeur assimilé (UGB)

Rapporteur : Mme. Nathalie CHARBONNEL, chargé de recherche (INRA, CBGP)

Examineur : M. Thierry BREVAULT, chargé de recherche (CIRAD)

Directeur de thèse : M. Mbacké SEMBENE, Professeur titulaire (UCAD)

## DEDICACES



Je rends grâce à Dieu, et je dédie ce travail à mon cher Père et à ma chère Mère, longue vie à vous qu'Allah vous protège.

Et à toute ma famille.

Mention spécial à ma femme et à notre princesse.



## REMERCIEMENT

“Alhamdoulillah” je rends grâce à Allah, le Tout Puissant pour m’avoir permis de mener à terme ce travail. Il est difficile de résumer en quelques mots ma reconnaissance pour ceux qui, par la grâce de Dieu, m’ont soutenu durant toutes ces années.

Cette thèse a été réalisée dans le laboratoire de Biopass (Centre commun, UCAD-IRD-ISRA) de Bel Air, et le Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (CBGP) de Montpellier. Elle a été financée par le Service de Coopération et d’Action Culturelle (SCAC) de l’ambassade de France au Sénégal, le CIRAD (Action incitative), et l’IFS (International Foundation for Science, Suède). Elle a été menée sous la direction de Pr Mbacké Sembène et sous l’encadrement de Dr. Thierry Brévault.

D’abord mes remerciements vont à l’encontre de tous ceux qui ont contribué à l’élaboration de cette thèse et à la rédaction du document, par là je veux citer :

**M. Mbacké Sembène**, directeur de cette thèse, merci pour tous vos conseils et orientations. Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude et tout le respect pour votre soutien intellectuel et moral. Votre disponibilité, votre simplicité, votre efficacité, votre dynamisme et votre courtoisie font de vous une référence dans cet immense temple du savoir et un repère de réussite pour toutes les générations.

**M. Thierry Brévault**, chercheur au CIRAD, encadreur principal de cette thèse, sans qui ce travail ne serait pas possible. Merci pour votre encadrement et votre soutien. J’ai su apprécier en vous dévouement, honnêteté, persévérance et rigueur dans le travail. J’ai su profiter de votre expérience dans tous les aspects de la recherche scientifique. Votre modestie, votre méthodologie, votre simplicité, votre compétence font de vous un modèle pour les jeunes chercheurs.

Les membres du jury d’avoir accepté de juger ce travail. Soyez rassurés de toute ma reconnaissance.

A l’ensemble des encadrants et collègues du CBGP, je veux citer par-là, Gérard Delvare, Julien Haran, Laure Benoit, Maxime Galan, Armelle Cœur-D’Acier, Marie-Pierre Chapuis, Henry-Pierre Aberlenc, Jean-Claude Stréito, Bruno Serrate, votre appui a été d’une importance capitale pour mener à bien cette thèse.

.

L'ensemble des étudiants de la faculté des Sciences et Techniques (FST/UCAD) qui ont effectué leurs stages de Master 2 dans le cadre de cette thèse, je veux nommer Bayo Ly (Master entomologie), Madiémé Ndiaye et Djbril Séye (Master écologie).

L'ensemble du personnel et les étudiants du laboratoire de BIOPASS avec qui j'ai eu la chance de travailler quotidiennement. Je veux nommer Dr. Anaïs Chailleux (Cirad) et Dr. Serigne Sylla (alias Doyen) à qui je témoigne ma profonde reconnaissance, à Dr. Arame Ndiaye, Dr. Fatima Mbaye, Dr. Tofféne Diom, Dr. Christophe Diagne, Moussa Sall, Cheikh Tidiane Niang, Demba Dalla Sow, Amy Mbodji, Sokhna Diarra Bousso Ba, Soda Kassé, Aliou Kabo, Aly Kounta, Samba Diop, Saliou Ndjiliw, Fatim Dosso, Grace Falone, Mme Nathalie Sarr, M. Mamadou KANE, M. Mamadou Diallo, et M. Youssou Niang.

Je ne saurais oublier mes amis et collègues de promotion du Master de Biologie Animale (UCAD) et particulièrement à ceux de la Spécialité Entomologie. Je ne saurais terminer sans remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, qu'ils trouvent ici la traduction de notre gratitude et de notre reconnaissance.

## RESUME

Le mil est l'une des céréales les plus cultivées en Afrique sub-saharienne, contribuant significativement à la réduction du risque d'insécurité alimentaire dans les zones les plus arides. Pourtant, la mineuse de l'épi de mil, *Heliocheilus albipunctella* de Joannis (Lepidoptera, Noctuidae), représente une contrainte majeure à l'intensification de sa production. L'objectif principal de cette thèse est de définir des modalités de pilotage du réseau trophique pour favoriser la régulation des populations de la mineuse de l'épi de mil dans les paysages agricoles à base de céréales sèches au Sénégal. Plus spécifiquement, elle vise à caractériser la biodiversité de l'entomofaune associée au mil, d'identifier les ennemis naturels associés à la mineuse de l'épi de mil, et d'évaluer l'effet de certains facteurs environnementaux sur l'action de régulation biologique des ennemis naturels.

Un réseau de parcelles a été suivi dans les régions de Bambey et Nioro du Rip au Sénégal, pour évaluer l'incidence de la mineuse et la régulation de ses populations par les ennemis naturels. L'incidence de la mineuse de l'épi de mil est élevée dans les deux territoires explorés, avec en moyenne 79% d'épis infestés. Cependant, une importante régulation des populations d'œufs et de larves par les ennemis naturels (68%), permet de limiter les pertes de rendement en grain (1 à 20%). Des outils moléculaires de séquençage à haut débit (High-Throughput Sequencing) combinés à une identification morphologique ont été utilisés pour construire une librairie de référence de l'entomofaune associée au mil. Au total, 13 espèces de parasitoïdes primaires dont cinq nouvelles espèces, et 19 prédateurs potentiels ont été inventoriés. Le diagnostic du parasitisme et de la prédation à partir d'individus collectés aux champs puis séquencés ont permis d'identifier les espèces d'ennemis naturels clés impliquées dans la régulation des populations de la MEM. Le parasitisme a été dominé par trois espèces, à savoir, *Trichogrammatoidea armigera* (l'unique parasitoïde des œufs), *Copidosoma primulum*, et *Schoelandella sahelensis* (parasitoïde larvaire). Deux prédateurs arthropodes (*Bradybeanus scalaris*, araneae sp.1), et deux prédateurs vertébrés (*Ploceus cucullatus*, *Taphozous mauritanus*) ont été identifiés. L'approche moléculaire est pertinente pour identifier et mesurer l'impact de la biodiversité (espèces cryptiques) et des interactions (multiparasitisme, concurrence intraguilde) des ennemis naturels sur la régulation des populations de MEM. L'effet du paysage sur l'incidence et la régulation naturelle de la MEM, a été évalué par un suivi d'un réseau de 60 parcelles à Bambey et Nioro en 2015 et 2016, sélectionné suivant deux gradients paysagers (distance au village et densité de végétation naturel). Nos résultats ont montré que les parcelles proches des villages ainsi que les parcelles à forte densité de végétation semi-naturelle (arbres et parcours) dans le paysage environnant, bénéficient plus des services écosystémiques fournis par les ennemis naturels.

Les résultats obtenus à l'issue de cette thèse, nous ont permis de comprendre l'importance des processus écologiques dans les agroécosystèmes, afin d'améliorer les stratégies de lutte biologique de la MEM au Sénégal.

**Mots clés :** Contrôle biologique, parasitisme, prédation, mineuse de l'épi de mil, *Heliocheilus albipunctella*, ennemis naturels, paysage, interactions.

## ABSTRACT

Millet is one of the most cultivated cereals in sub-Saharan Africa, contributing to the reduction of the risk of food insecurity in the most arid areas. However, the millet head miner, *Heliocheilus albipunctella* de Joannis (Lepidoptera, Noctuidae), is a major obstacle to the intensification of its production. The aim of this thesis is to define how the better knowledge of trophic network can help to regulate the populations of the millet head miner (MHM) in Senegal's dry cereal crop landscapes. Specifically, the aim is to characterize the biodiversity of the entomofauna associated with millet, to identify the natural enemies associated with the MHM, and to evaluate the effect of landscape context on the incidence and natural regulation of the MHM.

A field network was monitored in 2015-2016 in Bambey and Nioro area in Senegal, to assess the incidence of the leaf miner and the regulation of its populations by natural enemies. The incidence of the millet head miner was high in the two studied areas, with on average 79% of infested panicles. However, large control of egg and larval populations by natural enemies (68%), limited the loss of grain yield (1-20%). Molecular sequencing tools (High Throughput Sequencing) combined with morphological identification was used to construct a reference library of the millet-based entomofauna. In all, 13 primary parasitoid species (including five new species), and 19 potential predators was collected. The diagnostic of parasitism and predation from individuals collected in the field and then sequenced, allowed us to identify the key natural enemy species involved in the natural regulation MHM. The parasitism was dominated by three species, namely, *Trichogrammatoidea armigera* (egg parasitoids), *Copidosoma primulum*, and *Schoelandella sahelensis* (larval parasitism). Two arthropod predators (*Bradybeanus scalaris*, Araneae sp.1), and vertebrate predators (*Ploceus cucullatus*, *Taphozous mauritanus*) was identified. The molecular approach is relevant to identify and measure the impact of the biodiversity (cryptic species), and interactions (multiparasitism, intraguild competition) of the natural enemies on the regulation of the MHM populations. The effect of the landscape on the incidence and natural regulation of the MHM was evaluated on 60 millet fields in Bambey (32) and Nioro (28) in 2015 and 2016, selected according two landscape gradients (distance to village and density of natural vegetation). Our results showed that millet fields near villages as well as millet fields with a high density of semi-natural vegetation (trees and rangelands) in the surrounding landscape benefit more from the ecosystem services provided by natural enemies.

The results obtained from this thesis enabled us to understand the importance of ecological processes in agroecosystems, in order to improve the MHM's biological control strategies in Senegal.

**Keywords:** Biological control, natural enemies, millet head miner, *Heliocheilus albipunctella*, landscape, interactions.

## LISTE DES ABBREVIATIONS

**ADN:** Acide Désoxy-2-Ribonucléique.

**AFPP:** Association Française de Protection des Plantes.

**BLAST:** Basic Local Alignment Search Tool.

**BOLD:** The Barcode Of Life Data

**BSI:** Biocontrol Service Index.

**CBGP:** Centre de Biologie pour la Gestion des Populations.

**CCRP:** Collaborative Crop Research Program.

**CIRAD:** Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement.

**CIRAA:** Conférence Internationale sur les Ravageurs et Auxiliaires en Agriculture.

**COI:** Cytochrome Oxydase I.

**EEM:** Elevage Excluant la Mortalité.

**EIM:** Elevage Incluant la Mortalité.

**FAO:** Food and Agriculture Organization.

**GLM :** Modèle Linéaire Généralisé.

**HM:** Haplotype Majoritaire.

**HSN:** Habitats Semi-Naturels.

**HTS:** High-Troughput Sequencing.

**ICRISAT:** International Crop Research Institute for the Semi-Arid Tropics.

**IFAN:** Institut Fondamental d'Afrique Noire.

**IITA:** International Institute of Tropical Agriculture.

**ISRA:** Institut Sénégalaise de Recherche Agricole.

**LBC:** Lutte Biologique par Conservation.

**MAPL-AP:** Molecular Analysis of Parasitoid Linkages – Adult Parasitoids.

**MAPL-HL:** Molecular Analysis of Parasitoid Linkages – Host Larva.

**MEM:** Mineuse de l'Epi de Mil.

**NGS:** Next Generation Sequencing.

**NPK:** Azote Phosphore Potassium

**pb:** paire de bases.

**PCR:** Polymerase Chain Reaction.

**PCR-RFLP:** Polymerase Chain Reaction-Restriction. Fragment Length Polymorphism.

**PH :** Potentiel Hydrogène

**RECOR:** Renforcement de la régulation écologique des insectes ravageurs des cultures de céréales sèches.

**SCAC:** Service de Coopération d'Action Culturelle.

**SHDI:** SHannon Diversity Index.

**SIG:** Système d'Information Géographique.

**TG:** Tisserin Gendarme.

**TM:** Taphien de Maurice.

**TRECS:** Centre National d'Etude Spatial.

**WAAPP:** West African Agriculture Productivity Programme

## LISTE DES FIGURES

- FIGURE 1 :** EXEMPLE D’HYPERPARASITISME, AVEC UNE LARVE HYPERPARASITE DE *PERILAMPUS SP.* [LARVE (A), ADULTE (B)] SE DEVELOPPANT SUR UNE LARVE DE PARASITOÏDE [*PRISTOMERUS PALLIDUS*, LARVE (C) ; ADULTE (D)] DE LA MINEUSE DE L’EPI DE MIL. .... 10
- FIGURE 2 :** IMAGES D’UNE FEMELLE (A) ET UNE LARVE DANS UNE GALERIE (B) DE LA MINEUSE SUR UN EPI DE MIL. .... 29
- FIGURE 3 :** CYCLE DE DEVELOPPEMENT DE LA MINEUSE DE L’EPI DE MIL. .... 32
- FIGURE 4 :** IMAGES DE QUELQUES ENNEMIS NATURELS DE LA MEM PRESENT SUR LE TERRAIN, AVEC UNE LARVE DE LA MEM PARASITEE PAR *HABROBRACON HEBETOR* (A) ; UNE FEMELLE DE *SCHOELANDELLA* (CARDIOCHILES) *SAHELENSIS* A LA RECHERCHE D’HOTE (B) ; UNE LARVE DE CARABE QUI CONSOMME UNE LARVE DE MINEUSE (C) ; DES FORFICULES (*FORFICULA SENEGALENSIS*) A LA RECHERCHE D’ŒUFS DE LA MEM (D). .... 39
- FIGURE 5 :** LOCALISATION DES DEUX ZONES D’ETUDES (BAMBÉY ET NIORO) DANS LE BASSIN ARACHIDIER DU SENEGAL (AFRIQUE DE L’OUEST). .... 51
- FIGURE 6 :** RECONSTITUTION DU RESEAU TROPHIQUE ASSOCIE A LA MEM, *HELIOCHEILUS ALBIPUNCTELLA*. LA LARGEUR DES RECTANGLES EST PROPORTIONNELLE A L’INCIDENCE RELATIVE DES RAVAGEURS ET DES PREDATEURS (POURCENTAGE D’EPIS CHEZ AU MOINS UN INDIVIDU) OU AU TAUX DE PARASITISME DES ŒUFS OU DES LARVES DE LA MEM POUR LES PARASITOÏDES. LES FLECHES INDIQUENT LES INTERACTIONS TROPHIQUES. LES FLECHES EN POINTILLES REPRESENTENT LES ESPECES DE PARASITOÏDES QUI PARASITENT EGALEMENT *MASALIA NUBILA* ET *HELICOVERPA ARMIGERA*. LES CHIFFRES EN GRAS INDIQUENT LES NOMS DES TAXONS. LES VALEURS DANS LES RECTANGLES INDIQUENT L’INCIDENCE OU LE PARASITISME AUX CHAMPS. 61
- FIGURE 7 :** PROPORTION DE SEQUENCES PARASITOÏDES OBSERVEES PAR METABARCODING (AXE DES ORDONNEES) DES DILUTIONS CONTROLEES DE L’ADN DE PARASITOÏDE DANS L’ADN DE L’HOTE (AXE DES ABCISSES) POUR CHACUNE DES 10 PRINCIPALES ESPECES DE PARASITOÏDES. POUR CHAQUE ESPECE DE PARASITOÏDE, NOUS AVONS MELANGE 7, 0,7, 0,07 OU 0,007 NG DE SON ADN A 56 NG D’ADN DE L’HOTE, *HELIOCHEILUS ALBIPUNCTELLA*. LA COURBE EN TIRET REPRESENT LE RESULTAT ATTENDU. LES AXES SONT EN ECHELLE LOGARITHMIQUE. LES TROIS BARRES PAR DILUTION REPRESENTENT LES TROIS REPLICATS TECHNIQUES DE LA PCR. NA: LES DONNEES NE SONT PAS DISPONIBLES EN RAISON D’UN MANQUE DE DISPONIBILITE DE L’ADN DU PARASITOÏDE. #: MISMATCHE (EN GRAS) ONT ETE TROUVES ENTRE LA SEQUENCE DE REFERENCE DE PARASITOÏDES (5’-CATGCTTTTTTAATAATTTTTTTTTTTGT-3’) ET L’EXTREMITÉ 3’ DE L’AMORCE UNIVERSELLE (MG-R: 5’- ACTATAAAARAAAYTATDAYAAADGCRTG -3’). L’ECHELLE DES IMAGES DE PARASITOÏDES EST: A) 300 µM POUR UNE LONGUEUR DE 0,5 CM, B) 200 µM POUR UNE LONGUEUR DE 0,2 CM. .... 84
- FIGURE 8 :** PROPORTION MOYENNE DE SEQUENCES DE PARASITOÏDES OBSERVEES PAR METABARCODING (AXE DES ORDONNEES) DES DILUTIONS CONTROLEES DE L’ADN PARASITOÏDE DANS L’ADN DE L’HOTE (AXE DES ABCISSES) SUR LES 10 PRINCIPALES ESPECES DE PARASITOÏDES. POUR CHAQUE ESPECE DE PARASITOÏDE, NOUS AVONS MELANGE 7, 0,7, 0,07 OU 0,007 NG DE SON ADN A 56 NG D’ADN DE L’HOTE, *HELIOCHEILUS ALBIPUNCTELLA*. LES BARRES REPRESENTENT L’ECART TYPE. LA DROITE EN TIRET REPRESENT LE RESULTAT ATTENDU. LA DROITE PLEINE REPRESENT LE RESULTAT OBTENU. LES AXES SONT EN ECHELLE LOGARITHMIQUE. .... 85
- FIGURE 9 :** PROPORTION DES SEQUENCES DE QUATRE ESPECES DE PARASITOÏDES OBSERVEES VIA METABARCODING A PARTIR DE 197 ECHANTILLONS DE LA MINEUSE DE L’EPI DE MIL, *HELIOCHEILUS ALBIPUNCTELLA* A DIFFERENTS STADES DE DEVELOPPEMENT (ŒUFS, LARVES DE 1-2<sup>IE</sup>ME STADE, LARVES DE 3-4<sup>IE</sup>ME STADE). *TRICHOGRAMMATOIDEA ARMIGERA* EST UN PARASITOÏDE DES ŒUFS; *COPIDOSOMA PRIMULUM* EST UN PARASITOÏDE OVO-LARVAIRE; *SCHOELANDELLA SAHELENSIS* ET *SCHOELANDELLA SP.* SONT DES PARASITOÏDES LARVAIRES. LES BARRES D’ERREURS SONT REPRESENTEES PAR DES ECART-TYPES. #: PAS DE DONNEES. ... 86
- FIGURE 10 :** COMPARAISON ENTRE METABARCODING (N = 400) ET L’ELEVAGE (N = 400) POUR ESTIMER LE TAUX PARASITISME DE CHAQUE ESPECE DE PARASITOÏDES A PARTIR DE SPECIMENS DE LA MINEUSE COLLECTES AU CHAMP. PARASITISME DES ŒUFS (A) ET DES LARVES (B). EIM (ELEVAGE INCLUANT LA MORTALITE): TAUX DE PARASITISME CALCULE EN INCLUANT LES ŒUFS NON-ECLOSENT ET LES LARVES MORTES. EEM (ELEVAGE

EXCLUANT LA MORTALITE): TAUX DE PARASITISME CALCULE EN EXCLUANT LES ŒUFS NON-ECLOSENT ET LES LARVES MORTES. .... 89

**FIGURE 11** : TAUX DE PARASITISME GLOBAL DE LA MINEUSE DE L'EPI DE MIL, ESTIMES PAR METABARCODING (GRIS) ET L'ELEVAGE (BLANC) ENTRE BAMBEY ET NIORO. .... 89

**FIGURE 12** : RESEAUX TROPHIQUE QUANTITATIF DES PREDATEURS ARTHROPODES ET VERTEBRES ASSOCIE A LA MINEUSE DE L'EPI DE MIL, ET *C. IGNEFUSALIS* (RAVAGEUR SECONDAIRE). DES CODES COULEURS ONT ETE ASSIGNES POUR CHAQUE GROUPE : NOIR (PREDATEURS ARTHROPODES), BLEU CIEL (CHAUVES-SOURIS), MEUVE (OISEAUX), ORANGE (PARASITOÏDES), ET VERT (HERBIVORES). LES FLECHES REPRESENTENT LE FLUX DE BIOMASSE ENTRE PREDATEURS-PROIES. L'EPAISSEUR DES FLECHES REPRESENTENT LES POURCENTAGES DES FREQUENCES DE CONSOMMATIONS : FORT ( $F \geq 50\%$ ) ; INTERMEDIAIRE ( $\geq 30\%$ ) ; FAIBLE ( $\geq 5\%$ ) ; TRES FAIBLE ( $< 5\%$ ). .... 112

**FIGURE 13** : SCHEMA ILLUSTRATIF DU DISPOSITIF EXPERIMENTAL POUR ESTIMER LA REGULATION NATURELLE DE LA MINEUSE DE L'EPI DE MIL AUX CHAMPS. .... 128

**FIGURE 14**: ABONDANCE DE *TRICHOGRAMMATOÏDEA ARMIGERA* (A ; B), *COPIDOSOMA PRIMULUM* (C), *ORIU*  
*MAXIDENTEX* (D) EN FONCTION DE LA DENSITE D'ARBRE A 250M ET 1750M. .... 135

## LISTE DES TABLEAUX

<b>TABLEAU 1:</b> PRINCIPAUX ENNEMIS NATURELS D' <i>HELIOCHEILUS ALBIPUNCTELLA</i> RECENSES (D'APRES (GUEVREMONT, 1983); BHATNAGAR, 1986 ; GAHUKAR <i>ET AL.</i> , 1986 ; NDOYE 1988 ; THIAM ET VALK, 1996). .....	36
<b>TABLEAU 2:</b> BASE DE DONNEE DES ARTHROPODES COLLECTES DANS LES CHAMPS DE MIL DANS LE BASSIN ARACHIDIER AU SENEGAL ET IDENTIFIES A L'ESPECE (CAMPAGNE AGRICOLE 2014–2016). .....	57
<b>TABLEAU 3:</b> IDENTIFICATION TAXONOMIQUE, STATUT FONCTIONNEL ET INCIDENCE DES ARTHROPODES COLLECTES DANS LES CHAMPS DE MIL DU BASSIN ARACHIDIER AU SENEGAL (CAMPAGNE AGRICOLE 2014-2016).....	60
<b>TABLEAU 4 :</b> TAXONS ET LE NOMBRE D'ECHANTILLONS POSITIFS POUR CHAQUE ESPECE DE PROIES DETECTES DANS LE CONTENU DE L'INTESTIN DE HUIT PREDATEURS ARTHROPODES ET DEUX PREDATEURS VERTEBRES, COLLECTES DANS DES CHAMPS DE MIL PENDANT LA SAISON AGRICOLE 2016.....	109
<b>TABLEAU 5 :</b> INCIDENCE DES RAVAGEURS DE L'EPI DE MIL ET DEGATS DUS A LA MEM EN FONCTION DE LA ZONE ET DE L'ANNEE D'ETUDE. MOYENNE (MIN–MAX).....	131
<b>TABLEAU 6:</b> PARASITISME, INDICE DE SHANNON ET REGULATION NATURELLE DE LA MEM EN FONCTION DE LA ZONE ET DE L'ANNEE D'ETUDE. MOYENNE (MIN–MAX).....	132
<b>TABLEAU 7 :</b> TABLEAU RECAPITULATIF DE L'EFFET DES VARIABLES LOCALES SUR L'INCIDENCE PAR DES ŒUFS (V1) ET LARVES (V2), LES DEGATS (V3), LE PARASITISME DES ŒUFS (V4) ET LARVES (V5), LE <i>BSI</i> (V6), <i>INDICE DE DIVERSITE DE (SHANNON)</i> DE PARASITOÏDES (V7) ET PREDATEURS (V8). .....	133
<b>TABLEAU 8 :</b> TABLEAU RECAPITULATIF DE L'EFFET DES VARIABLES PAYSAGERS SUR L'INCIDENCE EN ŒUFS (V1) ET DES LARVES (V2), LES DEGATS (V3), LE PARASITISME DES ŒUFS (V4) ET LARVES (V5), LE <i>BSI</i> (V6), <i>INDICE DE DIVERSITE (SHANNON)</i> DE PARASITOÏDES (V7) ET PREDATEURS (V8).....	135

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>6</b>
<b>I.1. LES FACTEURS DE REGULATION NATURELLE D'UN RAVAGEUR DANS UN AGROECOSYSTEME .....</b>	<b>7</b>
I.1.1. LA REGULATION NATURELLE : DEFINITION.....	7
I.1.2. LES FACTEURS BIOTIQUES : CAS DES ENNEMIS NATURELS .....	8
I.1.2.1. Les parasitoïdes .....	9
I.1.2.2. Les prédateurs arthropodes.....	11
I.1.2.3. Les prédateurs vertébrés : Oiseaux et chauves-souris .....	12
I.1.3. FACTEURS ABIOTIQUES .....	14
<b>I.2. COMMENT LA GESTION DES HABITATS SEMI-NATURELS PEUT AUGMENTER LE CONTROLE BIOLOGIQUE D'UN RAVAGEUR PAR SES ENNEMIS NATURELS ? .....</b>	<b>16</b>
I.2.1. L'IMPORTANCE DE LA LUTTE BIOLOGIQUE PAR CONSERVATION .....	17
I.2.2. QUEL ENNEMI NATUREL : GENERALISTES OU SPECIALISTES ? .....	18
I.2.3. L'IMPORTANCE DE LA GESTION DES HABITATS SEMI-NATURELS.....	18
I.2.3.1. Sur les ennemis naturels.....	18
I.2.3.2. Sur les interactions entre ennemis naturels.....	21
<b>I.3. METABARCODING : UNE APPROCHE INNOVANTE POUR EVALUER LES PROCESSUS ECOLOGIQUES IMPLIQUES DANS LA REGULATION NATURELLE D'UN RAVAGEUR.....</b>	<b>24</b>
I.3.1. APPLICATION DANS L'IDENTIFICATION DES ENNEMIS NATURELS ET LEURS INTERACTIONS .....	24
I.3.2. APPLICATION EN LUTTE BIOLOGIQUE PAR CONSERVATION.....	27
I.3.3. LES LIMITES DU METABARCODING .....	27
<b>I.4. MODELE D'ETUDE: LA MINEUSE DE L'EPI DE MIL (MEM).....</b>	<b>29</b>
I.4.1. TAXONOMIE ET SYNONYMIE .....	29
I.4.2. BIO-ÉCOLOGIE .....	30
I.4.3. PLANTE HOTE : LE MIL .....	33
I.4.4. LES ENNEMIS NATURELS DE LA MEM .....	35
I.4.5. LES METHODES DE LUTTE.....	40
I.4.5.1. Contrôle culturel.....	40
I.4.5.2. Résistance variétale .....	41
I.4.5.3. Lutte chimique.....	41
I.4.5.4. Lutte biologique .....	42
<b>CHAPITRE II : .....</b>	<b>45</b>
<b>CARACTERISATION MORPHO-MOLECULAIRE DE LA BIODIVERSITE DES ENNEMIS NATURELS DE LA MINEUSE DE L'EPI DE MIL.....</b>	<b>45</b>
<b>II.1. INTRODUCTION.....</b>	<b>47</b>
<b>II.2. MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>50</b>
II.2.1. ZONES D'ETUDE.....	50
II.2.2. ECHANTILLONNAGE D'INSECTES .....	51
II.2.3. ANALYSE MOLECULAIRE .....	53
II.2.3.1. Extraction d'ADN .....	53
II.2.3.2. Séquençage Sanger .....	53
II.2.3.3. Séquençage Illumina MiSeq .....	54
II.2.3.4. Analyse des données .....	56
<b>II.3. RESULTATS .....</b>	<b>57</b>
II.3.1. LIBRAIRIE DE REFERENCE BARCODE ET RESEAU TROPHIQUE.....	57
II.3.2. OUTIL MOLECULAIRE DE DIAGNOSTIC A HAUT DEBIT.....	62

II.4. DISCUSSION .....	64
II.5. CONCLUSION .....	70
<b>CHAPITRE III : .....</b>	<b>70</b>
<b>ETUDE DU PARASITISME ET LES INTERACTIONS HOTE-PARASITOÏDES DE LA MINEUSE DE L'ÉPI DE MIL VIA METABARCODING.....</b>	<b>70</b>
III.1. INTRODUCTION.....	72
III.2. MATERIEL ET METHODES .....	76
III.2.1. ECHANTILLONNAGE D'INSECTES .....	76
III.2.2. EVALUATION DU PARASITISME PAR ELEVAGE .....	76
III.2.3. EVALUATION DU PARASITISME PAR METABARCODING .....	77
III.2.3.1. Extraction d'ADN et test de dilution .....	77
III.2.3.2. PCR et séquençage en Illumina .....	78
III.2.3.3. Analyses des séquences .....	80
III.2.3.4. Analyses statistiques .....	81
III.3. RESULTATS .....	82
III.3.1. VALIDATION DES DONNEES DE SEQUENÇAGE ILLUMINA.....	82
III.3.2. TEST DE DILUTION DE MELANGE D'ADN HOTE-PARASITOÏDES EN CONDITION CONTROLE.....	82
III.3.3. DETECTION DE PARASITOÏDES DANS DES ŒUFS ET LARVES COLLECTES SUR LE TERRAIN.....	85
III.3.4. DETECTION DE PARASITOÏDES: COMPARAISON ENTRE ELEVAGE ET METABARCODING.....	87
III.3.4.1. Taux de parasitisme global .....	87
III.3.4.2. Taux de parasitisme par espèces parasitoïdes .....	87
III.4. DISCUSSION .....	90
III.5. CONCLUSION.....	97
<b>CHAPITRE IV : .....</b>	<b>98</b>
<b>IDENTIFICATION DES PREDATEURS ARTHROPODES ET VERTEBRES DE LA MINEUSE DE L'ÉPI DE MIL, PAR METABARCODING.....</b>	<b>98</b>
IV.1. INTRODUCTION .....	100
IV.2. MATERIEL ET METHODES.....	103
IV.2.1. ECHANTILLONNAGE .....	103
IV.2.2. EXTRACTION ADN.....	104
IV.2.3. PCR ET SEQUENÇAGE EN ILLUMINA.....	104
IV.3. RESULTATS .....	107
IV.3.1. SEQUENÇAGE ET IDENTIFICATION TAXONOMIQUE.....	107
IV.3.2. REGIME ALIMENTAIRE.....	107
IV.3.3. RESEAU TROPHIQUE .....	111
IV.4. DISCUSSION .....	113
IV.5. CONCLUSION.....	121
<b>CHAPITRE V : .....</b>	<b>122</b>
<b>EFFET DE LA STRUCTURE ET DE LA COMPOSITION DU PAYSAGE SUR L'INCIDENCE ET LA REGULATION NATURELLE DE LA MINEUSE DE L'ÉPI DE MIL.....</b>	<b>122</b>
V.1. INTRODUCTION.....	124
V.2. MATERIEL ET METHODE .....	126
V.2.1. SELECTION DES PARCELLES DE MIL .....	126
V.2.2. INCIDENCE ET DEGATS DUS A LA MEM .....	126
V.2.3. REGULATION NATURELLE DE LA MEM .....	127
V.2.4. PARASITISME ET PREDATION ASSOCIES A LA MEM .....	128
V.2.5. ANALYSES PAYSAGERS.....	129
V.2.6. ANALYSES STATISTIQUES .....	129
V.3. RESULTATS .....	131

V.3.1. EFFET SITES ET ANNEES .....	131
V.3.2. EFFET DES VARIABLES LOCALES : PROXIMITE DES PARCELLES AUX VILLAGES ET PARCOURS.....	133
V.3.3. EFFET DES VARIABLES PAYSAGERS : DENSITE DE PATCH D'ARBRES ET DE PARCOURS.....	133
V.4. DISCUSSION .....	136
V.5. CONCLUSION .....	141
<b>CHAPITRE VI :</b> .....	<b>142</b>
<b>DISCUSSION GENERALE &amp; PERSPECTIVES</b> .....	<b>142</b>
VI.1. SYNTHESE DES OBJECTIFS ET RESULTATS DES RECHERCHES MENEES.....	143
VI.2. UNE IMPORTANTE BIODIVERSITE AU SEIN DU RESEAU TROPHIQUE ASSOCIE A LA MEM	144
VI.3. LES FACTEURS ECOLOGIQUES DE REGULATION DES POPULATIONS DE LA MEM.....	147
VI.3.1 FACTEUR BIOTIQUE : ROLE DES ENNEMIS NATURELS .....	147
VI.3.2. FACTEUR BIOTIQUE : LARVES BALADEURS .....	149
VI.3.3. FACTEUR ABIOTIQUE : ROLE DE LA PLUIE.....	150
VI.4. EFFET DU PAYSAGE SUR LA PERFORMANCE DES ENNEMIS NATURELS DE LA MEM .....	151
VI.5. PERSPECTIVES EXPERIMENTALES .....	153
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	<b>156</b>
<b>ANNEXES</b> .....	<b>I</b>

**ANNEXE 1 :** MODELES DE DIVERGENCE DES COI POUR 38 ESPECES D'INTERET D'ARTHROPODES REPRESENTEES PAR AU MOINS DEUX INDIVIDUS. POUR CHAQUE ESPECE, NOUS AVONS REPRESENTE LA DIVERGENCE INTERSPECIFIQUE MINIMALE (MIN-BSD) ET LA DIVERGENCE INTRASPECIFIQUE MAXIMALE (MAX-WSD). LES POINTS SITUES AU-DESSUS DE LA DIAGONALE REPRESENTENT LES ESPECES IDENTIFIEES SANS AMBIGUÏTE SUR LES FRAGMENTS DE 658 (A) ET DE 133 PB (B). LES POINTS GRIS CORRESPONDENT AUX ESPECES *SCHOELANDELLA SAHELENSIS* / *SCHOELANDELLA SP.*, *HELIOCHEILUS ALBIPUNCTELLA* / *MASSALIA NUBILA* ET *H. ALBIPUNCTELLA* / *HELICOVERPA ARMIGERA* A FAIBLE MAX-WSD..... I

**ANNEXE 2 :** ARBRE PHYLOGENIQUE NEIBORJOINING AVEC BOOTSTRAPS (N = 1 000) POUR LE LONG FRAGMENT DE COI (658 PB) DES PRINCIPAUX RAVAGEURS DU MIL ET DE LEURS ENNEMIS NATURELS DE *H. ALBIPUNCTELLA*.II

**ANNEXE 3:** ARBRE PHYLOGENIQUE NEIBORJOINING AVEC BOOTSTRAPS (N = 1 000) POUR LE COURT FRAGMENT DE COI (133 PB) DES PRINCIPAUX RAVAGEURS DU MIL ET DE LEURS ENNEMIS NATURELS DE *H. ALBIPUNCTELLA*.  
..... III

**ANNEXE 4 :** SCRIPT BASH POUR L'ANALYSE DES SEQUENCES ISSUES DU RUN AVANT LE TRAITEMENT DE FROGS. III

**ANNEXE 5 :** MOYENNE DE NOMBRE D'ADULTE DE LA MEM CAPTURE PAR HEURE DE PIEGEAGE ..... VI

**ANNEXE 6 :** INFESTATION DES EPIS EN ŒUFS SELON LE SITE ET LE TYPE DE PARCELLE ..... VII

**ANNEXE 7 :** ETUDE DES STADES BALADEURS DE LA MINEUSE DE L'EPI DE MIL ..... VIII

**ANNEXE 8 :** EVALUER L'EFFET DE LA PLUIE SUR LA MORTALITE DES ŒUFS ET DES LARVES DE LA MEM..... IX

# **Introduction générale**

## Introduction générale

En Afrique sub-saharienne, le mil [*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br., 1810] constitue l'une des principales céréales cultivées, avec une production annuelle de plus de 10 millions de tonnes (FAO, 2015; 2016). Il constitue la principale source de nourriture de plus de 60 millions de personnes. Le mil peut significativement contribuer à l'autosuffisance alimentaire dans les zones arides car il a la capacité de s'adapter à des conditions climatiques particulièrement difficiles (sécheresse, faible fertilité des sols) où d'autres cultures ne peuvent généralement pas être mises en place (Bezançon et Pham, 2004). Le mil est l'hôte de plusieurs insectes, dont la mineuse de l'épi de mil (MEM), *Heliocheilus albipunctella* de Joannis, 1825 (Lepidoptera, Noctuidae), son principal ravageur (Risbec, 1950; Appert, 1957; Ndoye *et al.*, 1984; Gahukar, 1984; Nwanze et Harris, 1992; Nwanze et Youm, 1995). Endémique de la zone sahélienne, la MEM a été reconnue comme ravageur clé lors de la sécheresse qui a sévi entre 1972 et 1974 (Vercambre, 1978; Gahukar, 1984). C'est une espèce monophage univoltine dont la répartition géographique s'étend dans la zone bioclimatique soudano-sahélienne (Nwanze et Sivakumar, 1990). Les dégâts causés réduisent considérablement la production de mil. L'impact de la mineuse sur les rendements dépend de la coïncidence entre le pic de vol des papillons et l'épiaison et de la capacité des grains non détruits à compenser les pertes (Gahukar, 1984). Au Sénégal, la MEM représente une contrainte majeure à l'intensification de la production de mil, une des céréales les plus consommées en milieu rural. Son incidence est élevée (30–95% d'épis infestés dans la zone de Bambey en 2013–2014), mais son impact sur la production en grain reste contenue (2–20% de perte) grâce à une très forte régulation des populations larvaires (Thiaw *et al.*, 2017). En l'absence de traitements insecticides sur le mil, les ennemis naturels constituent probablement une composante majeure de la régulation des populations de ce ravageur, ce qui en fait un système biologique particulièrement pertinent pour évaluer les conséquences du changement global

sur la structure des réseaux trophiques et les processus écologiques associés, comme la régulation des insectes phytophages.

Plusieurs stratégies ont été testées pour lutter contre ce ravageur. Les méthodes de contrôle cultural comme le décalage des dates de semis ou le labour profond se trouvent respectivement limitées par les pertes de rendement et l'érosion du sol (Payne *et al.*, 2011). L'absence de variétés résistantes et le caractère non durable de la lutte chimique, ou simplement son coût, font de la lutte biologique par conservation un levier à actionner (Gahukar, 1990; Nwanze et Sivakumar, 1990; Nwanze et Harris, 1992). Son efficacité passe avant tout par une bonne connaissance des ennemis naturels présents dans l'agroécosystème et de leur système de vie (Ode et Heimpel, 2016). Des inventaires des ennemis naturels associés à *H. albipunctella* ont été effectués par Gahukar (1984) et Bhatnagar (1987). Ces auteurs ont dressé un premier tableau de l'entomofaune d'intérêt pour la régulation de ce ravageur au Sénégal. Depuis, des programmes de lutte biologique basés essentiellement sur des lâchés inondatifs de *Habrobracon hebetor* ont été réalisés (Bhatnagar, 1987a; Payne *et al.*, 2011; Ba *et al.* 2013; Baoua *et al.*, 2014). Cependant, cet ectoparasite grégaire n'empêche pas les dégâts car il intervient tardivement et ne parvient pas à se maintenir dans l'environnement pendant la saison sèche (Kabore *et al.*, 2017). Nos premières observations ont montré une forte régulation de *H. albipunctella* par ses ennemis naturels (Thiaw *et al.*, 2017). D'autres études montrent qu'il est nécessaire de prendre en compte toute la richesse spécifique et la diversité fonctionnelle des espèces recensées, pour améliorer la régulation naturelle des ravageurs des cultures (Bianchi *et al.*, 2006; Burel *et al.*, 2013). L'identité des espèces présentes dans les agroécosystèmes à base de mil, leur importance dans la régulation du ravageur ainsi que leur réponse aux propriétés du paysage et aux pratiques culturales restent très largement méconnues, ce qui freine le développement de pratiques favorables.

Cette thèse s'inscrit dans le cadre des projets de recherche RECOR «Renforcement de la régulation écologique des insectes ravageurs des cultures de céréales sèches» coordonné par l'ISRA (programme WAAPP) et DYNAFRIQUE–TRECS coordonné par le CIRAD, sous l'appui financier de l'ambassade de France au Sénégal (SCAC) et l'IFS (International Foundation for Science, Suède). D'un point de vue appliqué, il s'agit de définir des modalités de pilotage du réseau trophique pour favoriser la régulation des populations de la mineuse de l'épi de mil dans les paysages agricoles à base de céréales sèches. Plus spécifiquement, il s'agira de, (i) caractériser (base de données morphologique et moléculaire) l'entomofaune des cultures de mil, (ii) identifier les ennemis naturels associés à la mineuse de l'épi de mil, et (iii) évaluer l'effet de certains facteurs environnementaux sur l'action de régulation biologique des ennemis naturels.

La première hypothèse de recherche est que l'action des ennemis naturels (parasitoïdes et prédateurs) est une composante majeure de la régulation des populations de la mineuse de l'épi de mil. La seconde hypothèse de recherche est que l'importance de la régulation naturelle dépend de conditions environnementales à l'échelle de la parcelle (milieu) et du paysage (composition en cultures, habitats semi-naturels, etc.). Une étude conduite en 2013 et 2014 a montré une importante régulation naturelle globale de la MEM. En plus l'incidence du ravageur était moins importante dans les champs de case que dans les champs de brousse, et que la régulation des populations larvaires du ravageur était favorisée par la densité de végétation naturelle présente dans l'environnement paysager des parcelles de mil, mais sans que les processus écologiques sous-jacents soient identifiés.

Mes travaux s'appuient principalement sur le développement d'approches participatives en associant des outils moléculaires et l'écologique (suivi au champ de l'incidence du ravageur et des prédateurs, suivi de parasitisme au laboratoire et caractérisation du paysage), afin d'étudier les réseaux trophiques associés à la MEM. Des outils moléculaires de diagnostics ont été développés

pour identifier et évaluer avec plus de précision le rôle des ennemis naturels (prédateurs, parasitoïdes) clés de la MEM. Une caractérisation multi-spatiale des habitats semi-naturels à l'échelle locale et du paysage a été utilisée afin d'évaluer l'impact des variations du paysage sur l'incidence et la régulation naturelle de la MEM.

Les travaux présentés dans cette thèse, ont permis la réalisation de 6 articles scientifiques dont 1 paru en 2018 dans *Biological Control*, 1 publié dans *Scientifique report (Nature)*, 1 soumis dans *Basic and Applied Ecology*, et 3 en préparation.

Afin d'éviter les redondances, les références bibliographiques sont présentées à la fin du manuscrit.

**Dans le chapitre I**, j'effectue une synthèse bibliographique cindé en deux parties. Dans la première partie je traite les facteurs de régulation naturelle, l'impact des habitats semi-naturels sur la régulation naturelle, et le métabarcoding comme outil de diagnostic des processus écologiques impliqués dans la régulation naturelle. La deuxième partie est consacrée au modèle biologique, sa bio-écologie, ces ennemis naturels, et les méthodes de lutttes.

**Dans le chapitre II**, j'effectue une mise en jour du réseau trophique associé à la MEM et je développe une base de données de référence barcode et mini-barcode comme outil de diagnostic pour les arthropodes associés aux agroécosystèmes à base de mil au Sénégal.

**Dans le chapitre III**, je mets en place un outil moléculaire de diagnostic du parasitisme associé à la MEM. Dans un premier temps, j'évalue la sensibilité de détection du metabarcoding en testant l'amplification de mélanges artificiels d'ADN de l'hôte et des différentes parasitoïdes. Ensuite, j'estime le taux de parasitisme en appliquant simultanément l'approche moléculaire et d'élevage à partir d'échantillons d'œufs et de larves de la MEM prélevés sur le terrain dans deux paysages agricoles contrastés, à savoir Bambey et Nioro.

**Dans le chapitre IV**, je reconstruis le réseau trophique des prédateurs arthropodes et vertébrés associés à la MEM, ainsi que les interactions entre espèces (cibles et non cible) via métabarcoding, à partir d'échantillons d'insectes et de fèces collectés dans les champs de mil.

**Dans le chapitre V**, j'évalue l'effet des conditions environnementales à l'échelle de la parcelle (proximité aux villages et aux parcours) et du paysage (densité de la végétation semi-naturelle) sur l'incidence (infestations et dégâts) de la MEM et sur les composants de sa régulation naturelle (BSI, parasitisme, incidence prédateurs).

**Dans le chapitre VI**, les résultats présentés dans les différents chapitres sont enfin synthétisés et discutés avant que de nouvelles perspectives de recherche soient ouvertes.

# **Chapitre I: Synthèse bibliographique**

## **I.1. Les facteurs de régulation naturelle d'un ravageur dans un agroécosystème**

Dans les agroécosystèmes, le réseau trophique est souvent simplifié et centré sur les plantes cultivées et leurs ravageurs. En effet, le réseau trophique est un concept écologique important, qui représente les relations trophique au sein d'une communauté. Cela implique également le transfert de l'énergie alimentaire de sa source dans les plantes via les herbivores aux carnivores (Dunne *et al.*, 2002; Pimm, 1982). La simplification des agroécosystèmes par la réduction de la biodiversité végétale, souvent réduit aux espèces cultivées (monoculture), engendre une faible biodiversité des niveaux supérieurs et une réduction du nombre d'interactions trophiques, comparé à un écosystème naturel (Mollot *et al.*, 2014). De ce fait, et sans l'intervention de l'homme pour contrôler les populations d'organismes nuisibles, les réseaux trophiques spécifiques des agroécosystèmes sont rarement dans un état d'équilibre naturel. C'est pourquoi, la prise en compte de l'ensemble des interactions trophiques qui ont lieu dans un agroécosystème est une approche intéressante pour étudier et promouvoir la régulation naturelle des ravageurs.

### **I.1.1. La régulation naturelle : Définition**

Le terme de régulation naturelle n'admet pas une définition consensuelle acceptée par l'ensemble de la communauté scientifique. C'est ainsi que, Berryman (2004) donne une définition formelle du terme basée sur un rétrocontrôle négatif nécessaire à la régulation d'une variable dynamique. Le rétrocontrôle négatif se produit à chaque fois que le changement de taux d'une variable est inversement proportionnel à ses états actuels ou passés. Les rétrocontrôles négatifs surviennent lorsqu'un facteur, ou une série de facteurs, augmente leur impact négatif sur la reproduction et la survie des individus en réponse à l'augmentation de la densité de la population. Les interactions entre les ravageurs et leurs plantes hôtes, les prédateurs, les parasites et les agents pathogènes peuvent tous être impliqués dans un

rétrocontrôle négatif. Ces interactions sont regroupées sous l'appellation de *facteurs biotiques* ou écologiques de régulation de naturelle. Les facteurs *abiotiques* tels que le climat (température, précipitations, ensoleillement, humidité de l'air, vitesse du vent), le sol, ne sont pas considérés comme faisant partie du processus de régulation naturelle parce qu'ils ne changent pas en réponse à la densité de la population. Cependant, le changement de ces facteurs climatiques peut affecté les processus écologiques (prédation, parasitisme) impliqués dans la régulation naturelle des populations du ravageur (Andrew et Hill, 2017; Hughes *et al.*, 2009). En raison de la différence fondamentale dans la façon dont les différents facteurs opèrent pour réguler la densité de la population, deux ensembles de variables de base sont habituellement reconnus: des variables dépendantes de la densité de la population faisant partie des processus de rétrocontrôles négatifs, et des variables indépendantes de la densité de la population qui définissent le cadre dans lequel les processus de rétrocontrôle fonctionnent et affectent le niveau de la population régulée (Berryman *et al.*, 1987).

### **I.1.2. Les facteurs biotiques : Cas des ennemis naturels**

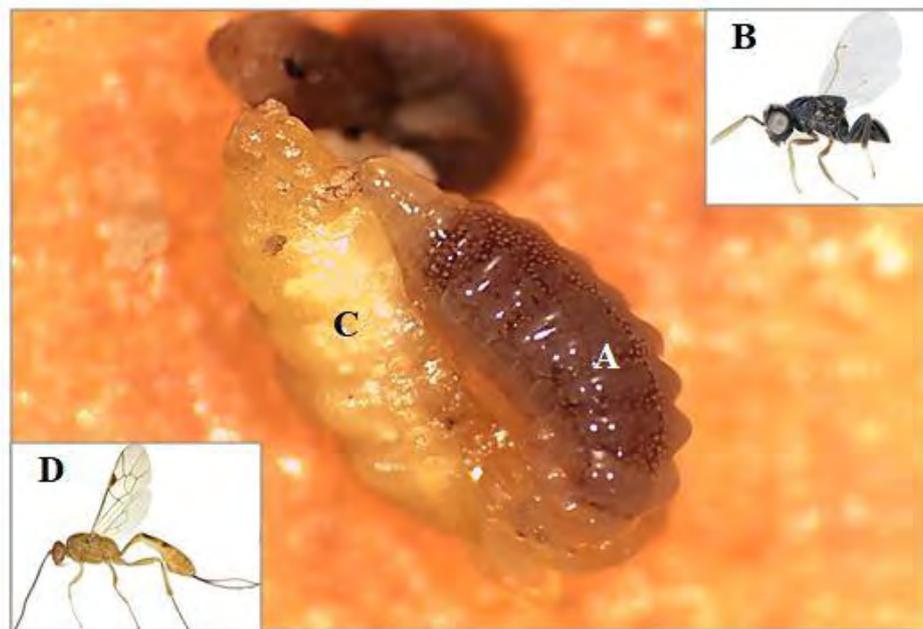
Les ennemis naturels, à savoir les prédateurs, parasitoïdes et pathogènes, sont des composants essentiels de régulation naturelle des ravageurs de culture (DeBach et Rosen, 1991). Certains écologistes adeptes de la lutte biologique ont suggérés plusieurs caractéristiques d'un ennemi naturel susceptibles d'en faire un agent de régulation naturelle efficace. Ces caractéristiques comprennent un degré élevé de spécificité des proies, un temps de développement court par rapport aux proies et un potentiel de reproduction élevé (Beddington *et al.*, 1978; DeBach et Rosen, 1991).

### I.1.2.1. Les parasitoïdes

De manière générale, parmi les arthropodes entomophages, les hyménoptères et les diptères parasitoïdes illustrent bien ces caractéristiques, car les parasitoïdes n'attaquent généralement quelques espèces de proies, se développent au sein de leurs proies et doivent donc avoir un temps de développement comparable à celui de l'hôte et disposent généralement de femelles adultes très fécondes pouvant attaquer de nombreux hôtes dans leur vie. Ces caractéristiques peuvent permettre aux parasitoïdes d'être suffisamment abondant lorsque le ravageur se déclare, menant éventuellement à sa régulation (Kalyanasundaram et Kamala, 2016; Waage et Hassell, 1982).

Un parasitoïde est un organisme qui tue son hôte, et qui est capable de boucler son cycle de développement au sein d'un seul hôte. Les insectes parasitoïdes peuvent se développer à l'intérieur (*endoparasitoïdes*) ou à l'extérieur du corps de l'hôte (*exoparasitoïdes*) et dans les deux cas, ils se développent en *solitaire* (un seul parasitoïde émerge par hôte parasité) ou en situation *grégaire* (plusieurs individus émergent du même hôte) (Grandgirard, 2003). Ils peuvent également avoir des modes de développement différents (*koïnobionte* ou *idiobionte*). Les koïnobiontes maintiennent leur hôte en vie jusqu'à la fin de leur développement alors que les idiobiontes tuent ou paralysent leur hôte au moment du parasitisme. Souvent, seul le stade immature du parasite se nourrit de l'hôte (Quicke, 2014). Cependant, les femelles adultes de certains parasites (comme de nombreuses guêpes attaquant les cochenilles et les aleurodes) se nourrissent et tuent leurs hôtes, fournissant une source de régulation naturelle plus efficace en plus de la mortalité de l'hôte provoquée par parasitisme. Entre 10–25% des insectes sont des parasitoïdes, qui sont répartie partout dans le monde (Ode et Heimpel, 2016). Les parasitoïdes sont les ennemis naturels les plus utilisés dans les programmes de lutte biologique contre les insectes ravageurs. La plupart des espèces parasitoïdes exploitées en lutte biologique sont des hyménoptères braconides, chalcidoïdes ou ichneumonoïdes et des diptères tachinides.

Driesche et Jr, 1996, avait revu le nombre de fois que les parasitoïdes sont utilisés dans des programmes de lutte biologique, et sur 860 cas d'utilisation il y a eu seulement 216 cas de réussite. La manque d'efficacité de certains parasitoïdes comme agent de contrôle biologique est le plus souvent liée aux interactions interspécifiques [*multiparasitisme*, *hyper-parasitisme* (voir Fig. 1)] et interspécifiques (*prédation interguilde*) très complexes, et leurs réponses aux contrôles de type « top-down » sont souvent très mal connu (Ode et Heimpel, 2016), malgré l'importance des études qui ont été réalisées sur la bio-écologie des parasitoïdes dans le monde. Historiquement, la première initiative d'importation de parasitoïde ayant connu un succès, a été réalisée en 1883 entre l'Angleterre et les Etats Unies, il s'agit de *Cotesia glomerata* (Linnaeus) contre les ravageurs du coton (Riley, 1885). L'utilisation des Trichogrammes (plus de 600 espèces) en lutte biologique est également très courante (Consoli *et al.*, 2010; Davies *et al.*, 2011; Manjunath, 1972; Uelese *et al.*, 2014).



**Figure 1 :** Exemple d'hyperparasitisme, avec une larve hyperparasite de *Perilampus sp.* [Larve (A), adulte (B)] se développant sur une larve de parasitoïde [*Pristomerus pallidus*, larve (C) ; adulte (D)] de la mineuse de l'épi de mil.

### **I.1.2.2. Les prédateurs arthropodes**

En revanche, les prédateurs arthropodes généralistes ne possèdent souvent aucun des traits supposés conférer une efficacité en matière de contrôle biologique. Les prédateurs arthropodes ont souvent des habitudes alimentaires plus radicale et des temps de génération longs par rapport aux herbivores, de sorte que même s'il existe une réponse numérique aux changements de densité d'un seul herbivore, il est peu probable que la réponse se produise assez rapidement pour entraîner la suppression du ravageur (DeBach et Rosen, 1991). Malgré ces limites, il a été rapporté que les prédateurs généralistes étaient un facteur de régulation naturelle efficace dans des systèmes de culture (Riechert et Lockley, 1984; Snyder et Ives, 2001), conduisant certains auteurs à s'interroger sur la supériorité des ennemis naturels spécialistes (Sunderland, 1988; Symondson *et al.*, 2002). Etant donné de leur caractère plus généraliste, les prédateurs arthropodes ont une variété taxonomique beaucoup plus importante que celle des parasitoïdes. Parmi les groupes de prédateurs dont leurs impacts sur la régulation des ravageurs de culture a été reconnu, on peut citer : Anthocoridae, Pentatomidae, Reduviidae, Carabidae, Coccinellidae, Staphylinidae, Chrysopidae, Cecidomyiidae, Syrphidae, Formicidae et les Arachnidae (dont toutes les espèces sont des prédateurs). Les arthropodes regroupent cependant les entomophages prédateurs les plus intéressants en lutte biologique, notamment des espèces généralistes d'insectes. Leur mode d'action est relativement simple comparé aux parasitoïdes : la proie est capturée et consommée sans délai. Un prédateur peut consommer plusieurs proies au cours de sa vie, sa voracité est un indicateur essentiel sur son potentiel de régulation (Erlinge *et al.*, 1984; Symondson *et al.*, 2002). Par exemples, les araignées constituent un groupe taxonomique très important en lutte biologique, de par leurs voracité ils peuvent contribuer à réduire significativement les populations de lépidoptères dans plusieurs systèmes de cultures (Riechert et Lockley, 1984). Pfannenstiel (2008), avait montré que les araignées avaient un fort impact sur la régulation

d'œufs de lépidoptères sur le coton, le maïs et le Colza, au sud du Texas. Furlong *et al.* (2014), avait également montré que les araignées dominaient la prédation sur les trois lépidoptères ravageurs de chou (*Crociodolomia pavonana* Fabricius, *Plutella xylostella* L. *Pieris rapae* L.) en Australie. Les carabes constituent eux aussi un groupe taxonomique d'intérêt économique (Kromp, 1999). Firlej *et al.* (2013) ont utilisés l'approche moléculaire pour étudier l'impact de *Pterostichus melanarius* Illiger. (Carabidae) sur la punaise du Soja (*Aphis glycines* Matsumura.) au laboratoire et aux champs. Ces résultats ont montrés une augmentation de la fréquence de prédation de *P. melanarius* en réponse à une augmentation de la densité des populations d'*A. glycines* aux champs. Comme la plupart des ennemis naturels arthropodes, les araignées et les carabes sont très sensible à certaines pratiques culturales et aux insecticides au point qu'ils sont considérées comme des bio-indicateurs dans les systèmes de culture (Kromp, 1999; Lu *et al.*, 2012; Reddy et Miller, 2014).

### **I.1.2.3. Les prédateurs vertébrés : Oiseaux et chauves-souris**

On trouve ainsi des prédateurs d'insectes important dans tous les groupes de vertébrés, en particulier chez les oiseaux et les chauves-souris.

Plusieurs études ont montrées que des oiseaux insectivores peuvent réduire significativement la densité des insectes ravageurs (Greenberg *et al.*, 2000; Holmes *et al.*, 1979; Sanz, 2001). Par exemple, l'étude de Railsback et Johnson (2014) a pu montrée un effet positif des oiseaux insectivores sur la régulation naturelle de la scolyte du caféier (*Hypothenemus hampei*, Coleoptera), principal ravageur du café en Jamaïque, et que cette régulation augmentait avec la diversité et l'abondance des arbres dans les champs. Holmes *et al.* (1979) ont pu évalués l'impact des oiseaux insectivores sur les arthropodes ravageurs des espèces d'abres exploitées pour la production de bois. Ils ont constaté que les oiseaux réduisaient considérablement la densité de larves de Lépidoptères et que l'impact des oiseaux

semble augmenter pendant la période de reproduction. Tanhuanpää *et al.* (2001), avaient rapportés une forte régulation naturelle des oiseaux sur les populations d'*Epirrita autumnata* (Lepidoptera), ravageur des espèces arbres forestiers dans le sud-ouest de la Finlande. Cependant, leurs régimes mixtes (granivore et insectivore) ainsi que leur impact souvent tardif en consommant les larves de dernières stades (Medina et Barbosa, 2002), font que certains chercheurs se posent encore des questions sur l'efficacité des oiseaux insectivores en lutte biologique (Kirk *et al.*, 1996; Wenny *et al.*, 2011).

Particulièrement abondantes et diverses sous les tropiques, les chauves-souris ont un impact mal connu sur les insectes ravageurs (Kalka et Kalko, 2006). Dans les agroécosystèmes du monde entier, les chauves-souris insectivores fournissent des services écosystémiques inestimables dans divers systèmes de culture (Kunz *et al.*, 2011). Rien que sur la culture du maïs, l'impact économique des services écosystémiques fournis par les chauves-souris a été estimé à plus d'un milliard de dollars US (Maine et Boyles, 2015). Leur voracité est un atout essentiel qui leurs confèrent un fort potentiel de régulation naturelle, en particulier sur les noctuelles (Kunz, 2013). Les chauves-souris ont un régime alimentaire composé essentiellement de lépidoptères de la famille des Noctuidae (Lee et McCracken, 2002, 2005, Cleveland *et al.*, 2006). Par exemple, Kalka et Kalko (2006) ont montré que les lépidoptères constituaient 26% du régime alimentaire de la chauve-souris *Micronycteris microtis* (Phyllostomidae), dans l'Île du Colorado au Panama. L'analyse moléculaire d'excréments de la chauve-souris à queue libre *Tadarida brasiliensis*, a révélé que *Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda* et d'autres ravageurs importants constituaient une fraction significative de son régime alimentaire (Lee et McCracken, 2005; Whitaker Jr *et al.*, 1996). A partir d'analyse en metabarcoding de fèces de quatres de chauves-souris de France, Galan *et al.* (2018) ont pu révéler dans les fèces des chauves-souris, la présence de 61 espèces de ravageurs, parmi lesquelles certaines sont importantes pour la gestion de l'agriculture

(exemple, *Helicoverpa armigera*, *Drosophila suzukii* et *Thaumetopoea pityocampa*). Williams-Guillén *et al.* (2008) ont démontré un effet saisonnier sur l'efficacité de l'activité des chauves-souris au Mexique. Bien que les chauves-souris n'aient pas d'effets significatifs sur la densité des arthropodes pendant la saison sèche, leurs impacts restent cependant remarquables pendant la saison des pluies. A cette période, la densité des insectes ravageurs est estimée à 84% dans les cages excluant les chauves-souris.

### **I.1.3. Facteurs abiotiques**

Les facteurs abiotiques peuvent influencer la dynamique des insectes ravageurs ou indirectement à travers leurs auxiliaires (Andrew et Hill, 2017). Ces facteurs abiotiques peuvent affecter la répartition d'un ravageur et dans une certaine mesure le succès d'invasion d'un insecte ravageur (Ziska *et al.*, 2011) ou le succès d'un agent de contrôle biologique exotique dans une région donnée (Getu *et al.*, 2004). Par un effet mécanique (chute, lessivage), la pluie associé au vent, peut être un facteur majeur de mortalité chez les stades précoces (œufs et larves néonatale) d'un ravageur (Kobori et Primack, 2003). Dempster (1967) avait montré que le vent peut entraîner la chute des œufs et des larves de la Piéride de la rave (*Pieris rapae*, Noctuidae), sur le chou. Des études conduites aux Etats-Unis par Naranjo et Ellsworth (2005) sur l'aleurode du tabac *Bemisia tabaci*, ont montrées que les actions combinées du vent et la pluie provoquaient des mortalités principalement sur les œufs et les larves de premier stade (Naranjo et Ellsworth, 2005). Au Canada, selon Harcourt (1966), la pluie entraînait une forte mortalité des larves de la teigne du chou (*Plutella maculipennis*, Plutellidae), avec un impact plus important sur les stades précoces (55,6%) que les stades tardifs (8,8%). Le Rü et Iziquel (1990) ont étudié l'effet mécanique de la pluie sur les populations de la cochenille du manioc (*Phenacoccus maniltoti*, Pseudococcidae) à l'aide

d'un simulateur de pluie. Les résultats obtenus montrent un effet de la pluie sur la réduction de la population de la cochenille du manioc à hauteur de 10%.

A l'image de la pluviométrie, la température et l'humidité sont également des facteurs abiotiques capables d'influencer la dynamique des populations de ravageurs (sex-ratio, fécondité, répartition) (Bale *et al.*, 2002) et des ennemis naturels (Thomson *et al.*, 2010). De manière générale, il semble qu'une augmentation de la température entraîne une augmentation de la densité du ravageur, contrairement à l'humidité. Par exemple, les travaux de Javed *et al.* (2013), ont montré que la densité de puceron sur le Carthame (*Carthamus tinctorius*, Asteraceae) était positivement corrélée à une augmentation de la température et négativement corrélée à l'humidité. De même que, les travaux de Shah et Shahzad (2005) ont montré ces effets antagonistes de la température et l'humidité sur les différentes stades de développement de la noctuelle de la tomate (*Helicoverpa armigera*, Noctuidae) sur le pois chiche (*Cicer arietinum*, Fabaceae).

Une synchronisation du cycle de développement et de la dynamique des populations entre ravageur et ces ennemis naturels est un élément essentiel en lutte biologique. Cependant, il existe une étroite relation entre température et cycle de développement et qui est spécifique pour chaque d'une espèce donnée. On estime que les ennemis naturels, particulièrement les espèces spécialistes, sont particulièrement bien adaptées à écologie saisonnière et à la réponse thermique de leurs proies ou hôtes. Si un décalage se produit entre le cycle de développement d'un ravageur et celle de son ennemi naturel, les conséquences en lutte biologique pourraient être importantes (Roy *et al.*, 2003). La température peut influencer sur le comportement défensif des ravageurs, les rendant plus ou moins vulnérable aux ennemis naturels. Par exemple, Brodeur *et al.* (2013) ont montré que lorsque la température baisse les pucerons de la pomme de terre peuvent développer des mécanismes de défenses plus agressives réduisant ainsi l'efficacité des parasitoïdes. À l'inverse, les pucerons du pois *Acyrtosiphon pisum*

s'enfuient plus rarement à haute température et restent alors plus exposés à leurs ennemis naturels (Dill *et al.*, 1990).

## **I.2. Comment la gestion des habitats semi-naturels peut augmenter le contrôle biologique d'un ravageur par ses ennemis naturels ?**

L'intensification des cultures et la pression parasitaire a eu recours à une utilisation intensive de pesticides qui a entraîné un bouleversement de l'équilibre de la biodiversité des agroécosystèmes et plus globalement sur la santé humaine (Georgiadis *et al.*, 2018). Contrairement à la lutte chimique, la lutte biologique nécessite des informations sur l'origine écologique des ravageurs. C'est au début de ce siècle, et quasi simultanément dans les deux disciplines phytosanitaires majeures, à savoir la phytopathologie et l'entomologie agricole, que l'expression lutte biologique fut proposée pour définir une méthode biologique particulière, mettant en œuvre des organismes vivants, utilisés comme des auxiliaires de l'agriculteur (Ferron, 1999). Concrétisé dès 1948, lors du 8<sup>e</sup> Congrès international d'entomologie (Stockholm), le terme "contrôle biologique" a été utilisé pour la première fois par Harry Scott Smith lors de la réunion de 1919 de la branche "Pacific Slope" de l'American Association of Economic Entomologists, en Californie. L'entomologiste Paul H. DeBach (1914–1993), qui a travaillé tout au long de sa vie sur les insectes nuisibles aux agrumes, en a fait un usage plus répandu (DeBach et Rosen, 1991). Dans cette thèse, nous avons repris la définition initialement proposée en 1964 par DeBach (De Bach, 1964): " la lutte biologique est l'utilisation de populations d'organismes (vivants) parasitoïdes, prédateurs, pathogènes, antagonistes ou compétiteurs, de manière à réduire une population d'organismes nuisibles, en la rendant moins abondante et par la même occasion moins nuisible qu'elle ne l'aurait été autrement ".

Il existe trois principales formes de lutte biologique. La lutte biologique *classique* qui est basée sur l'importation d'entomophage ou d'agent pathogène exotique contre un ravageur précédemment introduit d'une autre région du globe. La lutte biologique *par inondation* qui vise à augmenter artificiellement les populations d'ennemis naturels par des apports extérieurs. L'organisme antagoniste doit être lâché ou inoculé (en grand nombre) à chaque fois que l'effectif du ravageur croît dangereusement. En fin la lutte biologique *par conservation* des auxiliaires autochtones, qui vise à faciliter leur multiplication spontanée par un aménagement judicieux de leur environnement (Ehler, 1998). Elle s'est développée depuis les années 1990 grâce aux nombreuses mesures réglementaires qui favorisent la gestion des habitats naturels tels que des zones refuges (Lee *et al.*, 2001), ou la restauration des milieux, des habitats (Landis *et al.*, 2000), des corridors biologiques (ex: bandes enherbées et naturellement fleuries (Nicholls *et al.*, 2001)) et des structures agro-paysagères (Martin *et al.*, 2013; Menalled *et al.*, 1999) favorables aux ennemis naturels des ravageurs de culture (Gurr *et al.*, 2003, 1998).

### **I.2.1. L'importance de la lutte biologique par conservation**

Parmi les méthodes de lutte biologique, la lutte biologique par conservation (*LBC*) se démarque des autres méthodes. En effet la *LBC* permet de préserver les espèces auxiliaires « autochtones » par conséquent déjà adaptées aux conditions environnementales de la région (Ehler, 1998), et de favoriser leur abondance par une manipulation adéquate de leurs habitats. Les habitats semi-naturels offrent aux ennemis naturels des refuges pendant l'hivernage, des hôtes alternatifs et des ressources alimentaires essentielles telles que les fleurs et pollens pour les parasitoïdes adultes (Gurr *et al.*, 1998). Tout ceci fait que la *LBC* trouve toute son importance à l'ère actuel où l'agriculture intensif associé à une utilisation excessif de pesticide (considérer depuis longtemps comme la solution « miracle » de lutter contre les

ravageurs des cultures) avec comme conséquences directes, une fragmentation des habitats semi-naturels (Kruess et Tscharrntke, 1994) et une perte non-réversible de la biodiversité d'ennemis naturels (Cardinale *et al.*, 2012), sans compter les répercussions néfastes sur l'équilibre des écosystèmes avec l'apparition d'espèces ravageurs de plus en plus résistantes (Bass et Jones, 2018; Brun-Barale *et al.*, 2010). Malgré cela, les ennemis naturels continuent de fournir un service écosystémique précieux; les estimations classent leur contribution à la gestion des ravageurs des cultures bien avant d'autres mesures, y compris les pesticides (Pimentel et Burgess, 2014), et ces services sont estimées à une valeur de 4,5 milliards de dollars de gain par an rien qu'aux États-Unis (Losey et Vaughan, 2008). Il est donc clair que la conservation des ennemis naturels est d'une importance fondamentale pour une agriculture durable (Barzman *et al.*, 2015; Lamichhane *et al.*, 2016).

### **I.2.2. Quel ennemi naturel : Généralistes ou Spécialistes ?**

La mise en place d'une stratégie de *LBC* efficace dépend de la capacité des ennemis naturels indigènes à réguler le ravageur cible, mais également leurs capacités à répondre d'une manière positive à l'aménagement de leurs environnements à l'échelle locale et du paysage pour accroître leurs impacts sur le ravageur (Begg *et al.*, 2017). Ce dernier est déterminant puisque chaque ennemi naturel en fonction de son statut (prédateur ou parasitoïde) peut répondre différemment aux conditions du milieu (Sheehan, 1986). Dans la littérature, le mot généraliste est souvent associé aux prédateurs (dont presque toutes les espèces sont polyphages, voir plus bas), et « spécialistes » aux parasitoïdes.

### **I.2.3. L'importance de la gestion des habitats semi-naturels**

#### **I.2.3.1. Sur les ennemis naturels**

La *LBC* implique la manipulation de l'environnement, à l'échelle locale et du paysage, pour améliorer la survie, la fécondité, la longévité et le comportement des ennemis naturels afin

d'accroître leur efficacité. La modification des *HSN* pour améliorer la disponibilité des ressources indispensables pour les ennemis naturels, est considéré comme un sous-ensemble des méthodes de *LBC*. L'intérêt de la gestion des *HSN* est de pallier les lacunes des paysages agricoles qui ne fournissent souvent pas assez de ressources aux ennemis naturels. En principe il s'agit de mettre en place des stratégies d'aménagement des habitats pour conserver les ennemis naturels dans ou à proximité de la parcelle. Le rôle des *HSN* dans la régulation des ravageurs est très bien documenté dans la littérature (Bianchi *et al.*, 2006; Gurr *et al.*, 2000; Jonsson *et al.*, 2008; Menalled *et al.*, 1999; Rusch *et al.*, 2013; Veres *et al.*, 2013), et la gestion des *HSN* peut se faire à différente échelle. A l'échelle locale, la gestion des habitats, peut se faire par introduction de plantes alternatives, plantes répulsifs pour les ravageurs ou attractifs pour les ennemis naturels, cultures intercalaires dans ou autour des parcelles. La plupart des études ont montré l'efficacité de cette approche dans la conservation des ennemis naturels (Gurr *et al.*, 2000; Jonsson *et al.*, 2008). En effet, les habitats semi-naturels peuvent fournir des ressources supplémentaires comme des proies alternatives pour les prédateurs et hôtes pour les parasitoïdes. Celles-ci (proies et hôtes alternatives) constituent une ressource précieuse pour les ennemis naturels, car elles améliorent leurs performances et permettent leurs maintiens en l'absence du ravageur cible et par conséquent, permettent à ces ennemis naturels de réagir rapidement à l'apparition et à l'augmentation des populations du ravageur (Landis *et al.*, 2000; Rusch *et al.*, 2010). Cependant, d'autres mécanismes comme la diversification des cultures ou l'apport de fertilisant peuvent également être utilisés. Par exemple, le comportement de certains ravageurs peut être perturbé par les cultures mixtes (cultures intercalaires) et cela pourrait également rendre les organismes nuisibles plus vulnérables aux ennemis naturels (Ratnadass *et al.*, 2012). L'apport de fertilisant organique dans la parcelle outre son apport de nutriments pour la plantes (Jannoura *et al.*, 2014), peut également favoriser l'activité biologique essentiellement des prédateurs du sol (par exemple, carabes) (Altieri, 1999). Beaucoup d'étude ont montré l'impact de la complexité du paysage

sur la coexistence, l'abondance et la biodiversité des ennemis naturels (Begg *et al.*, 2017). Par exemples, Bianchi *et al.* (2006) ont constaté que 74% des études examinées faisaient état d'une augmentation de l'abondance des ennemis naturels. Une méta-analyse sur 46 cas d'études portant sur le rôle des *HSN* sur les ennemis naturels, avait montrée un effet positif et constant de la complexité du paysage sur l'abondance et la diversité des ennemis naturels (Chaplin-Kramer *et al.*, 2011). Veres *et al.* (2013) ont constaté également un effet positif sur les taux de prédation dans plus des trois quarts des cas d'études examinés. Globalement, l'effet du paysage sur la biodiversité et le fonctionnement des réseaux trophiques dans les systèmes agricoles a été évalué en termes de complexité du paysage, définie comme la proportion de terres agricoles ou semi-naturelles (Chisholm *et al.*, 2014). En effet, la complexité de l'habitat, y compris le type de culture et la complémentarité entre habitats, sont des facteurs déterminants à l'échelle du paysage qui peuvent favoriser l'abondance et de la diversité des ennemis naturels (Chisholm *et al.*, 2014; Rusch *et al.*, 2013). La complémentarité entre habitats (connectance entre les différents patches de végétation) peut affecter la dynamique des ennemis naturels et joue un rôle capital dans leur capacité à coloniser d'autres parcelles, en facilitant leurs déplacements dans le paysage. Outre son impact sur l'abondance des ennemis naturels, la complexité du paysage, ou plus précisément l'hétérogénéité de l'habitat, peut affecter la biodiversité via divers mécanismes de coexistence entre espèces (Tscharrntke *et al.*, 2008), en permettant d'éviter à la fois la compétition mais aussi prédation entre les ennemis naturels (Kneitel et Chase, 2004).

Cependant, des études récentes remettent en question la constance du rôle des *HSN* à l'échelle du paysage comme amplificateur de la biodiversité des ennemis naturels en leur apportant les ressources nécessaires. Tscharrntke *et al.* (2016), a passé en revue les principaux points qui font que les *HSN* prisent isolément ne permettaient pas la régulation des ravageurs. L'échec peut résulter du fait que (1) par l'absence d'ennemis naturels efficaces dans la région,

(2) l'*HSN* peut favoriser plus les ravageurs que les ennemis naturels, (3) les cultures fournissent aux ennemis naturels plus de ressources que l'*HSN*, (4) la superficie, la proximité, la composition ou la configuration de l'*HSN* peut être insuffisante pour favoriser l'abondance et la biodiversité des populations d'ennemis pour lutter efficacement contre les ravageurs, (5) et enfin des pratiques culturales qui empêchent la mise en place des services écosystémiques fournis par l'*HSN*. Dans le même raisonnement, l'étude de Karp *et al.* (2018) a montré que l'impact positif des *HSN* dans la régulation des ravageurs est très variable selon les études et les régions. En principe la présence d'un quelconque d'habitats dans le paysage ne suffit pas en soi-même pour impacter efficacement sur la régulation du ravageur. L'*HSN* doit être considéré comme un catalyseur de performance des ennemis naturels en leur fournissant les ressources nécessaires (essentiellement des abris, proies et hôtes alternatives) à leurs survies et leurs maintiens dans l'espace et dans le temps.

### **I.2.3.2. Sur les interactions entre ennemis naturels**

L'efficacité d'un ennemi naturel spécialiste ou généraliste peut être affectée par les interactions existantes entre espèces. Cela implique donc une meilleure compréhension de ces interactions entre ennemis naturels. Par exemple dans un réseau tri-trophique, les parasitoïdes tuent et vivent aux dépens de leurs hôtes, mais ils servent également de nourriture aux prédateurs intra-guildes et aux hyper-parasitoïdes. La prédation intra-guille, est une compétition entre ennemis naturels, dans le cas entre parasitoïdes et prédateurs, le parasitoïde est toujours la proie car leurs larves peuvent être consommées par le prédateur intraguille (Polis *et al.*, 1989). L'hyper-parasitisme implique des parasitoïdes qui attaquent d'autres espèces de parasitoïdes (Sullivan, 1987). Les hyperparasitoïdes constituent un groupe idéal pour tester l'impact des *HSN* sur les interactions entre espèces, puisque les niveaux trophiques supérieurs sont plus sensibles aux perturbations des agro-écosystèmes (Post, 2002; Frago, 2016). Bien que peu explorée, la complexité spatiale peut permettre la coexistence de

différentes espèces de parasitoïdes (László et Tóthmérész, 2013) mais également d'hyperparasitoïdes, comme le suggère une étude sur les hyperparasitoïdes de *Cotesia glomerata* (Braconidae). Ce parasitoïde a été attaqué par quatre espèces d'hyperparasitoïdes mais à des vitesses différentes dans le couvert végétal ou près du sol (Harvey *et al.*, 2014). Ceci laisse penser que les spécialistes se trouveraient désavantager en situation de compétition en présence de généraliste intragilde. D'autant plus certains auteurs suppose qu'en situation de forte prédation intragilde, les prédateurs peuvent perturber l'impact des parasitoïdes (Koss et Snyder, 2005; Snyder et Ives, 2001) et augmenter ainsi indirectement les dommages causés par les ravageurs (Snyder et Ives, 2003).

Par ailleurs, beaucoup d'études ont montrés le rôle bénéfique de ces interactions dans la régulation d'un ravageur. Même si Frago (2016) suggère que des études à long terme (multigénérationnelles) sur des communautés plus complexes sont nécessaire pour bien comprendre les propriétés émergentes de diverses guildes d'ennemis naturels sur les niveaux trophiques inférieurs. Certaines études montre que les proies intraguildes (parasitoïdes) souffrent généralement moins de prédation dans des agroécosystèmes complexes (forte densité habitats semi-naturels, présence de couverture végétale dans la parcelle), probablement en raison de la disponibilité accrue de refuges ce qui limite fortement les rencontres entre prédateurs et parasitoïdes (Janssen *et al.*, 2007), ou mieux encore l'évitement induit par les prédateurs intraguildes obligerait les parasitoïdes à se disperser et à coloniser d'autres parcelles où la ressource (proie) est présente à des densités faibles et par conséquent moins de prédateurs si ces derniers se regroupent en réponse au nombre de proies (Chacón et Heimpel, 2010; Raymond *et al.*, 2000). D'autre études montrent clairement que les ennemis naturels de différentes guildes peuvent exercer des actions complémentaires pour une régulation naturelle plus efficiente sur les ravageurs, voir même d'une espèce invasive (exemple, le cas de *Tuta absoluta*, Gelechiidae) (Chailleux *et al.*, 2017). L'étude de Gontijo *et*

*al.* (2015) suggère que les prédateurs et les parasitoïdes exercent des impacts complémentaires. En effet, ils ont remarqué que la régulation des pucerons verts du pommier (*Eriosoma lanigerum*, Aphididae) étant plus efficace lorsque les deux classes d'ennemis naturels sont présentes ensemble. En outre, la complexité spatiale des habitats dans lesquels se trouvent les communautés peut améliorer la stabilité et la diversité des interactions intraguïdes, qui peuvent varier selon les saisons (Frago, 2016). Même si la plupart des études portant sur ces questions ont été menées dans des écosystèmes agricoles, simplistes par rapport aux écosystèmes naturels, cependant il existe des études qui ont pu montrer l'importance de la complexité des habitats semi-naturels sur la stabilité et la complémentarité des interactions de type guildes sur la régulation d'un ravageur (Landis *et al.*, 2000). Par exemple, les travaux de Martin *et al.* (2013) ont montrés que lorsque les oiseaux étaient exclus, la régulation naturelle due aux insectes prédateurs (généralistes) et les parasitoïdes (spécialistes) augmentait avec la complexité de l'habitat. Les interactions intraguïdes étaient toutefois plus importantes dans les habitats complexes, car cet effet était atténué lorsque les oiseaux n'étaient pas exclus. L'étude de Dainese *et al.*, (2017), souligne l'importance de la présence de différentes guildes d'ennemis naturels pour la régulation de ravageurs et démontrent comment la lutte biologique peut être renforcée par la complémentarité entre les ennemis naturels. Leurs résultats montrent que les prédateurs généralistes et les parasitoïdes spécialisés exerçaient par complémentarité une importante régulation naturelle sur le coléoptère ravageur des pollens (*Meligethes aeneus*, Nitidulidae) sur le Colza, en plus cette régulation était favorisée par une augmentation des habitats semi-naturels dans le paysage.

### **I.3. Metabarcoding : Une approche innovante pour évaluer les processus écologiques impliqués dans la régulation naturelle d'un ravageur**

#### **I.3.1. Application dans l'identification des ennemis naturels et leurs interactions**

Une meilleure connaissance de la diversité des communautés d'arthropodes et des interactions est essentielle pour mettre en place une stratégie de lutte biologique efficace (Ings *et al.*, 2009). Ceci passe par une identification précise des ennemis naturels impliqués dans la régulation naturelle d'un ravageur cible. Actuellement, l'utilisation du 'barcoding' comme outil d'identification est devenu une simple 'routine' (Hebert *et al.*, 2003). Des millions de séquences de références existent actuellement dans les bases de données publiques (plus de 6 millions dans *BOLD*, Ratnasingham et Hebert, 2007). La communauté scientifique a rapidement compris le rôle déterminant d'un tel outil pour combler les limites qui existaient dans l'approche classique basé sur des caractères morphologiques (Valentini *et al.*, 2009). Parmi ces limites on peut citer, des erreurs d'identifications due à la plasticité phénotypique du caractère étudié ou à l'existence d'espèces cryptiques (Hall *et al.*, 2017). En plus, les clés d'identifications morphologiques ne sont applicables que sur des adultes, et plus souvent sur un sexe particulier. Comme dans le cas des diptères, où l'identification des espèces est principalement basée sur les organes génitaux mâle. Ce qui nécessite une grande mobilisation d'expertises, et qui d'ailleurs ce font de plus en plus rares dans le monde. Le développement récent des technologies de séquençage à haut débit (en anglais *high-throughput sequencing*, HTS) a ouvert la voie à l'utilisation d'approches moléculaires pour identifier un grand nombre d'individus en très peu de temps et à un coût raisonnable (Cruaud *et al.*, 2017; Galan *et al.*, 2012). Ces outils ont révolutionnés l'étude de la biodiversité des communautés dans divers environnements (Cristescu et Hebert, 2018; Taberlet *et al.*, 2012).

En écologie, la question, '*qui mange qui?*' est cruciale pour comprendre les mécanismes de régulation d'un ravageur. Ces interactions entre espèces sont souvent très difficile à évaluer

en milieux naturels, en particulier chez les prédateurs arthropodes de type piqueurs–succeurs. Les méthodes telles que, l'utilisation de anticorps monoclonaux et l'approche basé sur le PCR ont améliorés l'étude des interactions trophiques entre prédateurs–proies, par rapport aux méthodes conventionnelles basées sur des observation directes et des tentatives d'identification à partir de restes non–digérés de proies dans l'intestin du prédateur (Symondson, 2002). Cependant, ces méthodes se trouvent limitées par le coût relativement élevé des réactifs et du travail laborieux. En Sanger par exemple, une réaction de PCR peut identifier qu'une seule espèce, alors que le tube digestif d'un prédateur donné peut contenir de l'ADN provenant de plusieurs espèces de proies, ce qui nécessite un nombre incalculable de réactions. En plus, un nombre significatif de prédateurs doit être traité pour un avoir aperçu plus réaliste de l'importance relatif d'une espèce de prédateur en milieux naturel. C'est pourquoi, l'avènement du séquençage à haut–débit a révolutionnée cette domaine et commence à être adoptée de plus en plus, puisqu'il permet d'identifier un grand nombre d'individus en une seule réaction PCR ce qui représente un gain de temps et d'argent non négligeable (Pompanon *et al.*, 2012). L'efficacité de cette approche dans l'étude de régime alimentaire chez les chauve–souries (Galan *et al.*, 2018), ou des grands mammifères omnivores comme l'ours brun (Barba *et al.*, 2014), a été démontré. Le metabarcoding permet également de détecter des interactions comme la prédation intra–gilde, un phénomène qui n'apparaît pas dans les analyses PCR en Sanger. Par exemple, Gomez-Polo *et al.* (2016) ont pu montré que que le prédateur *Orius majusculus* (Reuter) se nourrissait d'autres espèces de prédateurs comme d'autres Orius, des syrphes, des araignées et de coléoptères prédateurs. Cet exemple illustre la capacité du metabarcoding à révéler des relations trophiques à des niveaux de complexité inattendus (Dunne *et al.*, 2002).

Parmi les processus écologiques impliqués dans les réseaux trophiques, le parasitisme est un composant essentiel en lutte biologique. Le rôle des parasitoïdes comme agent de

contrôle biologique des ravageurs de cultures est très connu (Waage et Hassell, 1982). L'un des enjeux sur le choix d'un agent de contrôle biologique est de connaître son potentiel de régulation sur le ravageur cible, et ceci passe indéniablement par une estimation précise de son impact (taux de parasitisme) et ces interactions (hyperparasitisme, multiparasitisme) avec d'autres espèces. Les méthodes traditionnelles d'identifications des parasitoïdes et d'estimation de taux de parasitisme reposent sur l'élevage de l'hôte jusqu'à l'apparition de parasitoïdes adultes ou par la dissection de hôte. Cependant, ces deux méthodes se trouvent limiter soit par une mortalité souvent très importante pouvant intervenir pendant l'élevage de l'hôte ou la difficulté d'identifier les stades immatures en dissection (Day, 1994; Ratcliffe *et al.*, 2002). Le metabarcoding à l'image des autres méthodes moléculaires (Sanger, qPCR), repose sur la détection de l'ADN du parasitoïde dans les tissus de l'hôte, ce qui exclut la mortalité qu'on peut observer en élevage. Wirta *et al.* (2014), ont pu montrer que l'approche moléculaire MAPL (*Molecular Analysis for Parasitoids Linkage*) détecte des taux de parasitisme plus élevés que l'élevage, et fournissent des informations complémentaires sur les réseaux trophiques. En plus des méthodes moléculaires Sanger, le metabarcoding est capable de fournir une identification fiable, rapide et accessible des spécimens immatures et adultes, même pour les non-taxonomistes, et sans connaissance préalable de la composition spécifique du réseau trophique (Pompanon *et al.*, 2012). De plus, le metabarcoding peut fournir des informations (exemple, multiparasitisme) difficiles à obtenir avec les approches conventionnelles classiques (élevage, Sanger) (Hall *et al.*, 2017), puisque le metabarcoding est capable de co-amplifier et co-séquencer plusieurs taxons dans une seule réaction de PCR (Taberlet *et al.*, 2012). Enfin, le metabarcoding permet de séquencer un grand nombre d'échantillons pour un coût limité (Galan *et al.*, 2010; Shokralla *et al.*, 2012; Smith et Peay, 2014), ouvrir la possibilité d'entreprendre des études à grande échelle.

### **I.3.2. Application en lutte biologique par conservation**

L'application de cette approche en lutte biologique par conservation est très large. Gurr et You, (2016) ont passé en revue les différentes formes d'application des outils moléculaires sur les différentes formes de lutte biologique par conservation. Avec l'approche moléculaire il est possible de créer des ennemis naturels génétiquement modifiés en leur conférant des traits de spécificité pour améliorer leurs performances (Hoy, 2000), la mise en place de cultures génétiquement modifiés pour réduire l'utilisation d'insecticides et en favorisant ainsi les ennemis naturels (Lu *et al.*, 2012), ou des modifications génétiques des plantes cultivées pour réagir plus rapidement et plus efficacement aux attaques de ravageurs en émettant des composés volatils attractifs pour les ennemis naturels (Bruce *et al.*, 2015). Cependant, nous allons nous intéresser aux applications qui impliquent le rôle des végétations semi-naturelles sur les ennemis naturels, même si les exemples sont rares. Grâce au metabarcoding, Mollot *et al.* (2014) ont pu montrer comment la présence d'une plante de couverture peut altérer l'impact des prédateurs arthropodes généralistes sur la régulation du charançon de la banane (*Cosmopolites sordidus*, Coleoptera), le principal ravageur de la banane, en Martinique. Par ailleurs, de nombreuses études ont démontrées le rôle bénéfique du nectar et des pollens sur de nombreux processus vitaux essentiels à la réussite des parasitoïdes et prédateurs dans la régulation naturelle (Wäckers *et al.*, 2005 ; Lundgren, 2009). Le metabarcoding peut être également utilisé pour identifier les espèces végétales (cultivés ou non) sources de nourriture pour ces ennemis naturels. Cette démarche peut être également appliquée sur le ravageur, en identifiant leurs plantes hôtes alternatives afin de les utiliser comme plantes « push-pull ».

### **I.3.3. Les limites du metabarcoding**

Le metabarcoding peut être sujet de biais techniques qui doivent être mieux appréhendés pour étudier de manière efficace les processus écologiques. Les contaminations ou les biais

de PCR sont les principales limites qui peuvent entraîner des faux négatifs et des faux positifs (Shokralla *et al.*, 2012). Les faux négatifs peuvent être induits par une faible concentration de l'ADN cible, une technique d'échantillonnage inappropriée, une extraction peu efficace, ou la présence d'inhibiteurs qui empêche l'amplification de l'ADN, les mismatches entre les amorces et l'ADN cible, la dégradation de l'ADN sous l'action des enzymes digestifs présentement dans le tube digestif des prédateurs, un protocole d'analyse bio-informatique inadéquate peut entraîner la suppression des séquences rares considérées comme des artéfacts. Les faux positifs, quant à eux, résultent essentiellement de contamination des échantillons qui peut intervenir à différents niveaux du protocole, qui va de l'échantillonnage jusqu'au séquençage de l'ADN. Un protocole rigoureux est nécessaire lors de la collecte des échantillons aux champs, pour limiter les risques de contamination sources de faux positifs. Ceci est également valable lors des différentes étapes de PCR (extraction, amplification, etc.). Bien qu'il existe des précautions techniques permettant de réduire ces biais en metabarcoding (Ficetola *et al.*, 2015; Galan *et al.*, 2016; Smith et Peay, 2014), comme par exemple, l'introduction de multiple témoins négatifs et positifs peut permettre d'identifier les biais et de remonter jusqu'à la source du problème, ce qui permet d'éviter des interprétations erronées de processus écologiques (Cristescu et Hebert, 2018; Elbrecht *et al.*, 2017; Galan *et al.*, 2018).

Au-delà des biais techniques, le metabarcoding permet d'identifier les compétitions mais ne permet pas de prédire l'issue de la compétition entre espèces. Dans le cas du parasitisme, la détection de l'ADN d'un parasitoïde chez un hôte n'indique pas nécessairement sa survie jusqu'au stade adulte (Garipey *et al.*, 2008). Le metabarcoding ne permet de d'identifier le cannibalisme entre les espèces.

## I.4. Modèle d'étude: La mineuse de l'épi de mil (MEM)

### I.4.1. Taxonomie et synonymie

Endémique en zone sahélienne, la mineuse de l'épi de mil (MEM) a été reconnue comme ravageur à partir de la sécheresse de 1972–1974 (Gahukar *et al.*, 1986 ; Mbaye, 1993; Toure et Yehouéno, 1995). C'est une espèce monophage qui n'a été jusque-là retrouvée que chez le mil. Elle mine l'épi selon un tracé en spirale caractéristique. Les jeunes larves perforent les glumes et dévorent l'intérieur des fleurs, tandis que celles plus âgées coupent les pédoncules floraux et laissent des déjections granuleuses blanchâtres (Vercambre, 1978 ; Gahukar *et al.*, 1986; Bal, 1992), empêchant ainsi la formation des grains ou en provoquant même leur chute.



**Figure 2 :** Images d'une femelle (A) et une larve (B) de la mineuse sur un épi de mil.

Décrite dans la région ouest-africaine dès 1925 par Joannis, des espèces échantillonnées par Risbec en 1938 ont été conservées à l'IFAN sous le nom de *Timora sp.* (Mbaye, 1993). Toujours selon Mbaye (1993), l'explosion des chenilles de la MEM ces dernières années est due à l'évolution de l'environnement qui a favorisé la coïncidence entre le stade phénologique de la plante et le stade nuisible du ravageur.

Insecte holométabole, *H. albipunctella* est un Lépidoptère appartenant à la famille des Noctuidae, et à la sous famille des Heliiothinae. Grâce à la révision taxonomique publiée par Matthews (1987), certaines espèces qui étaient rattachées aux genres *Raghuva* et *Canthylidea*

appartiennent désormais au genre *Heliocheilus*. En dehors d'*H. albipunctella*, six autres espèces ont été recensées en Afrique (Marcus, 1987 in Zoromy, 1989). Les quatre espèces décrites par Laporte en 1977, comme appartenant au genre *Raghuva* (*R. vercambrei*, *R. bordati*, *R. graminivora* brenieri) sont rattachées au genre *Heliocheilus* (Nwanze *et al.*, 1995). Malgré qu'elle soit bien représentée en Afrique, *H. albipunctella* De Joannis reste l'espèce dominante dans le Sahel (Gahukar, 1984).

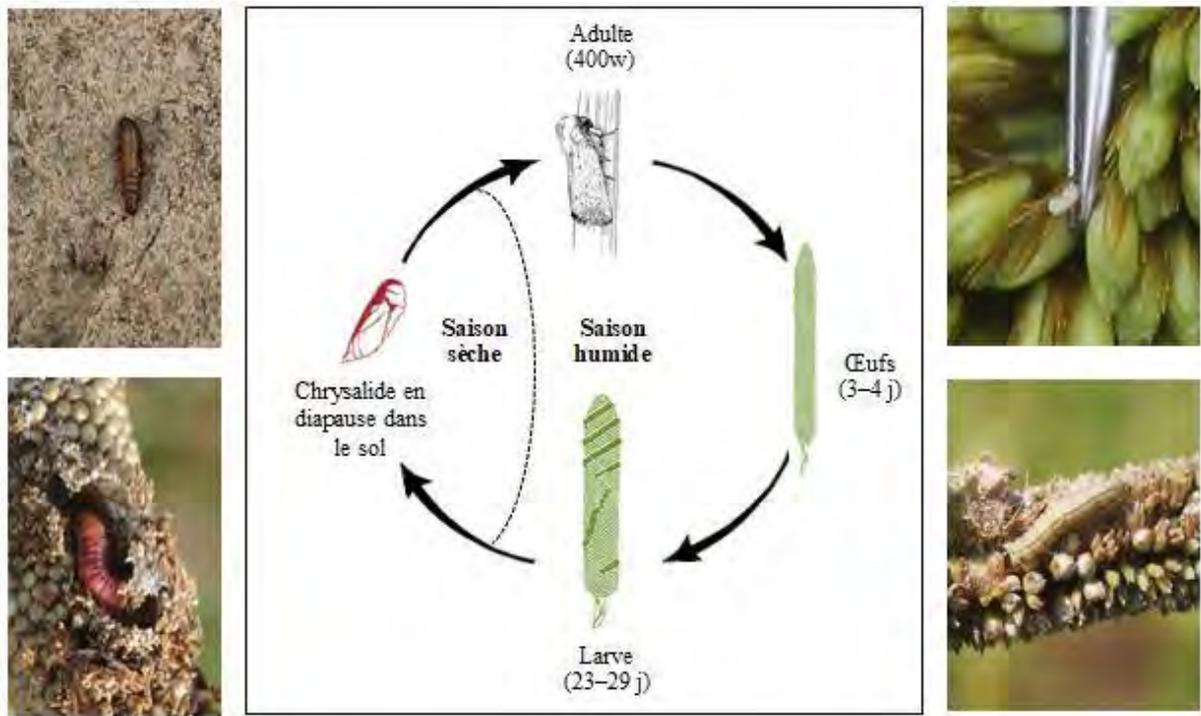
#### **I.4.2. Bio-écologie**

Environ 400 œufs sont pondus isolément, ou par lot de 3 à 4 œufs, sur les soies de l'involucre de la fleur ou sous les étamines (Bhatnagar, 1986; Ndoye, 1992; Nwanze et Harris, 1992; Nwanze et Youm, 1995), mais également au niveau des pédoncules floraux ou sur le rachis (Sarr, 1997). Les œufs sont d'abord blancs, puis jaunissent ensuite. Environ 70% des œufs sont pondus pendant l'épiaison, 10% pendant la floraison femelle, 16% au cours de la floraison mâle, et le reste au cours du stade laiteux (Nwanze et Youm, 1995). Après 3–4 jours d'incubation (Nwanze et Youm, 1995), les œufs éclosent et donnent des larves qui se développent au dépend des pédoncules et des fleurs qu'elles sectionnent (Vercambre, 1978 ; Bal, 1992). Le développement larvaire dure entre 23 et 39 jours selon les auteurs (Bal, 1992 ; Nwanze et Harris, 1992; Nwanze et Youm, 1995). Les jeunes larves sont de couleur jaune à vert foncé avec deux bandes lumineuses de chaque côté. Elles prennent la couleur rose au stade de pré-nymphose. Les larves âgées se chrysalides dans le sol où elles restent en diapause puis en quiescence toute la saison sèche (Vercambre, 1978 ; Gahukar, 1984).

Les populations de chrysalides sont abondantes dans les premiers centimètres du sol, notamment au niveau des radicules des souches (Vercambre, 1978). La nymphose intervient 3–4 jours après la chute de la larve (Nwanze et Youm, 1995). Certains facteurs comme la pluviométrie, la température et la nature du sol influencent fortement la survie des chrysalides

dans le sol (Gahukar *et al.*, 1986; Baldé, 1993; Nwanze *et al.*, 1995; Nwanze et Youm, 1995 ; Dabré, 2008). Les observations faites au champ durant la contre-saison montrent que la majorité des chrysalides formées se trouvent à des profondeurs de 15 à 25 cm dans les sols sableux et de 10 à 15 cm dans les sols lourds (argileux) (*ibidem*). Le taux de mortalité des chrysalides dû à la température est fonction de la profondeur à laquelle celles-ci sont logées (Baldé, 1993). Ainsi les larves en diapause dans la couche supérieure sont beaucoup plus exposées à l'action de la température qui peut atteindre 50–55°C entre avril et mai (Nwanze et Harris, 1992). C'est une des raisons de la faible présence de la MEM dans la partie sud du pays, où les sols sont plus ou moins argileux. Il est pratiquement impossible de trouver des chrysalides dans ces sols à des profondeurs inférieures à 5 cm (Baldé, 1993).

L'émergence des adultes intervient généralement un mois après les premières fortes pluies estimées à un minimum de 10 mm, et le pic d'émergence intervient au mois d'août (Baldé, 1993 ; Nwanze et Youm, 1995). Cependant, un retard dans l'arrivée des pluies ou d'un début de saison sèche prolongée peut entraîner un changement ou une interruption de l'émergence des papillons (Nwanze et Harris, 1992). Aux mœurs nocturnes, les adultes mâles attirent leurs congénères grâce au « bourdonnement » produit par des vibrations de leurs ailes antérieures. Les femelles se rapprochent des mâles et l'accouplement intervient immédiatement (Green *et al.*, 1999). Toutes les observations relatives à cette espèce montrent une seule génération (Bal, 1992). En cas de longue période de pluie, le vol des papillons peut s'étendre à plus d'un mois. Le cycle de développement est résumé dans la Figure 3.



**Figure 3 :** Cycle de développement de la mineuse de l'épi de mil, d'après (Vercambre, 1978; Gahukar *et al.*, 1986; Green *et al.*, 2004;).

La MEM se rencontre entre les isohyètes 100 et 700 mm couvrant entre autre le Burkina Faso, la Gambie, le Mali, la Mauritanie, le Niger, le sud du Nigéria, le Sénégal, et le nord du Togo. Au Sénégal, elle est présente dans toute la zone de culture du mil et constitue en particulier un des problèmes majeurs au sud du bassin arachidier (Ndoye *et al.*, 1984). Le niveau de dégâts dépend de la coïncidence entre le vol des papillons et l'épiaison et de la capacité des grains non détruits à compenser les pertes (Gahukar *et al.*, 1986; Mbaye, 1993 ; Nwanze et Youm, 1995 ; Sarr, 1997).

Les pertes de rendement causées par les chenilles de la MEM ont été estimées entre 13% et 85% en 1974–76 au Sénégal sur la variété Souna (Vercambre, 1978 ; Nwanze et Harris, 1992). Gahukar *et al.* (1986), ont rapporté une variation considérable dans l'estimation de la perte de rendement pour la MEM au Sénégal. En 1981 et 1982, les pertes ont varié de 3 à 82% dans le Sine Saloum et de 15 à 20% dans la région de Louga en 1982. Dans les zones

touchées, les pertes moyennes occasionnées varient entre 10 et 20% (Bal, 1992). Certains auteurs rapportent des pertes de rendement qui diffèrent d'une variété à une autre (Bal, 1992 ; Nwanze et Harris, 1992). Krall *et al.* (1995) ont corrélé le pourcentage de perte en fonction du nombre de larves : les pertes étaient de 3,5% avec un niveau d'infestation de 1–2 larves par panicule, 20,7% pour 3–4 larves, 34,5% pour 5 larves par panicule et 46,8% pour >5 larves par panicule. Récemment, Thiaw *et al.* (2017) rapporte des pertes en grains estimées à 10 %.

#### **I.4.3. Plante hôte : le mil**

La MEM est inféodée au mil (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br., 1810). Cependant, un petit nombre des larves peut se trouver sur les épis de *Pennisetum violaceum* à la fin de l'hivernage (Vercambre, 1978 ; Gahukar *et al.*, 1986).

Le mil pénicillaire, *P. glaucum*, est aussi appelé mil à chandelle ou petit mil. Pour les anglophones, l'appellation la plus fréquente est « pearl millet ». Les Indiens l'appellent « bajra » (Bezançon *et al.*, 1997). La distribution géographique de la forme sauvage limitée en Afrique occidentale sahélienne laisse penser que c'est dans cette zone qu'il a été domestiqué pour la première fois (Bezançon *et al.*, 1997 ; Bezançon et Pham, 2004). Essentiellement produit en Asie (Inde, Asie du sud) et en Afrique, la production de mil couvre près de 30 millions d'hectares répartis principalement dans les zones arides et semi-arides de l'Afrique, avec 20 millions d'hectares cultivés pour une production de 11,9 millions de tonnes (Bezançon *et al.*, 1997). Le mil, aliment de base des populations, est de loin la céréale la plus importante au Sénégal, tant pour les superficies emblavées que pour la production. Il est cultivé dans tout le pays, notamment dans la région de Kaolack, qui représente 26% des superficies cultivées et 39% de la production nationale, estimée à plus de 528 000 tonnes en 2005. Les rendements moyens en milieu paysan varient entre 0,5 et 0,6 t/ha (Ndiaye *et al.*, 2005). Parmi les quatre espèces cultivées, le *P. glaucum* est de loin la plus importante.

Le mil est une espèce annuelle diploïde, sexuée, hermaphrodite, préférentiellement allogame avec une protogynie fortement marquée. Sa pollinisation est anémophile. Le comportement photopériodique des variétés détermine le choix de leur implantation (Bezançon *et al.*, 1997). Les mils pénicillaires sont des graminées de zones semi-arides chaudes avec des températures moyennes de 28°C pendant la saison de culture. Le mil est généralement cultivé dans des zones ayant une pluviométrie variant entre 200 et 800 mm. Moins exigeant que le sorgho, le mil est généralement cultivé sur des sols légers et sablo-argileux bien drainés avec pH faible. Il tolère la sécheresse, un faible niveau de fertilité des sols et des températures élevées (Mémento de l'agronome, 2002). Les variétés semi-tardives et tardives (110–180 jours) restent les plus utilisées dans la zone soudano-sahélienne tandis que les variétés à cycle court (75 jours) prédominent dans la zone climatique typiquement sahélienne (Clément *et al.*, 1993).

Plusieurs insectes ravageurs ont été inventoriés sur le mil, à travers des travaux de Risbec (1950), Appert (1957), et Gahukar (1984). Le nombre varie entre 81 et 150 espèces selon le lieu (Youm, 1995). Parmi ces espèces, celles appartenant à l'ordre des Lépidoptères restent de loin les plus redoutables, d'une part par les dégâts et d'autre part par leur omniprésence dans la région (Mbaye, 1993; Toure et Yehouénou, 1995). Hormis la MEM, qui constitue le principal ravageur sur le mil, on peut citer d'autres ravageurs qui attaquent le mil. Par exemple, *Coniesta ignefusalis* Hampson (Pyralidae), *Sesamia calamistis* Hampson (Noctuidae), *Lema planifrons* Benth (Chrysomelidae). On peut retrouver également quelques Coléoptères comme *Psalydolytta flavicornis*, *P. vestita*, *P. fusca* (Meloidae), *Rhinyptia infuscata* (Rutelidae), et des acridiens de la famille des Acrididae (*Oedaleus senegalensis*, *Schistocerca gregaria*) (Ndoye *et al.*, 1984). Parmi les maladies les plus importantes, on peut citer le charbon et le mildiou (*Sclerospora graminicola* Schroet). Les mauvaises herbes comme le *Striga hermonthica* Benth constituent un grand problème pour la culture du mil dans la zone sahélienne de l'Afrique (Mbaye, 1992).

#### **I.4.4. Les ennemis naturels de la MEM**

Des études ont été menées par Bhatnagar (1986) et Gahukar *et al.* (1986), dans le cadre d'un programme de lutte biologique dans différentes régions du Sénégal entre 1981 et 1986. Ces dernières ont permis de recenser plusieurs ennemis naturels indigènes de la MEM. En résumé, Gahukar *et al.* (1986) ont signalé 11 insectes prédateurs, 12 insectes parasitoïdes, un parasitoïde nématode et trois maladies, dont les plus importants sont recensés dans Tableau 1. D'après Sarr, (1997) ces ennemis naturels constituent le facteur principal de mortalité naturelle de ce ravageur estimé à 77% par Sarr (1996). Parmi ces ennemis naturels les parasitoïdes de la MEM sont très bien étudiés et occupent une place importante. Quatre espèces dominent le parasitisme de la MEM dans la littérature, à savoir une espèce du genre *Trichogrammatoidea* sp., *Copidosoma (Litomastix)* sp., *Cardiochiles sahelensis* (Huddleston & Walker), *Habrobracon hebetor* (Say).

**Tableau 1:** Principaux ennemis naturels d'*Heliocheilus albipunctella* recensés (d'après, Guevremont, 1983; Bhatnagar, 1986 ; Gahukar *et al.*, 1986 ; Ndoye 1992 ; Thiam et Valk, 1996).

Stade du mil	Stade MEM	Type	Famille	Espèces
<b>Epiaison– maturation</b>	Œufs	Parasitoïdes	Trichogrammatoïdae	<i>Trichogrammatoïdea sp.</i>
			Scelionidae	<i>Telenomus sp.</i>
		Prédateurs	Coccinellidae	<i>Verania striata</i>
			Anthocoridae	<i>Orius sp.</i>
<b>Maturation</b>	Larves	Parasitoïdes	Braconidae	<i>Bracon hebetor</i> Say
			Ichneumonidae	<i>Pristomerus sp</i>
			Braconidae	<i>Apanteles sp</i>
			Braconidae	<i>Cardiochiles sahelensis</i>
			Ancyrtidae	<i>Copidosoma sp.</i>
			Tachinidae	<i>Paalexorista quadrizonula</i>
			-	<i>Chalcididae sp</i>
			Ichneumonidae	<i>Meteorus sp</i>
			Tachinidae	<i>Goniphthalmus halli</i>
			Mermitidae	<i>Hexameris(Nematodes)</i>
		Prédateurs	Carabidae	<i>Graphyterus obsoletus</i>
			Forficulidae	<i>Forficula senegalensis</i>
			Reduviidae	<i>Ectomocoris sp.</i>
		Eumenidae	<i>Delta sp.</i>	
		Sphecidae	<i>Ammophila sp.</i>	
Chrysalides	Parasitoïdes	Bombyliidae	<i>Thryridanthrax sp.</i>	
		Ichneumonidae	<i>Hadromanus sp</i>	

*Trichogrammatoïdea sp.*, est le principal parasitoïde des œufs de la MEM décrite jusqu'ici. Ce genre regroupe des espèces parasitoïdes généralistes et très cosmopolites qui parasitent essentiellement des Lépidoptères. Au Sénégal, Bhatnagar (1986) et Gahukar *et al.* (1986) rapportent un taux de parasitisme des œufs par des parasitoïdes du genre *Trichogrammatoïdea*, variant entre 9 et 75% de 1982 à 1984, tandis que Ndoye (1992), fait mention d'un taux moyen de parasitisme des œufs de 35% entre 1976 et 1985. Bal situe ce taux de parasitisme à 60% en 1988 à Bambey (Bal, 1993). Sarr (1996) estime que les auteurs précédemment cités ont surestimé ce taux de parasitisme. Il leur reproche d'avoir calculé la moyenne des taux de parasitisme au lieu d'un taux global qui tient compte des densités de l'hôte et de la durée d'incubation des œufs parasités. Les œufs parasités ont une durée d'incubation plus longue (4,05 jours) que ceux qui sont sains (2,44 jours). Ainsi, la probabilité

d'échantillonner un œuf parasité est plus élevée que celle d'un œuf sain. Avant correction, Sarr trouve un taux de parasitisme qui augmente régulièrement au cours du temps et passe de 30% à 81%. Après correction, il se retrouve avec un parasitisme estimé entre 21 et 72%, soit un résultat identique à celui trouvé par Thiam et Van der Valk (1996) dans une étude sur l'élaboration de la table de survie de la MEM. Plus récemment, Thiaw *et al.* (2017), ont obtenu un taux moyen de parasitisme des œufs par *Trichogrammatoïdea sp.* estimé à 2 % à Bambey. Au Niger, une espèce du genre *Telonomus sp.*, a été décrite comme parasitoïde des œufs de la MEM (Nwanze et Harris, 1992).

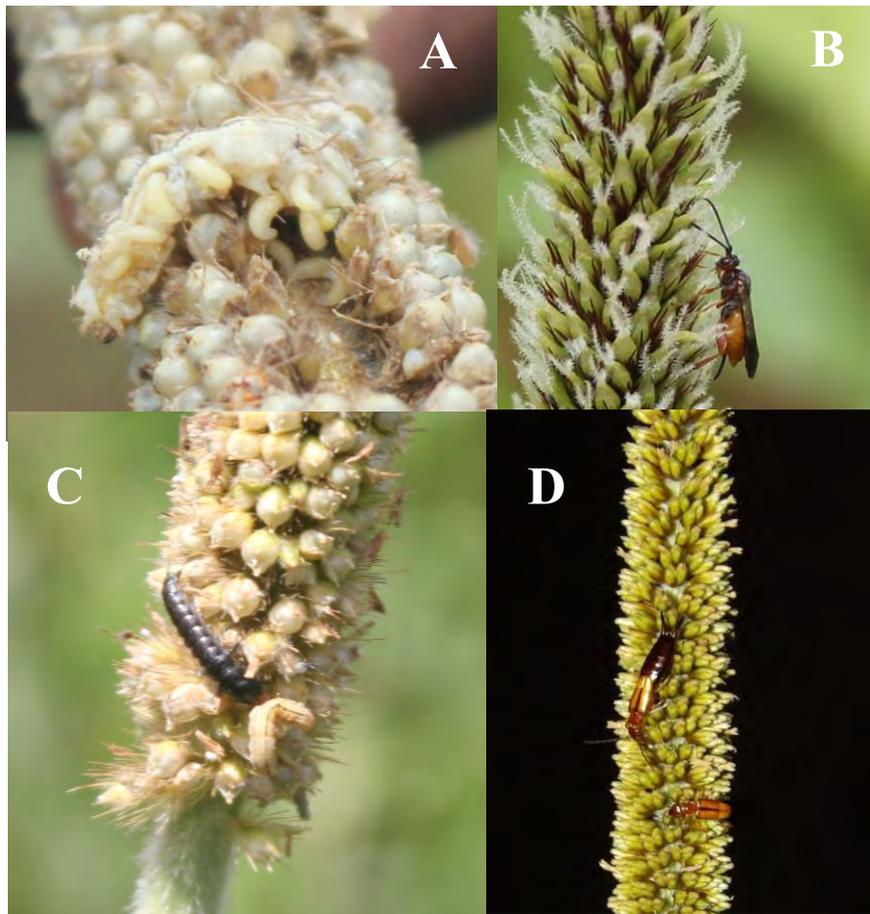
*Copidosoma sp.*, est un endoparasitoïde idiobiote grégaire qui attaque les œufs et se développe en polyembryonies au niveau des larves qu'il tue et momifie au moment de leur nymphose. Il est très actif pendant la phase d'épiaison–floraison (Gahukar *et al.*, 1986 ; Sarr, 1997). Youm et Gilstrap (1993) évaluent le taux de parasitisme de *Copidosoma sp* entre 0 et 3%. D'après Sarr (1996), il aurait une incidence de 6,6% de la mortalité des larves de derniers stades.

*Cardiochiles sahelensis*, un endoparasitoïde des jeunes larves est responsable de 17% de mortalité des larves de la MEM à Nioro du Rip lors de la campagne agricole de 1985 (Bhatnagar, 1986). D'après Bhatnagar (1986), ce dernier survit et se multiplie sur les larves de Noctuelle du genre *Heliothis* (Noctuidae) en association avec *Acanthospermum hispidum* (Asterales : Asteraceae), niébé et maïs avant de se transférer sur les larves de premiers stades de de la MEM sur le petit mil à Nioro.

D'après la littérature, le parasitisme des larves est dominé par *Bracon hebetor* (Say). Cet Hyménoptère de la famille des Braconidae, est un ectoparasitoïde cosmopolite, grégaire et non diapausant des larves âgées de la MEM. Il paralyse ces hôtes par injection de venin à travers la cuticule avec l'ovipositeur (Heimpel *et al.*, 1997), et y dépose ses œufs. La femelle de *B. hebetor* peut également déposer ses œufs sur des hôtes probablement tués par d'autres

parasitoïdes de la même espèce (Dioulla, 2009). Les larves issues des œufs, vont se nourrir de la larve paralysée jusqu'à nymphose après tissage d'un cocon blanc dans la galerie de l'épi (Dioulla, 2009). Bhatnagar (1986) a trouvé un taux de parasitisme qui variait entre 4% et 16%. Youm et Gilstrap, (1993), estime ce taux à 6% lors des études qui ont été menées en 1986 et 1987 au Niger. Le taux de mortalité due à *B. hebetor* observé pendant les échantillonnages est le plus élevés parmi les parasitoïdes, mais toujours plus faibles que le taux de prédation (Sarr, 1997).

En 1996, les études de Sarr dans une parcelle de mil à l'ISRA de Nioro du Rip, révèlent une fraction de perte des œufs située entre 49 et 72%, avec un taux global de 51% résultant de la prédation. Une Coccinelle *Verania striata* (Coccinellidae) dont les larves consomment les œufs, et *Orius sp.* (Anthocoridae) qui est un autre prédateur volant, dominant la prédation des œufs. La prédation est dominée par celle des insectes volants, qui prévaut sur la prédation totale (61 à 80% contre 22 à 59%). Boukary *et al.* (1996), signale *F. senegalensis* (Forficulidae), comme potentiel prédateur des œufs et des jeunes larves de MEM, c'est une espèce omnivore. Parmi les prédateurs cités dans le tableau 1, la guêpe *Ammophila sp.* (Sphecidae), qui remplit son nid de larves de la MEM était la plus importante (Tableau 1).



**Figure 4 :** Des images de quelques ennemis naturels de la MEM prises sur le terrain, avec une larve de la MEM parasitée par *Habrobracon hebetor* (A) ; une femelle de *Schoelandella* (*Cardiochiles*) *sahelensis* à la recherche d'hôte (B) ; une larve de carabe qui consomme une larve de mineuse (C) ; des Forficules (*Forficula senegalensis*) à la recherche d'œufs de la MEM (D).

## **I.4.5. Les méthodes de lutte**

### **I.4.5.1. Contrôle cultural**

Le contrôle du ravageur à travers des méthodes culturales repose sur un même principe, à savoir rendre défavorable l'environnement et l'habitat des ravageurs. Elle constitue de loin la méthode la plus accessible et la plus économique pour les petits paysans. Une bonne utilisation de ces méthodes implique une bonne connaissance de la bio-écologie des insectes ciblés. *Le labour profond* de fin de saison est utilisé efficacement pour lutter contre la mineuse de l'épi, dont la larve de dernier stade entre en diapause dans le sol. Un labour profond de 30 cm effectué à la fin de la saison pluvieuse détruit presque la totalité des chrysalides diapausantes car elles sont exposées à la dessiccation, aux prédateurs (oiseaux notamment) et parfois à l'écrasement des mottes (Gahukar *et al.*, 1986). Nwanze et Youm (1995), rapportent d'après les travaux de terrain effectués au Niger, une réduction de plus de 50% de la survie des larves diapausantes, et une forte mortalité des chrysalides dans des profondeurs de 10 cm. L'efficacité de cette méthode est cependant limitée par l'érosion éolienne et l'évaporation qui en découlent pendant la saison sèche (Youm, 2000). Il a été remarqué que le *semis des variétés précoces* avec deux semaines de retard évite la coïncidence du pic de vol des papillons avec l'épiaison du mil (Gahukar *et al.*, 1986). Cependant, la pluviosité étant instable et imprévisible, les paysans ne prennent en aucun cas le risque de ne pas semer tôt, car les semis tardifs se traduisent souvent par des pertes de rendements, même sans attaque de ravageurs. *L'engrais azoté* influence significativement la hauteur et le bon développement des plantes et les bons épis qui en résultent sont relativement moins attaqués par la mineuse. Au Soudan, l'application de superphosphate triple à 20 kg/ha a amélioré la croissance des plantes et réduit les attaques de MEM de 27 à 36% (Gahukar, 1989). Ainsi, la réduction des attaques de MEM ne peut pas être directement attribuée à la fertilisation du sol et varie selon le type de variété, car l'apparition des épis avant l'apparition du ravageur est cruciale pour éviter les infestations. Au Sénégal, l'application dans le sol

d'urée à 50–200 g/ha ou d'engrais NPK (10:20:20) à 50–300 g/ha a réduit de manière significative les infestations sur les variétés cv. *Souna* et *IBV-8001*, mais l'application de superphosphate à raison de 50 à 200 kg/ha n'a pas eu d'effets (Gahukar, 1992). Cependant, leurs applications restent limitées par le coût des engrais souvent inaccessible aux petits paysans.

#### **I.4.5.2. Résistance variétale**

Trois variétés de mil résistantes à la MEM ont été rapportées au Mali, au Burkina Faso, au Sénégal et au Niger, il s'agit de <sup>3/4</sup> *HK*, *Souna* et *ICMS-7819* (Gahukar *et al.*, 1986b). Au Sénégal, il a été montré que la variété locale (*Souna*) était plus résistante que la variété améliorée (Gahukar, 1990). Récemment, Goudiaby *et al.* (2018) ont identifié une résistance à la MEM chez la variété *ISM-19705* et une tolérance chez la variété *Thiameck-2*. En utilisant la technique d'infestation par les œufs mise au point par (Youm, 2001), des chercheurs de l'ICRISAT ont découvert une résistance constante chez les génotypes *Moro*, *Souna3*, *PE08043*, *PE00025*, *PE00077* et *IBMV8402* après trois ans de sélection variétale (Ba, 2017). La résistance à la MEM a été attribuée à divers caractères, la non préférence de la femelle pour la ponte, l'antibiose et l'antixénose vis-à-vis du ravageur (Ba, 2017). Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier les bases génétiques de la résistance des variétés à la MEM.

#### **I.4.5.3. Lutte chimique**

La lutte chimique repose sur l'utilisation d'insecticides appliqués à la floraison du mil et qui se trouvent être très efficaces contre la mineuse de l'épi (Gahukar, 1984; Vercambre, 1978). Cependant leur application n'est pas toujours efficace de par les problèmes liés à leurs utilisations et se trouve limitées par la biologie du ravageur (Bal, 1992). Au Soudan, les *pyréthroïdes* (y compris la *cyperméthrine*) ont réduit de manière significative l'incidence de la

MEM, mais n'ont pas augmenté significativement le rendement en grains (Hughes et Rhind, 1998). Au Sénégal et au Niger, l'utilisation de pesticides de synthèses (*endosulfan*, *trichlorofon*, *acéphate*, *chlordiméforme*, *dipterex*, *chlorpyrifos*) et de régulateurs de croissance des insectes (*diflubenzuron*, *lufénuron*), ont eu une efficacité limitée car les larves se cachent dans les épis, évitant ainsi tout contact avec l'insecticide (Gahukar *et al.*, 1986). L'avantage économique des pesticides pour les petits exploitants reste à démontrer. Les pesticides les plus efficaces sont toxiques pour les ennemis naturels, dont *H. hebetor* (Dastjerdi *et al.*, 2009). Par ailleurs, d'autres pesticides écologiques ou moins toxiques tels que les produits végétaux ou les biopesticides devraient être testés. L'utilisation du *neem* (*Azadirachta indica*, Meliaceae) comme biopesticides n'a pas été suffisamment explorée, bien qu'il soit abondant dans les villages du Sahel. Au Mali, Passerini (1992) a constaté que des extraits aqueux de noyaux de graines de *neem* à 0,5 et 1% a été efficaces contre la MEM sur des plants de mil en cage, avec une rémanence pouvant aller jusqu'à 7 jours. Cette efficacité a été également confirmée sur le terrain (Passerini, 1992). Cependant, l'efficacité du *neem* varie d'une année sur l'autre, ce qui peut entraîner une inconstance de son efficacité dans le temps (Bottenberg et Singh, 1996).

#### **I.4.5.4. Lutte biologique**

##### ***Lutte biologique inondative par lâcher de Habrobracon hebetor* (Say)**

Parmi les méthodes de lutte contre les insectes ravageurs de culture, la lutte biologique par des lâchers inoculatifs de *Habrobracon hebetor* (Say) indigène constitue une perspective prometteuse (Payne *et al.*, 2011). Les résultats d'études conduites au Sénégal de 1982 à 1985 montrent que le Braconidae *H. hebetor* est efficace contre la MEM (Bhatnagar, 1986). Dans cette étude, le taux de parasitisme des larves a atteint 64%. Plus récemment, des initiatives comme le CCRP (Collaborative Crop Research Program) en association avec l'ICRISAT

(International Crop Research Institute for the Semi-Arid Tropics), ont financé des programmes de lutte contre la MEM dans trois pays Africains : Niger, Mali et Burkina Faso (Ba *et al.*, 2013; Baoua *et al.*, 2018, 2014; Payne *et al.*, 2011). Ces programmes de luttent reposent essentiellement sur des lâchers inoculatifs de *H. hebetor*. D'après les rapports d'activité de 2006 à 2008, les lâchers de *H. hebetor* ont fortement contribué à l'amélioration de la production du mil des parcelles concernées. Des taux de mortalité de plus de 80% des larves de la MEM ont été observés, ce qui a permis une réduction de la longueur des mines sur les épis (Ba *et al.*, 2013). D'après leurs estimations, un dispositif de lâcher de 15 sacs de jute contenant des adultes de *H. hebetor* peut couvrir jusqu'à un rayon de 5 km. L'élevage en masse est fait à partir d'un dispositif comprenant un sac de jute 15cm x 25cm contenant 500g de mil, 50 larves de *Corcyre cephalonica* et cinq (5) femelles de *H. hebetor*, pouvant libérer jusqu'à plus de 2000 adultes, et pouvant couvrir jusqu'à 5km de rayon au tour du point de lâcher. Cependant, le parasitisme dû à ce Braconidae a été enregistré principalement en fin saison (Bhatnagar 1986; Gahukar *et al.*, 1986; Bal 1992; Bhatnagar, 1993). Par conséquent, *H. hebetor* est efficace pour tuer les larves de derniers stades, mais ne permet pas d'éviter les dégâts causés par ces derniers (Baoua *et al.*, 2009). Au Burkina Faso, les lâchers de parasitoïdes sur deux années de suite n'augmentaient pas nécessairement le niveau de parasitisme au cours de la deuxième année, mais réduisaient légèrement le nombre et la longueur des galeries causées par la MEM (Kabore *et al.*, 2017). Le parasitisme a diminué sur les années suivantes si aucun lâcher de parasitoïde supplémentaire n'a été effectué (Kabore *et al.*, 2017). Ces parasitoïdes ne peuvent pas se maintenir dans l'environnement, surtout pendant la saison sèche quand les ressources se font de plus en plus rares, et en l'absence hôtes alternatifs, ce qui nécessite des lâchers inoculatifs chaque année. L'identification de nouveaux parasitoïdes pouvant intervenir plus précocement pour compléter la lutte biologique, comme *Trichogrammatoidea sp.*, *T. eldanae* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) et *Telenomus isis* (Hymenoptera, Scelionidae) est prometteuse (Bal, 1993). Les

Trichogrammatoïdea sont retenus pour les lâchers inondatifs, ceci en raison de la facilité de son élevage sur les œufs de *Corcyra cephalonica*. Un dispositif pour une production en masse de ces espèces est actuellement développé à l'IITA (Baoua *et al.*, 2009; Karimoune *et al.*, 2018). Bal (1993) obtient un taux moyen de parasitisme de 60,8% des œufs de *H. albipunctella* par *Trichogrammatoidea sp.*, à partir d'échantillon d'œufs prélevés à Bambey, un taux qu'il juge relativement élevé comparé à ceux trouvés par Bhatnagar (1986), Gahukar *et al.* (1986) et Ndoye (1992). Selon l'auteur, une vingtaine d'adultes de *T. eldanae* peut être élevée sur 60 œufs de *C. cephalonica*. La même espèce est utilisée pour l'élevage de *H. hebetor* (Baoua *et al.*, 2008). Il s'est avéré également que les larves d'*Ephestia kuehniella* peuvent permettre à ce Braconidae de se reproduire durant la saison sèche (Bhatnagar, 1986 ; Diémé, 1986). Par conséquent, l'utilisation de ce parasitoïde avec *H. hebetor* peut probablement réduire considérablement les populations de la MEM. Nwanze et Youm ont observé des adultes de *H. hebetor*, en agrégation dans les feuillages de l'arbre *Faidherbia albida* (Nwanze et Youm, 1995). Cette découverte faite par Nwanze et Youm attire toute notre attention sur l'importance que peut revêtir les parcs à *Faidherbia albida* pour optimiser les capacités du contrôle biologique assuré par ce parasitoïde, et potentiellement sur les autres espèces parasitoïdes clés. Les systèmes agroforestiers par de leurs structures complexes peuvent contribuer à augmenter l'efficacité de la lutte biologique en offrant aux populations d'ennemis naturels des ressources (nourritures, abris, hôtes alternatives, etc.). Il est important donc de mettre en œuvre un ensemble varié de lutte intégrée pour concevoir un développement durable des agrosystèmes.

## **Chapitre II :**

Caractérisation morpho-moléculaire de la  
biodiversité des ennemis naturels de la mineuse de  
l'épi de mil.

**Article 1.**

**DNA sequencing to help identify crop pests and their natural enemies in agro-ecosystems: the case of the millet head miner *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera: Noctuidae) in sub-Saharan Africa**

**Ahmadou Sow**, Thierry Brévault, Gérard Delvare, Julien Haran, Laure Benoit, Armelle Cœur d'Acier, Maxime Galan, Cheikh Thiaw, Valérie Soti, Mbacké Sembène

*Publié dans Biological Control* (Mars 2018)

— 0 —

**Communication Internationale:**

**Sow, A.**, Brévault, T., Delvare, G., Haran, J., Mbacké, S. (2017). Régulation naturelle des populations de la mineuse de la chandelle de mil, *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera, Noctuidae), dans le bassin arachidier au Sénégal. *AFPP CIRAA* 1–9.

## II.1. Introduction

La gestion durable de la biodiversité est l'un des défis majeurs auxquels l'agriculture devra faire face à l'avenir (FAO, 2016). Dans le contexte de la croissance démographique et du changement climatique en cours, une productivité agricole accrue sera nécessaire pour assurer la sécurité alimentaire à long terme, en particulier dans les zones moins développées, tout en préservant les ressources naturelles et les services écosystémiques (FAO, 2016; Tilman *et al.*, 2002; Wezel *et al.*, 2014). La gestion des ravageurs devra nécessairement évoluer vers l'intégration de pratiques plus durables basées sur le cadre général de l'agro-écologie, définie comme l'application de concepts et de principes écologiques à la conception de systèmes agricoles durables (Altieri, 1989; Gliessman, 1992).

En Afrique subsaharienne, le mil [*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br., 1810] est l'une des principales céréales cultivées, avec une production annuelle de plus de 10 millions de tonnes (FAO, 2016), et constitue l'alimentation de base de plus de 60 millions de personnes. Cependant, le principal ravageur de cette culture, la mineur de l'épi de mil, *Heliocheilus albipunctella* (de Joannis) (Lepidoptera: Noctuidae), est un obstacle permanent à une meilleure productivité du mil (Gahukar, 1984; Ndoye, 1992; Vercambre, 1978). Plusieurs auteurs ont signalé le fort potentiel des ennemis naturels, en particulier des prédateurs et des parasitoïdes, pour réguler les populations de MEM en Afrique (Bhatnagar, 1987; Gahukar, 1984; Nwanze et Sivakumar, 1990). Des études approfondies sur les ennemis naturels associés à *H. albipunctella* ont été réalisées par Gahukar (1984) et Bhatnagar (1987) en Afrique subsaharienne. À la suite de ces études, un ectoparasitoïde larvaire grégaire, *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae), a été retenu comme un excellent candidat pour des lâchers augmentatives dans le cadre de programmes de lutte biologique contre la MEM (Ba *et al.*, 2013; Baoua *et al.*, 2014; Bhatnagar, 1987; Payne *et al.*, 2011). Les taux de parasitisme sur les larves de la MEM peuvent atteindre 95%, mais cela n'empêche pas toujours les pertes de rendement, car les

femelles de *H. hebetor* tuaient uniquement les larves de dernières stade, lorsque des dommages ont déjà été causés sur les épis (Bhatnagar, 1987; Gahukar, 1984; Nwanze et Harris, 1992). En plus, ce parasitoïde ne persiste pas dans les agroécosystèmes à base de mil pendant la saison sèche et en l'absence hôtes alternatifs, ce qui nécessite des lâchers inoculatifs chaque année (Kabore *et al.*, 2017). Cependant une augmentation des lâchers de ce parasitoïdes peut réduire de manière significatif les pertes de rendements (Baoua *et al.*, 2014), mais ils restent coûteux et difficiles à appliquer sur les grandes surfaces où le mil est cultivé. Afin de promouvoir le contrôle biologique de la MEM dans les agro-écosystèmes à base de mil, il est essentiel d'améliorer nos connaissances sur la richesse spécifique et la diversité fonctionnelle des communautés ennemies naturelles (Letourneau *et al.*, 2009; Snyder et Tylianakis, 2012).

De nouvelles techniques moléculaires, telles que le barcoding, offrent de multiples perspectives pour identifier avec certitude les espèces présentant un intérêt pour la communauté scientifique, avec de plus en plus de séquences de références disponibles dans les bases de données internationales (Hebert *et al.*, 2003; Valentini *et al.*, 2009). En plus, le développement récent des technologies de séquençage à haut débit a ouvert la voie à l'utilisation d'approches moléculaires pour identifier un grand nombre d'individus en très peu de temps et à un coût raisonnable (Galan *et al.*, 2012). Ces méthodes sont de plus en plus adoptées pour explorer la diversité fonctionnelle des réseaux trophiques et des agroécosystèmes (Hebert *et al.*, 2003; Hajibabaei *et al.*, 2007; Valentini *et al.*, 2009; Smith *et al.*, 2011; Andersen *et al.*, 2012). Ils permettent également de mieux comprendre les processus écologiques impliqués dans les réseaux trophiques, tels que le parasitisme (Garipey *et al.*, 2008; Greenstone, 2006; Shariff *et al.*, 2014; Traugott *et al.*, 2008) ou la prédation (Garipey *et al.*, 2007; Gillet *et al.*, 2015; Mollot *et al.*, 2014; Piñol *et al.*, 2014; Szendrei *et al.*, 2014). Leur application complète repose sur des échantillons de référence identifiés par des

spécialistes, pour lesquels des données sont disponibles dans des bases de données moléculaires. Cependant, les séquences toutes seules sont également utiles pour distinguer les spécimens et caractériser la diversité spécifique au sein des communautés, en particulier lorsque l'identification n'est pas possible ou n'est pas disponible.

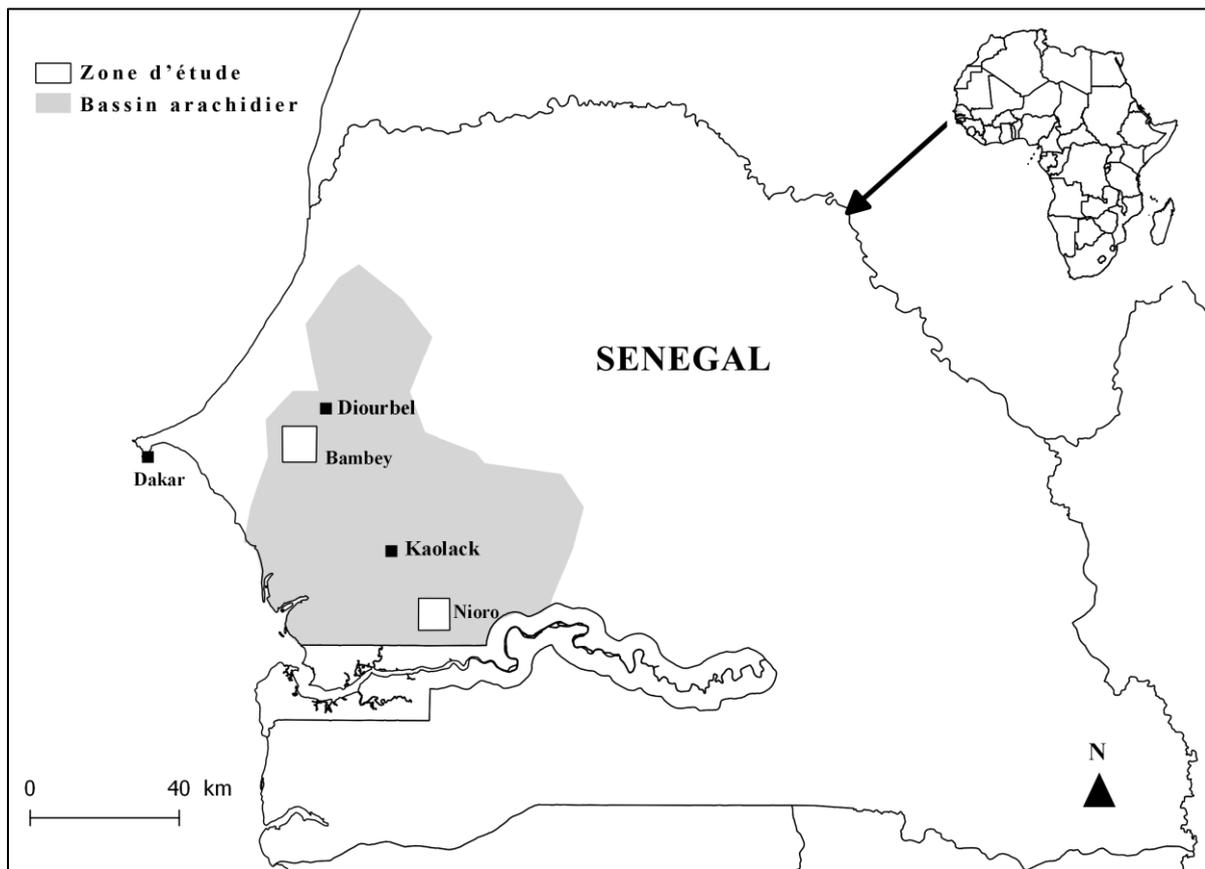
Dans ce chapitre nous allons effectuer une mise en jour du réseau trophique associé à la MEM et de développer une base de données de référence barcode et mini-barcode comme outil de diagnostic pour les arthropodes associés aux agroécosystèmes à base de mil au Sénégal.

## II.2. Matériel et Méthodes

### II.2.1. Zones d'étude

Cette étude a été conduite dans les zones de Bambey (14°43'0.79"N ; 16°30'5.56"O) et Nioro du Rip (13°45'20.39"N ; 15°47'12.29"O), situées toutes deux dans le bassin arachidier au Sénégal (Fig. 5). La zone de Bambey est sous l'influence d'un climat sahélo-soudanien avec une courte saison pluvieuse (400–500 mm) de juillet à octobre. Le paysage est de type savane avec des arbres (principalement *Faidherbia albida*, *Balanites aegyptiaca*, et *Adansonia digitata*) formant des parcs agroforestiers. Nioro du Rip est sous l'influence d'un climat soudano-sahélien avec plus de pluie (700 à 800 mm). Le paysage est une savane avec moins d'arbres (principalement *Cordyla pinnata*, *Anogeissus leiocarpus*, *Piliostigma reticulatum*), mais avec des zones semi-naturelles comprenant des parcours pour l'élevage et des forêts claires. Dans les deux zones, les cultures comprennent principalement le mil, l'arachide et le niébé.

Au total, 105 parcelles de mil ont été suivies au cours de l'année 2014 (Bambey [45]), 2015 (Bambey [20] et Nioro [8]) et 2016 (Bambey [16] et Nioro [16]), en saison de pluie. Les parcelles ont été sélectionnées en fonction de la distance au village (cage vs brousse) et de l'abondance de végétation semi-naturelle (haute vs basse) dans leur paysage environnant (rayon de 1 km), pour augmenter la probabilité de couvrir la diversité totale des arthropodes. Les parcelles de mil étaient distantes d'au moins 2 km et leurs surfaces variaient de 0,6 à 2 ha. Les observations ont été effectuées à trois stades phénologiques correspondant au développement successif des stades immatures de MEM: émergence des épis pour la ponte des œufs, stade remplissage des grains pour les larves L1 et L2 et stade maturation du mil pour les larves du L3 et L4.



**Figure 5 :** Localisation des deux zones d'études (Bambey et Nioro) dans le bassin arachidier du Sénégal (Afrique de l'Ouest).

### II.2.2. Echantillonnage d'insectes

L'incidence de la mineuse de l'épi de mil et des ravageurs secondaires de l'épi (*Helicoverpa armigera* et *Masalia nubila*) a été évalué en examinant soigneusement 50 épis choisis au hasard dans chacune des parcelles de mil. Les épis ont été sélectionnés suivant 5 rangées de poquets distantes d'au moins 5 m et parcourant toute la longueur du champ. Sur chaque ligne un épi est tiré au hasard puis examiné. L'échantillonnage commence toujours un peu à l'intérieur du champ pour éviter les effets de bordure.

Des œufs (50–100 par champ) de la MEM ont été collectés sur le terrain, puis triés et incubés à température ambiante dans de petites boîtes à pilules (10–25 œufs par boîte) jusqu'à l'éclosion ou l'émergence des parasitoïdes. Des larves (150–200 par champ) ont été prélevées

au hasard sur les épis puis incubées individuellement à température ambiante dans des plaques de culture à 12 puits (Fisher Scientific, France), avec un milieu d'élevage artificiel (Southland Products, USA) jusqu'à la nymphose ou l'émergence de parasitoïdes ou hyperparasitoïdes. Les taux de parasitisme ont été calculés pour chaque parcelle en divisant le nombre d'œufs ou de larves parasités par la différence entre le nombre total d'œufs ou de larves récoltés et le nombre d'œufs non éclos ou de larves mortes.

Pour les espèces ectoparasitoïdes (ex. *H. brevicornis* / *hebetor*), des observations directes et des prélèvements de larves parasitées (reconnaissables par la présence de cocons ou larves de parasitoïdes et / ou à l'aspect flétri de la larve hôte) ont été réalisés également sur 50 épis par parcelle. Le parasitisme par les ectoparasitoïdes a été calculé pour chaque parcelle en divisant le nombre de larves parasitées par le nombre total de larves.

Des arthropodes supplémentaires observés sur les plantes de mil, en particulier sur l'épi, ont été directement collectés à l'aide d'un aspirateur entomologique à bouche ou d'une pince pour les arthropodes «rampants» et les filets fauchoirs pour les arthropodes «volants». Tous les échantillons ont été conservés dans des flacons remplis d'éthanol à 90% et placés au congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Les arthropodes ont été identifiés par des spécialistes du Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (CBGP, Montpellier, France). Tous les hyménoptères (parasitoïdes ou prédateurs potentiels) ont été identifiés par Gérard Delvare à l'aide de clés taxonomiques (Delvare et Aberlenc, 1989; Huddleston et Walker, 1988; Morley et Rait-Smith, 2009; Wharton et al., 1997) ou à partir des collections de référence du British Museum et du CBGP de Montpellier. Après identification, les arthropodes ont été ensuite classés en groupes fonctionnels comprenant des herbivores, des prédateurs, des parasitoïdes et des hyperparasitoïdes. Dans cette présente étude, le statut de «prédateur potentiel» a été attribué sur la base d'observations sur le terrain (par exemple, des carabidés) ou de données publiées.

L'incidence d'un prédateur correspond à la proportion d'épi avec au moins un individu de l'espèce en question observé sur l'ensemble des 50 épis suivis par parcelle.

### **II.2.3. Analyse moléculaire**

#### **II.2.3.1. Extraction d'ADN**

Au total, 583 extractions ADN ont été effectuées. La plupart ont été réalisées à l'aide du kit EZ-10 96-well plate DNA for Animal Samples (Biobasic Inc., Canada). Les spécimens de petite taille, tels que des micro-hyménoptères, ont été extraits individuellement à l'aide du kit EZ-10 Spin Column Animal DNA Mini-Preps (Biobasic Inc., Canada) pour augmenter le rendement en ADN génomique. Toutes les extractions ont été effectuées suivant le protocole du fabricant. Une lyse non destructive par incubation individuelle pendant une nuit dans un mélange de 300 µl de solution de lyse cellulaire animale et 20 µl de protéinase K à 55°C sous agitation, a été effectuée. Après la lyse, les échantillons ont été récupérés puis reconditionnés dans de l'éthanol sous forme de spécimens de référence «vouchers».

#### **II.2.3.2. Séquençage Sanger**

Au total, 234 spécimens (espèces et morpho-espèces) ont été sélectionnés pour représenter au mieux la diversité taxonomique de notre échantillonnage d'arthropodes. Les spécimens identifiés à l'espèce ont été choisis pour constituer une base de données de référence primaire sur les arthropodes associés aux agro-écosystèmes à base de mil. Afin d'obtenir une estimation de la divergence intra-spécifique, au moins 2 spécimens ont été sélectionnés par espèce. Un fragment de 658 pb de *cytochrome c oxydase I* (COI) a été amplifié en utilisant le cocktail d'amorce universel 'designé' par Cruaud *et al.* (2010) et Germain *et al.* (2013), à partir des amorces classiques 'designé' par Folmer *et al.* (1994) (voir supp.mat de l'article 1). Ce fragment est le fragment de référence utilisé dans les projets de barcode à ADN dans 'the

Barcode of Life Data System' (BOLD) (Hebert *et al.*, 2003). Les réactions PCR ont été réalisées dans un volume final de 10  $\mu$ L de mélange PCR contenant 5  $\mu$ l de Multiplex Master Mix (Qiagen, Hilden, Allemagne), 0,8  $\mu$ l d'amorces (Forward et Reverse à 2  $\mu$ M) et 2  $\mu$ l d'ADN. Les conditions de PCR étaient les suivantes: dénaturation initiale de l'ADN à 94°C pendant 15 minutes, suivie de 10 cycles de 30 secondes chacun à 94°C, 1 minute à 60–50°C (touchdown de –1°C par cycle) et 30 secondes à 70°C, suivies de 30 cycles de 30 secondes à 94°C, 1 minute à 55°C et 1 minute à 72°C avec une extension finale de 20 minutes à 72°C. Les produits de PCR ont été séquencés par Eurofins Genomics.

### II.2.3.3. Séquençage Illumina MiSeq

Un fragment de 133 pb du *cytochrome c oxydase I* (COI mini-code à barres) (Gillet *et al.*, 2015) a été amplifié sur les mêmes échantillons (n = 234) pour développer un outil de diagnostic rapide par technologie de séquençage à haut débit (HTS). L'avantage d'utiliser un court fragment est qu'il est possible d'amplifier de l'ADN dégradé ou de l'ADN présent en faibles quantités dans des échantillons. Cette longueur de fragment est également compatible avec les séquenceurs à haut débit de 2<sup>ème</sup> génération, par exemple les plates-formes Illumina, qui ne peuvent pas séquencer des fragments de longueurs supérieurs à 500 pb. Nous avons d'abord vérifié *in silico* que le mini-barcode de 133 pb était aussi discriminant que le fragment de 658 pb, en comparant la pertinence des alignements de nos séquences d'intérêt sur le barcode complet et sur le mini-barcode. Le mini-barcode de ces mêmes échantillons a été ensuite séquencé pour valider la méthode de séquençage à haut débit. Afin de valider les résultats du séquençage, un séquençage *de novo* spécimens sur un échantillon de 349 individus prélevés sur le terrain identifiés sur la base des caractères morphologiques, a été réalisé. Le mini-barcode COI a été amplifié pour tous ces spécimens. Une séquence de *Calliptamus italicus* L. (Orthoptera, Acrididae) indépendante de notre échantillon a été

utilisée comme contrôle positif et de multiples contrôles négatifs ( $n = 24$ ) ont été inclus conformément aux recommandations de Galan *et al.* (2016). Une bibliothèque d'amplicon a été constituée avec l'ensemble des échantillons suivant le protocole proposé par Galan *et al.* (2018). L'amplification initiale du court fragment *COI* (133 pb) a été réalisée en utilisant des amorces universelles modifiées à leurs extrémités 5' par des adaptateurs 'overhang Illumina'. Les réactions de PCR ont été réalisées dans un volume final de 10  $\mu$ l contenant 5  $\mu$ l de Multiplex Master Mix (Qiagen, Hilden, Allemagne), 0,5  $\mu$ M de chaque amorce et 2  $\mu$ l d'ADN. Les conditions de PCR de cette première étape consistaient en une dénaturation initiale à 95 ° C pendant 15 minutes suivies de 40 cycles de dénaturation à 94 ° C pendant 30 secondes, une hybridation à 45 ° C pendant 45 secondes et une extension à 72 ° C pendant 30 secondes, et une dernière étape d'extension à 72 ° C pendant 10 minutes. La deuxième étape de PCR, permet d'accrocher des couples indexes (i5 et i7) constituées de courts fragments de 8pb et des adaptateurs sur les extrémités 5' de chaque fragment d'ADN amplifié, ce qui permettra d'identifier les séquences une fois que les produits PCR sont mélangé ensemble (Galan *et al.*, 2018). Cette deuxième PCR a été réalisée dans un volume final de 10  $\mu$ l contenant 5  $\mu$ l de kit Multiplex (Qiagen, Allemagne), 0,7  $\mu$ M de chaque amorce et 2  $\mu$ l de produits de la première PCR pour chaque échantillon. Cette deuxième PCR a été réalisée dans un volume total de 10  $\mu$ L contenant 5  $\mu$ l de kit Multiplex (Qiagen, Allemagne), 0,7  $\mu$ M de chaque amorce et 2  $\mu$ L de produits de la première PCR pour chaque échantillon. Les conditions de la PCR consistaient en une étape de dénaturation initiale à 95 ° C pendant 15 minutes suivies de 8 cycles de dénaturation à 95 ° C pendant 40 s, une hybridation à 55 ° C pendant 45 s et une extension à 72 ° C pendant 60 s, et une finale étape d'extension à 72 ° C pendant 10 min.

Le mélange volume à volume de tous les produits de PCR (4  $\mu$ L par échantillon) a été examiné sur la base de la longueur des fragments résultant de l'excision sur un gel d'agarose à

1,5%. Le pool de produits de PCR spécifiques a été coupé à la taille attendue (328 pb correspondant à la taille de l'amplicon, y compris les amorces spécifiques au gène, les amorces de séquençage, les index et les adaptateurs) sous lumière ultraviolette. La librairie ainsi obtenue a été purifiée avec le kit de purification PCR (Macherey–Nagel, Allemagne), quantifiée par PCR quantitative (kit KAPA, Kapa Biosciences), puis séquencée sur un séquenceur MiSeq avec un kit 500v2 (Illumina, USA). (Illumina, *Institut des Sciences de l'Evolution*, Montpellier, France).

#### II.2.3.4. Analyse des données

Les séquences Sanger ont été éditées et alignées avec le logiciel CodonCode Aligner v.10.5.8 (CodonCode Corporation, Dedham, Massachusetts, USA). Les séquences issues du MiSeq ont été contiguës, nettoyées et alignées avec le programme Mothur v.1.32.1 (Schloss *et al.*, 2009). La séquence majoritaire (la plus abondante) de chaque échantillon a été comparée par BLAST avec notre librairie de référence Sanger. Les séquences absentes de notre librairie de référence ont été comparées par BLAST avec des séquences dans des bases de données publiques BOLD Systems v.3, et GenBank. L'identification a été considérée comme «valide» à partir d'un seuil de similarité compris entre 99 et 100%; en dessous de ce seuil, les spécimens ont été considérés comme non identifiés. Nous avons calculé les distances inter-spécifiques minimales et les distances intra-spécifiques maximales en utilisant le package 'spider' v.1.1–2 (Brown *et al.*, 2012) sur le logiciel R v. 3.2.3 (R. Core Team, 2015). Le logiciel MEGA v.6.0 (Tamura *et al.*, 2013) a été utilisé pour effectuer des alignements de séquences en utilisant l'option Muscle, et les distances génétiques entre les paires de séquences de nucléotides ont été calculées en utilisant le model Kimura–2–parameter (K2P). Un arbre phylogénique Neighbor–joining (NJ) des alignements obtenus a été construit avec un bootstrap de 1000 répliqués.

## II.3. Résultats

### II.3.1. Librairie de référence barcode et réseau trophique

Sur les 234 spécimens d'arthropodes sélectionnés, 66 ont été identifiés au niveau de l'espèce et intégré dans une première base de données de référence à barcode comprenant 16 espèces (Tableau 2).

**Tableau 2:** Base de donnée des arthropodes collectés dans les champs de mil dans le bassin arachidier au Sénégal et identifiés à l'espèce (campagne agricole 2014–2016).

Ordre/Famille	Espèces	Statut fonctionnel	Numéro d'accèsion GenBank
<b>Lepidoptera (a)</b>			
Noctuidae	<i>Helicoverpa armigera</i> (Hübner, [1808])	Herbivore	MF673564 – MF673569
	<i>Heliocheilus albipunctella</i> (De Joannis, 1825)	Herbivore	MF673570 – MF673579
	<i>Masalia nubila</i> (Hampson, 1903)	Herbivore	MF673580 – MF673587
<b>Hymenoptera (b)</b>			
Braconidae	<i>Habrobracon brevicornis</i> (Wesmael, 1838)	Para. larvaire	MF673597 – MF673598
	<i>Schoelandella sahelensis</i> (Huddleston & Walker, 1988)	Para. larvaire	MF673609 – MF673612
Encyrtidae	<i>Copidosoma primulum</i> (Mercet, 1921)	Para. ovo–larvaire	MF673616 – MF673617
Ichneumonidae	<i>Pristomerus pallidus</i> (Kriechbaumer, 1884)	Para. larvaire	MF673618 – MF673621
Trichogrammatidae	<i>Trichogrammatoidea armigera</i> (Manjunath, 1972)	Para. Ooephage	MF673622 – MF673627
<b>Coleoptera (c)</b>			
Carabidae	<i>Bradybenus scalaris</i> (Olivier, 1808)	Predateur	MF673647
	<i>Platymetopus vestitus</i> (Dejean, 1829)	Predateur	MF673648
	<i>Stenocallida fasciata</i> (Dejean & Boisduval, 1829)	Predateur	MF673649 – MF673650
Coccinellidae	<i>Declivitata hamata</i> (Schoenherr, 1808)	Predateur	MF673655 – MF673664
Elateridae	<i>Cardiophorus cognatus</i> (Eschscholtz, 1829)	Predateur	MF673665
<b>Dermoptera (c)</b>			
Forficulidae	<i>Forficula senegalensis</i> (Audinet–Serville, 1838)	Omnivore	MF673666 – MF673672
<b>Hemiptera (d)</b>			
Anthocoridae	<i>Orius maxidentex</i> (Ghaari, 1972)	Predateur	In prep.
Pentatomidae	<i>Carbula curtana</i> (Dallas, 1851)	Herbivore	MF673693 – MF673701

Chaque Class d'arthropodes (excepté les Lépidoptères) ont été identifiés par des spécialistes de ces groupes taxonomique (a) Lepidoptera: Ours self; (b) Gérard Delvare (Cirad); (c) Henri–Pierre Aberlenc (Cirad); (d) Jean–Claude Streito (Cirad).

D'autres spécimens ont été identifiés au niveau du genre (14), famille (5) et l'ordre (2). Ils ont été classés en groupes fonctionnels (herbivores, prédateurs, parasitoïdes et hyperparasitoïdes) constitutifs du réseau trophique associé à la MEM (Tableau 3). Les Lépidoptères herbivores ont été représentés par trois espèces : *H. albipunctella*, *Masalia nubila* (Hampson), et *Helicoverpa armigera* (Hübner). Avec une abondance relative de 91% (à partir des prélèvements larvaires), la MEM était de loin l'espèce de herbivore la plus fréquente sur les épis de mil, avec en moyenne 76,2% (34–96%) et 75,3% (50–90%) d'épis infestées par au moins une larve, à Bambey et Nioro, respectivement (Tableau 3, Fig. 6). Les autres herbivores ont une faible incidence sur le mil, avec respectivement 3,2% (0–30%) et 4,4% (0–30%) d'épis infestées par au moins une larve de *H. armigera* ou de *M. nubila*.

Au total 13 espèces de parasitoïdes primaires ont été identifiées, dont 10 Hymenoptera appartenant aux familles Braconidae (7), Ichneumonidae (1), Encyrtidae (1) et Trichogrammatidae (1), et trois Diptera non identifiés (famille Tachinidae). Nous n'avons observé qu'une seule espèce parasitoïde d'œuf de la MEM, *Trichogrammatoidea armigera* (Manjunath). Cette espèce était responsable de 10,1% (0–78%) et 14,7% (1–42%) du parasitisme des œufs à Bambey et Nioro, respectivement. Le parasitisme larvaire était globalement élevé avec respectivement 50,3% et 52,7% à Nioro et Bambey. *Copidosoma primulum* (Mercet) (Tableau 3, Fig. 6) représentait 45,8% du parasitisme larvaire de la MEM (parasitisme ovo–larvaire, considéré ici comme parasitisme larvaire), avec 13,6% (0–55%) et 26,1% (13–49%) du parasitisme larvaire à Bambey et Nioro, respectivement. Le parasitoïde larvaire, *Schoelandella sahelensis* (Huddleston et Walker), incluant l'espèce cryptic (*Schoelandella* sp.), représentait 32,4% du parasitisme de la MEM, avec 9,7% (0–29%) et 18,3% (2–39%) de taux de parasitisme à Bambey et Nioro, respectivement. Ces parasitoïdes ont été également observés sur d'autres lépidoptères herbivores, à savoir *H. armigera* et *M. nubila* avec respectivement 3,4% (0–3,3%) et 31,3% (0–100%) de parasitisme (Fig. 6).

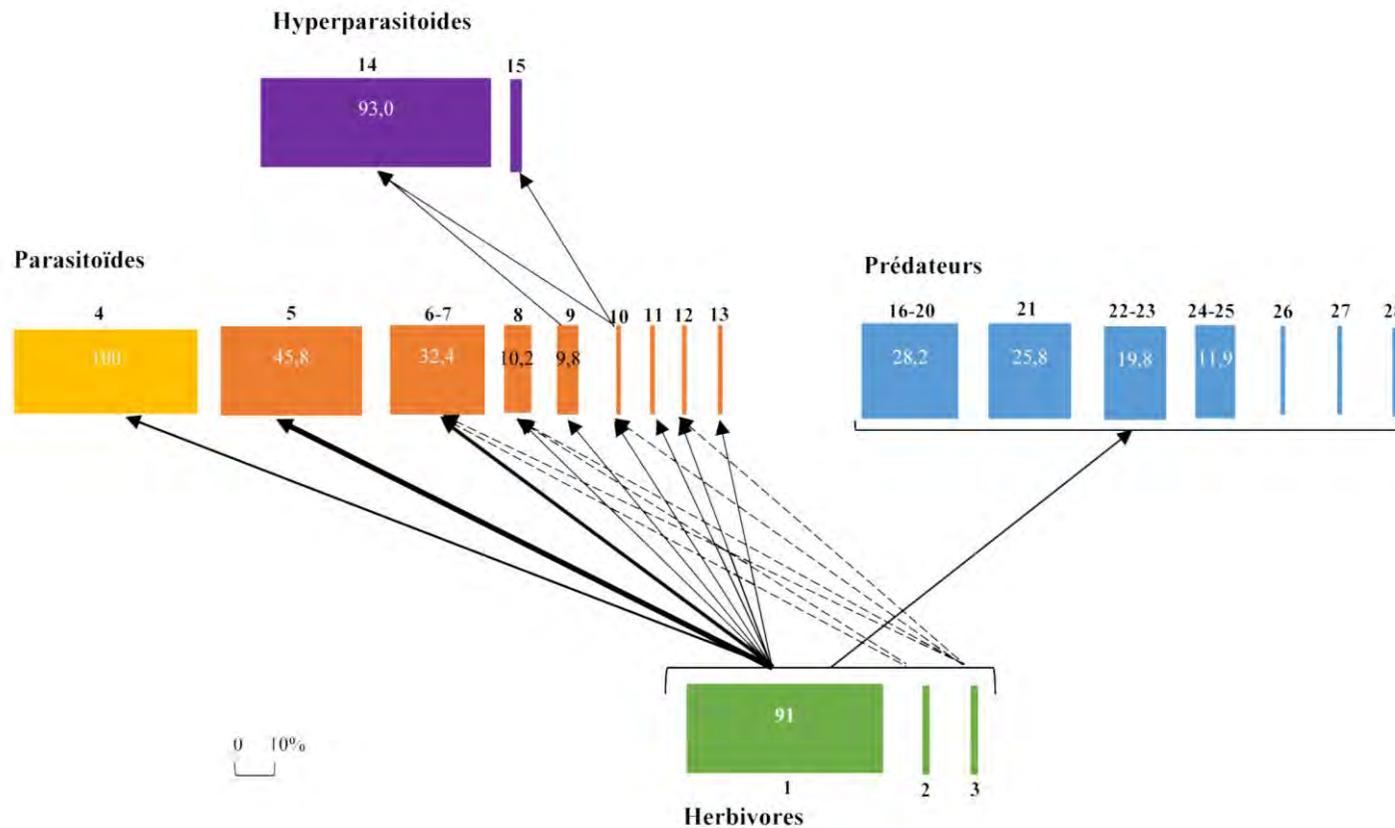
*Pristomerus pallidus* (Kriechbaumer) a également joué un rôle modéré dans le parasitisme larvaire de la MEM (10,2%), avec un taux de parasitisme de 4,4% (0–46%) et 1,2% (0–4,6%) à Bambey et Nioro, respectivement. Deux espèces de tachinaires (déterminées à partir d'alignements de séquences) ont joué un rôle majeur dans le parasitisme larvaire de la MEM, avec 9,8% de parasitisme larvaire de la MEM (Tableau 3, Fig. 6). Ils ont été également collectés sur les autres espèces lépidoptères, à savoir *H. armigera* et *M. nubila* avec respectivement 15,2% (0–100%) et 8,3% (0–50%) de parasitisme larvaire. *H. brevicornis*, l'unique ectoparasitisme de la MEM, était responsable de moins de 1% du parasitisme larvaire (Tableau 2, Fig. 6). Deux hyménoptères hyperparasitoïdes de *P. pallidus* (Kriechbaumer) et *Protapanteles sp*, appartenant aux genres *Perilampus* (Perilampidae) et *Aphanogmus* (Ceraphronidae), ont été obtenus (Tableau 3, Fig. 6).

Les prédateurs ont été répartis en quatre ordres d'insectes, dont les coléoptères (six espèces appartenant aux familles Carabidae, Coccinellidae et Elateridae), Dermaptères (une espèce de la famille Forficulidae), les Hyménoptères (cinq espèce de la famille des Formicidae), et les Hemiptères (trois espèces appartenant aux familles des Anthococoridae et Miridae). Quatre espèces d'araignées (Araneae) ont été également obtenues. Notre suivi sur le terrain a montré une forte abondance relative des fourmis prédatrices (28,2%), des perce-oreilles (*Forficula senegalensis*, 26,1%), des mirides (19,8%), des araignées (11,9%), des larves de carabes (6,7%) 6,0%) et des coccinelles (*Déclivitata hamata*, 1,3%) (Tableau 3, Fig. 6).

**Tableau 3 :** Identification taxonomique, statut fonctionnel et incidence des arthropodes collectés dans les champs de mil du bassin arachidier au Sénégal (campagne agricole 2014-2016).

Ordre/Famille	Espèces	Statuts Fonctionnels	Incidence (%) mean (min–max)
<b>Lepidoptera</b>			
Noctuidae	<i>Helicoverpa armigera</i> (Hübner, [1808])	Herbivore	3,2 (0–30)
	<i>Heliocheilus albipunctella</i> (de Joannis, 1825)	Herbivore	75,9 (34–96)
	<i>Masalia nubila</i> (Hampson, 1903)	Herbivore	4,4 (0–30)
<b>Diptera</b>			
Tachinidae	<i>Tachinidae sp.1</i> (Non identifié)	Para. larvaire	3,5 (0–38,5)
	<i>Tachinidae sp.2</i> (Non identifié)	Para. larvaire	
<b>Hymenoptera</b>			
Braconidae	<i>Apanteles sp.*</i>	Para. larvaire	–
	<i>Habrobracon brevicornis</i> (Wesmael, 1838)	Para. larvaire	0,2 (0–6,8)
	<i>Chelonus sp.</i>	Para. larvaire	0,01 (0–1,5)
	<i>Meteorus sp.*</i>	Para. larvaire	0,01 (0–6,3)
	<i>Protapanteles sp.</i>	Para. larvaire	0,2 (0–4,3)
	<i>Schoelandella sahelensis*</i> (Huddleston & Walker, 1988)	Para. larvaire	11,6 (0–39,2)
	<i>Schoelandella sp.</i>	Para. larvaire	–
Ceraphronidae	<i>Aphanogmus sp.</i>	Hyper–Para.	0,01 (0–0,94)
Encyrtidae	<i>Copidosoma primulum*</i> (Mercet, 1921)	Para. ovo–larvaire	16,4 (0–55)
Ichneumonidae	<i>Pristomerus pallidus*</i> (Kriechbaumer, 1884)	Para. larvaire	3,7 (0–46)
Perilampidae	<i>Perilampus sp.</i>	Hyper–Para.	0,2 (0–5,1)
Trichogrammatidae	<i>Trichogrammatoidea armigera*</i> (Manjunath, 1972)	Para. Œufs	11,2 (0–78,1)
<b>Araneae</b>			
	<i>Araneae sp.1</i> (Non identifié)	Prédateur	0,9 (0–7)
	<i>Araneae sp.2</i> (Non identifié)	Prédateur	
<b>Coleoptera</b>			
Carabidae	<i>Bradybenus scalaris</i> (Olivier, 1808)	Prédateur	–
	<i>Platymetopus vestitus</i> (Dejean, 1829)	Prédateur	–
	<i>Stenocallida fasciata</i> (Dejean & Boisduval, 1829)	Prédateur	–
	<i>Carabidae sp.1</i> (larva unidentified)	Prédateur	0,6 (0–4)
Coccinellidae	<i>Declivitata hamata*</i> (Schoenherr, 1808)	Prédateur	0,1 (0–2)
Elateridae	<i>Cardiophorus cognatus</i> (Eschscholtz, 1829)	Prédateur	–
<b>Dermoptera</b>			
Forficulidae	<i>Forficula senegalensis*</i> (Audinet–Serville, 1838)	Omnivore	1,6 (0–13)
<b>Hemiptera</b>			
Anthocoridae	<i>Orius maxidentex</i> (Ghaari, 1972)	Prédateur	0,5 (0–9)
Miridae	<i>Campylomma sp.2</i>	Prédateur	1,5 (0–8)
	<i>Campylomma sp.1</i>	Prédateur	
Pentatomidae	<i>Carbula curtana</i> (Dallas, 1851)	Herbivore	–
	<i>Carbula sp.</i>	Herbivore	
<b>Hymenoptera</b>			
Formicidae	<i>Componotus sp.</i>	Prédateur	1,0 (0–15)
	<i>Cremastogaster sp.</i>	Prédateur	
	<i>Monomorium sp.</i>	Prédateur	
	<i>Pachycondula sp.</i>	Prédateur	
	<i>Tapinomax sp.</i>	Prédateur	

\*Précédemment inventorié sur la MEM par (Boukary *et al.*, 1996; Gahukar, 1984).



**Figure 6** : Reconstitution du réseau trophique associé à la MEM, *Heliocheilus albipunctella*. La largeur des rectangles est proportionnelle à l'incidence relative des ravageurs et des prédateurs (pourcentage d'épis chez au moins un individu) ou au taux de parasitisme des œufs ou des larves de la MEM pour les parasitoïdes. Les flèches indiquent les interactions trophiques. Les flèches en pointillés représentent les espèces de parasitoïdes qui parasitent également *Masalia nubila* et *Helicoverpa armigera*. Les chiffres en gras indiquent les noms des taxons. Les valeurs dans les rectangles indiquent l'incidence ou le parasitisme aux champs.

1: *Heliocheilus albipunctella* (De Joannis). 2 : *Helicoverpa armigera* (Hübner). 3: *Masalia nubila* (Hampson). 4: *Trichogrammatoidea armigera* (Manjunath). 5: *Copidosoma primulum* (Mercet). 6: *Schoelandella sahelensis* (Huddleston & Walker). 7: *Schoelandella* sp. 8: *Pristomerus pallidus* (Kriechbaumer). 9: *Tachinidae* sp.1. 10: *Bracon brevicornis* (Wesmael). 11: *Protapanteles* sp. 12: *Meteorus* sp. 13: *Chelonus* sp. 14: *Perilampus* sp. 15: *Aphanogmus* sp. 16: *Componotus* sp. 17: *Cremastogaster* sp. 18: *Monomorium* sp. 19: *Pachycondula* sp. 20: *Tapinomax* sp. 21: *Forficula senegalensis* (Audinet-Serville). 22: *Campylomma* sp.2. 23: *Campylomma* sp.1. 24: *Araneae* sp.1. 25: *Araneae* sp.2. 26: *Carabidae* sp.1. 27: *Orius maxidentex*. 28: *Declivitata hamata* (Schoenherr).

### II.3.2. Outil moléculaire de diagnostic à haut débit

La vérification *in silico* de la résolution du mini-barcode COI par rapport aux séquences Sanger est présentée dans l'annexe 1. La plupart des espèces identifiées morphologiquement ont été caractérisées par des haplotypes spécifiques, avec une moyenne de 3 haplotypes par espèce (min = 1; max = 8). Nous avons une divergence génétique intra-spécifique relativement faible, avec  $1,1 \pm 0,3\%$  sur le fragment de 658 pb et  $1,0 \pm 0,5\%$  sur le fragment de 133 pb. Les distances inter-spécifiques étaient relativement fortes, avec  $27,4 \pm 0,3\%$  (1,1–51%) sur le fragment de 658 pb et  $15,2 \pm 3,5\%$  (0,9–39,8%) sur le fragment de 133 pb. Cependant, certaines espèces présentant de faibles distances inter-espèces (<2%) pourraient être difficiles à identifier. C'est le cas pour les deux espèces putatives du genre *Schoelandella*, à la fois sur le barcode complet et sur le mini-barcode ( $1,4 \pm 0,4\%$  sur le fragment de 658 pb et  $1,1 \pm 0,8\%$  sur le fragment de 133 pb). C'est également le cas pour les trois espèces noctuelles sur le mini-barcode, entre *H. albipunctella* et *M. nubila* ( $d = 1,7 \pm 1,1\%$  sur le fragment de 133 pb versus  $d = 4,5 \pm 0,8\%$  sur le fragment de 658 pb) et entre *H. albipunctella* et *H. armigera* ( $d = 0,9 \pm 0,8\%$  sur le fragment de 133 pb versus  $d = 6,4 \pm 1,0\%$  sur le fragment de 658 pb). Cependant, les spécimens de chacun de ces espèces de noctuelles ont formés des clusters monophylétiques distincts sur les arbres phylogénétiques obtenus (Annexes 2 et 3).

Nous avons également vérifié que les séquences du mini-barcode COI obtenues étaient identiques quelle que soit la méthode de séquençage (Sanger ou Illumina MiSeq). Nos résultats ont montré que pour chaque échantillon ( $n = 234$ ), l'haplotype majoritaire (HM) obtenu en Illumina MiSeq pour un individu donné était identique à 100% (couverture à 100%) à la séquence de Sanger de référence. En moyenne, les HMs représentaient 91% du nombre total de séquences obtenues (77–100%), sauf pour deux échantillons dont l'HM représentait

moins de 50% des séquences obtenues (un spécimen de *Declivitata hamata* MH = 41% et de *Forficula senegalensis* MH = 47%).

Les résultats du séquençage *de novo* du mini-barcode sur 349 spécimens ont montré que pour 95% des échantillons, l'haplotype majoritaire (HM) pour chaque individu représentait plus de 50% du nombre de total de séquences obtenues (55–97%). Les échantillons restants (5%) avaient des HM inférieure à 50% (21–45%) du nombre total de séquences. Le nombre moyen de séquences par individu était de 5352 (6–21729). Les échantillons (n= 26) ayant une faible profondeur de séquençage (> 500 séquences) ont été éliminés car ils correspondent à un échec d'amplifications. Quatre autres spécimens ont été exclus des analyses, il s'agit des contaminations ou à des inversions de tubes lors de l'extraction de l'ADN. Sur les 319 spécimens restants, 313 ont été identifiés sur la base de leur HM, avec une similarité supérieure à 99% avec une séquence de référence et une identification moléculaire conforme à l'identification morphologique. Cependant, 6 spécimens de larves de parasitoïdes avaient un HM dont l'identification moléculaire était incompatible avec l'identification morphologique attendue. L'HM de ces individus correspondait à 100% avec l'haplotype de la MEM. Pour ces spécimens, nous avons analysé la deuxième séquence majoritaire (dHM) pour chaque échantillon, et finalement ces dHM ont été identifiées avec une similarité > 99% avec une séquence de référence et qui est conforme à l'identification morphologique attendue.

## II.4. Discussion

Notre inventaire des arthropodes collectés dans les champs de mil fournit une importante mise à jour sur la biodiversité des espèces clés impliquées dans le réseau trophique associé à la MEM et apporte des informations complémentaires par rapport aux études antérieures réalisées par Gahukar (1984) et Bhatnagar (1987). Concernant les parasitoïdes, 6 espèces supplémentaires ont été identifiées sur la base morphologique et moléculaire [*H. brevicornis* (Wesmael), *Schoelandella* sp., *Protapanteles* sp., *Chelonus* sp., *Aphanogmus* sp. et *Perilampus* sp.]. Nous avons également achevé l'identification de certaines espèces parasitoïdes clés, telles que *Copidosoma primulum* (Mercet) (*Lithomastix* sp. Syn.), *Pristomerus pallidus* (Kriechbaumer) et *Trichogrammatoidea armigera* (Manjunath). Les outils de diagnostic moléculaire (Sanger et Illumina) ont permis une discrimination spécifique de la plupart des insectes collectés, fournissant ainsi un appui substantiel à l'identification des communautés d'espèces dans l'agroécosystème à base de mil.

Une faible diversité de parasitoïdes des œufs a été observée, dont l'unique espèce, *T. armigera*, un endoparasitoïde généraliste (Manjunath, 1972), a été obtenu à partir des œufs de lépidoptères collectés aux champs. Les trichogrammes ont été largement utilisés dans les programmes de lutte biologique contre d'autres ravageurs (Davies *et al.*, 2011, 2009; Duffield, 1994a). Le parasitisme des œufs de la MEM par *T. armigera* était faible (11,2%) par rapport aux taux rapportés par Bhatnagar (1987) au Sénégal de 1982 à 1988 et qui variaient entre 9–75%, ou par (Bal, 1993) qui avait rapporté des taux de parasitisme allant jusqu'à 60% en fin de saison. Le parasitisme larvaire était dominé par trois espèces principales. Parmi lesquelles, *C. primulum*, également connu sous le nom de *Lithomastix* sp., a été reconnu comme un parasitoïde clé de la MEM dans des études antérieures menées au Sénégal (Bhatnagar, 1987; Gahukar, 1984). Il domine largement le parasitisme larvaire de la MEM.

C'est un endoparasitoïde poly-embryonnaire dont les femelles adultes pondent dans les œufs de la MEM. Les larves se développent dans la larve de l'hôte, ne la tuant qu'après qu'elle s'est enfouie dans le sol. Les larves de *C. primulum* entrent alors en diapause dans le sol et émergent la saison suivante après l'installation des pluies. De ce fait, ce parasitoïde n'a pas un impact direct sur les dégâts, mais réduit significativement la population résiduelle dans le sol. Dans la littérature, ce parasitoïde pourrait être responsable d'environ 30% de parasitisme larvaire au Sénégal (Gahukar, 1984). Ceci est en accord avec nos résultats, avec un maximum de 33,8% en 2016. *Schoelandella sahelensis* (synonymie de *Cardiochiles sahelensis*) est un endoparasitoïde solitaire, dont les femelles pondent dans les chenilles à des stades jeunes (L1 et L2) et les tuent aux stades âgés dans le sol. Comme *C. primulum*, les larves de ce parasitoïde entrent en diapause et émergent au même moment que la MEM. Le taux de parasitisme moyen de 11,6% dû à ce parasitoïde est légèrement inférieur à ce qui a été rapporté par Bhatnagar (1987) qui a enregistré un taux de parasitisme larvaire dû à *S. sahelensis* de 29% sur des chenilles suivies au laboratoire au Sénégal. Nous avons également obtenue ce parasitoïde chez d'autres lépidoptères herbivores, à savoir *H. armigera* et *M. nubila*, avec un parasitisme de 3,4 (0–33,3) et 31,3% (0–100) respectivement. Les deux lignées de *Schoelandella* séparées par des distances inter-spécifiques <2% peut indiquer un complexe d'espèces cryptiques, ou plutôt un processus de spéciation génétique, que l'on retrouve couramment chez les hyménoptères parasitoïdes (Derocles *et al.*, 2016; Julsirikul *et al.*, 2014), en particulier pour des variants géographiques ou des races d'hôtes (Bickford *et al.*, 2007). Cette divergence génétique ne peut être liée à aucune différenciation morphologique. *P. pallidus*, a également joué un rôle modéré dans le parasitisme larvaire de la MEM (9,6%). C'est un endoparasite solitaire qui, contrairement à *C. primulum* et *S. sahelensis*, n'entre pas en diapause. Trois espèces de guêpes parasitoïdes de la famille des Braconidae [*H. brevicornis* (Wesmael), *Protapanteles* sp. et *Chelonus* sp.] jamais décrits sur MEM ont été

identifiés. Les tachinidés étaient également des parasitoïdes majeurs des larvaires. Au moins deux espèces de parasitoïdes de la famille des tachinidés n'ont pas pu être identifiées dans cette étude. Le parasitisme dû à l'ectoparasitoïde larvaire, *H. brevicornis*, était très faible (<1%). Nous n'avons pas identifié *H. hebetor* (Say), la seule espèce parasitoïde de ce genre (Habrobracon) décrite sur MEM au Sénégal (Bhatnagar, 1987; Gahukar, 1984). Nous avons identifié une espèce très proche, *H. brevicornis*, jamais décrite sur MEM, avec un taux de parasitisme très faible. Cependant, des études récentes ont montré que la frontière entre ces espèces était très étroite. En effet, en utilisant des marqueurs microsatellites polymorphes, Garba *et al.* (2016) ont montré que sur 23 locus sur les 24 sélectionnés, des locis de *H. hebetor* ont été amplifiés dans tous les spécimens de *B. brevicornis*, ceci prouve à quel point la limite taxonomique entre ces deux espèces est précaire. Il est donc possible que dans les études antérieures, l'espèce décrite comme *H. hebetor* était en réalité *H. brevicornis*. Cette réflexion méritera des études plus approfondies sur la question. Une meilleure connaissance des communautés de parasitoïdes, y compris des espèces généralistes (*T. armigera*, *P. pallidus*) et en particulier les spécialistes (*C. primulum*, *S. sahelensis*) est essentielle pour la mise en œuvre de stratégies de lutte biologique par conservation plus efficaces.

Les principales espèces de prédateurs les plus fréquentes sur les épis de mil, étaient des Forficulidae (*Forficula senegalensis*), des Anthocoridae (*Orius maxidentex*) et des Carabidae (observer entrains de prédater des larves de la MEM sur le terrain). *F. senegalensis* a un comportement alimentaire omnivore et a déjà été signalé comme potentiel prédateur des œufs et des jeunes larves de MEM (Boukary *et al.*, 1996). *O. maxidentex*, une espèce jamais décrite sur MEM, mais dont une espèce du même genre avait été précédemment déclarée comme le principal prédateur de la MEM (Gahukar, 1984; Nwanze et Harris, 1992). En plus, certaines espèces d'*Orius* sont connues comme d'excellents prédateurs généralistes et peuvent être très efficaces pour lutter contre les ravageurs des cultures (Dennill et Pretorius, 1995;

Hernandez et Stonedahl, 1999; Lundgren *et al.*, 2009). Certains autres spécimens non identifiés appartenait à des familles réputées être d'excellents agents de contrôle biologique, telles que les larves de carabidés (Bohan *et al.*, 2000; Miranda *et al.*, 2011; Suenaga et Hamamura, 2001), les fourmis (Bartlett, 1961; Eubanks, 2001; Way et Khoo, 1992), et les araignées (Nyffeler et Benz, 1987; Quan *et al.*, 2011; Riechert et Lockley, 1984). La prédation des larves de la MEM par les larves de carabidés a été observée sur le terrain (voir Fig. 4) Des analyses moléculaire de contenu intestinales (à savoir du metabarcoding) seraient nécessaires pour explorer plus efficacement l'impact de ces espèces prédatrices dans le réseau trophique et le contrôle biologique des populations de MEM.

Cette mise à jour du complexe d'ennemis naturels (prédateurs et parasitoïdes) de la MEM a montré que la richesse et la diversité des espèces ont été bien conservées. L'absence d'application d'insecticides dans les agroécosystèmes à base de mil et les faibles changements des pratiques agricoles et du contexte paysager pourraient expliquer cette excellente conservation de la biodiversité d'ennemis naturels. Nous avons identifié des parasitoïdes clés tels que *T. armigera*, *C. primulum* et *Schoelandella* spp., et des prédateurs tels que *F. senegalensis* et *O. maxidentex*, qui pourraient être utilisés comme agent de contrôle biologique dans des programmes de lutte biologique par lâchers augmentatives, ou favoriser leurs présences dans l'environnement par manipulation de leurs habitats dans le paysage.

L'avènement des technologies de séquençage à haut débit a ouvert de nouvelles perspectives pour une identification rapide et fiable des espèces d'arthropodes grâce à des approches par barcode à ADN. Ici, le développement d'une librairie de référence à barcode est une première étape pour faciliter l'identification des arthropodes collectés dans les agroécosystèmes à base de mil en Afrique de l'Ouest. Dans ce chapitre, nous avons réussi à barcoder la plupart des espèces d'intérêts à la fois sur le fragment de 658 pb (full-barcode) et

de 133 pb (mini-barcode). Cela ouvre des possibilités d'identification plus rapide et plus efficace des arthropodes associés aux agro-écosystèmes à base de mil. Les cas d'échec d'amplification étaient probablement liés à une incompatibilité (présence potentielle de mismatch) des amorces «universelle» pour ces espèces ou à une mauvaise qualité de l'ADN. Cependant, sur la mini-COI, la résolution entre *Heliocheilus albipunctella* / *Masalia nubila* et *H. albipunctella* / *Helicoverpa armigera* était inférieure au seuil de 3% (Hebert *et al.*, 2003). Néanmoins, le mini-barcode est assez résolutif pour distinguer ces trois Lépidoptères. Tandis que le barcode complet (600 pb) est utilisé comme référence pour l'identification des espèces, le mini-barcode est généralement utilisé pour amplifier l'ADN dégradé dans le tube digestif des prédateurs (Agustí *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2000, 2000; Furlong *et al.*, 2014; Gillet *et al.*, 2015; Ji *et al.*, 2013; Mollot *et al.*, 2014; Pompanon *et al.*, 2012) ou présent en faible quantités, comme dans cas du parasitisme (Duman *et al.*, 2015; Greenstone, 2006; Ode et Heimpel, 2016; Shariff *et al.*, 2014), ou encore pour étudier la diversité circulante (Andersen *et al.*, 2012; Ji *et al.*, 2013). Nous avons pu vérifier et valider la pertinence du mini-COI de 133 pb par Illumina MiSeq sur nos insectes de référence (Schmidt *et al.*, 2013). Nos résultats ont montré que nous avons pu identifier 98% des échantillons séquencés, à partir de leurs séquences majoritaires obtenues par Illumina. Les 2% d'individus identifiés à partir du deuxième haplotype majoritaire correspondaient à des espèces de parasitoïdes: un *T. armigera*, deux larves de parasitoïdes et trois nématodes. Dans tous les cas, l'haplotype attendu était présent, mais en deuxième position en termes d'abondance de séquences derrière l'haplotype dominant, qui correspondait dans tous les cas à celui de l'hôte (*H. albipunctella*) sur lequel ils se sont développés. Il semblerait que l'ADN de l'hôte (MEM) soit favorisé par nos amorces pour ces spécimens. Grâce à cette sensibilité du séquençage à haut débit, il serait possible d'identifier successivement le parasitoïde et son hôte ou dans le sens inverse l'hôte et son parasite à partir d'une seule réaction PCR. Étant donné que nous avons pu distinguer

correctement les ravageurs cibles et toutes les espèces de parasitoïdes, ce mini-barcode COI peut être utilisé comme un outil de diagnostic puissant du parasitisme à partir d'échantillons d'œufs et de larves de la MEM prélevés sur le terrain, également de la prédation à partir d'analyse du contenu intestinal des arthropodes (Gariépy *et al.*, 2007; Mollot *et al.*, 2014), et d'invertébrés à partir d'analyse de fèces (Galan *et al.*, 2018). Puisque la prédation est très difficile à évaluer sur la seule base d'observations directes sur le terrain, également les études de parasitisme basées sur des suivis par élevage hôtes au laboratoire se révèlent très lourds et coûteux en terme de temps et d'argent, et ne permettent pas de détecter le parasitisme chez les individus mortes avant l'apparition des parasitoïdes (Bhatnagar, 1987; Greenstone, 2006; Persad *et al.*, 2004; Traugott *et al.*, 2008). Nos résultats ouvrent donc des pistes sérieuses pour des études rapides et rentables sur la diversité et l'impact des communautés ennemis naturels.

## II.5. Conclusion

Une meilleure connaissance de la diversité des communautés d'arthropodes et des interactions entre les herbivores et leurs ennemis naturels (parasitoïdes et prédateurs) est essentielle pour mettre en place une stratégie de lutte biologique efficace (Ings *et al.*, 2009). Dans ce chapitre, nous avons validé un outil de diagnostic moléculaire à haut débit pour une identification plus efficace et pertinente des espèces d'arthropodes impliquées dans le réseau trophique associé à la MEM. Ce nouvel outil nous permettra d'explorer plus efficacement les processus écologiques liés à la prédation et au parasitisme de la MEM (**Chapitre III et IV**). Nous avons également mis à jour le réseau trophique associé à la MEM en identifiant les espèces clés et en les classant en fonction de leur incidence relative dans les champs de mil (herbivores et prédateurs) ou de leur contribution relative au parasitisme (parasitoïdes). Des études sur la manière dont la gestion des cultures et les contextes paysagers affectent la diversité et l'abondance des communautés ennemies naturelles, la variabilité et la structure des réseaux trophiques et l'efficacité du contrôle biologique sur les populations de MEM devraient être menées, pour identifier et mettre en place une gestion appropriée des habitats semi-naturels des ennemis naturels pour une lutte biologique par conservation pertinente (**Chapitre V**).

## **Chapitre III :**

Diagnostic du parasitisme et les interactions hôte–  
parasitoïdes de la mineuse de l'épi de mil via  
metabarcoding

**Article 2.**

**Deciphering host–parasitoid interactions and parasitism rates of crop pests  
using DNA metabarcoding**

Ahmadou Sow, Thierry Brévault, Laure Benoit, Marie–Pierre Chapuis, Maxime Galan, Armelle Cœur  
d’Acier, Gérard Delvare, Mbacké Sembène, Julien Haran.

*Publié dans Scientific report (Nature)*

### III.1. Introduction

Les parasitoïdes d'insectes sont généralement définis comme étant des espèces dont les larves se développent en se nourrissant dans ou sur le corps d'un hôte (arthropode), et finissent par le tuer (LaSall et Gauld, 1991). Les parasitoïdes d'insectes présentent une grande diversité d'espèces, une grande variété de caractéristiques biologiques et écologiques et peuvent jouer un rôle important dans la régulation naturelle des populations d'arthropodes (Ode et Heimpel, 2016; Santos et Quicke, 2011). Environ 10–25% des insectes sont des parasitoïdes (Eggleton et Belshaw, 1992; LaSall et Gauld, 1991), avec plus de 2 millions d'espèces dans le monde (Godfray, 1994), dont la plupart restent non décrits. La majorité des espèces de parasitoïdes (près de 75%) se trouvent dans l'ordre des Hyménoptères, 15% dans l'ordre des Diptères, tandis que les Coléoptères, les Lépidoptères, les Trichoptères et les Neuroptères renferment également certaines espèces de parasitoïdes (Feener Jr et Brown, 1997; Godfray, 1994).

La lutte biologique contre les insectes nuisibles des cultures utilisant des ennemis naturels tels que les parasitoïdes est un moyen efficace pour réduire les pertes de rendement des cultures causées par ces ravageurs (DeBach et Rosen, 1991; Elzen et King, 1999; Fisher *et al.*, 1999; Hajek, 2004) et une alternative écologique à l'utilisation intensif d'insecticide (Hladik *et al.*, 2014). Cette approche repose le plus souvent par l'introduction de parasitoïdes «exotiques» (lutte biologique classique) dans de nouveaux environnements. Par ailleurs, les parasitoïdes indigènes peuvent être élevés en masse et relâchés périodiquement sur le terrain (lutte biologique par augmentation) lorsque la taille des populations ne suffit pas à assurer un contrôle efficace sur le ravageur (Van Lenteren, 2000). L'abondance des parasitoïdes indigènes peut également être favorisée par une manipulation adéquate de leurs habitats (par exemple, contrôle biologique par conservation), y compris la manipulation du microclimat des

cultures, la conservation des habitats semi-naturels qui servent de refuges pendant l'hivernage, la mise à disposition d'hôtes alternatifs et l'accessibilité aux ressources alimentaires essentielles telles que les fleurs et pollens pour les parasitoïdes adultes (Gurr *et al.*, 2000).

Un diagnostic rapide et fiable du parasitisme des ravageurs cibles est essentiel pour évaluer l'efficacité des programmes de lutte biologique, mais aussi pour les études écologiques portant sur les interactions hôte–parasitoïde et les réseaux trophiques (Garipey *et al.*, 2007; Zalucki *et al.*, 2015). Les méthodes traditionnelles d'identification des parasitoïdes et d'évaluation des taux de parasitisme dans une population de ravageurs reposent sur les méthodes d'élevage de l'hôte jusqu'à l'apparition de parasitoïdes adultes ou par la dissection de l'hôte. Cependant, les résultats de l'élevage peuvent souvent être biaisés par la mortalité différentielle de (1) l'hôte due à des maladies ou autres stress liée aux conditions d'élevage et (2) aux parasitoïdes dus aux défenses naturelles de l'hôte (Day, 1994). En outre, l'identification des espèces de parasitoïdes obtenues par l'élevage nécessite l'expertise d'un taxonomiste, qui se trouve souvent limités par l'incapacité d'identifier des espèces cryptiques sur des critères morphologiques. Pour les deux méthodes conventionnelles (élevage ou dissection), la charge de travail limite le nombre d'échantillons. Par conséquent, ces méthodes sont difficiles à mettre en œuvre à grande échelle et peuvent ne pas détecter correctement le parasitisme survenu sur le terrain ou au laboratoire à cause de la mortalité (Ratcliffe *et al.*, 2002).

Des approches moléculaires de plus en plus innovante ont ouvert de nouvelles perspectives pour identifier les parasitoïdes et évaluer les interactions hôte–parasitoïde, au stade embryonnaire de l'hôte, via l'approches PCR–RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) [Papura *et al.* (2016), ou au stade larvaire via l'approche MAPL (*Molecular Analysis of Parasitoid Linkages*)] (Rougerie *et al.*, 2011). Le MAPL est basé sur la détection

de l'ADN de l'hôte sur des parasitoïdes adultes (MAPL–AP) ou de l'ADN de parasitoïde dans les tissus des larves de l'hôte (MAPL–HL) en utilisant des amorces de PCR spécifiques aux espèces ciblées (Wirta *et al.*, 2014). Il a été démontré que les deux méthodes détectent des taux de parasitisme plus élevés que les méthodes d'élevage traditionnelles (Wirta *et al.*, 2014), mais ils sont applicable uniquement par séquençage Sanger (Garipey *et al.*, 2007; Greenstone, 2006), souvent limité par le coût et la taille de l'échantillon à analyser. Dans un contexte actuel d'utilisation croissante du metabarcoding de l'ADN via le séquençage à haut débit (*High-Throughput Sequencing*, HTS), il est nécessaire de faire une transition vers ces approches qui se révèlent plus efficaces. Le metabarcoding est utilisé efficacement pour la détection des interactions hôte–parasitoïdes dans un large éventail d'organismes (Blackman *et al.*, 2017; Schmidt *et al.*, 2013; Thomsen *et al.*, 2012), y compris les insectes (Kitson *et al.*, 2018; Šigut *et al.*, 2017). Cette approche fournit une identification fiable, rapide et accessible des spécimens immatures et adultes, même pour les non–taxonomistes, et sans connaissance préalable de la composition spécifique du réseau trophique (Pompanon *et al.*, 2012). De plus, le metabarcoding peut fournir des informations (exemple, multiparasitisme) difficiles à obtenir avec les approches conventionnels classique (élevage, barcoding) (Hall *et al.*, 2017) puisque le metabarcoding est capable de co–amplifier et co–séquencer plusieurs taxa dans une seule réaction de PCR (Taberlet *et al.*, 2012). Enfin, le metabarcoding permet de séquencer un grand nombre d'échantillons pour un coût limité (Galan *et al.*, 2010; Shokralla *et al.*, 2012; Smith et Peay, 2014), ouvrir la possibilité d'entreprendre des études à grande échelle. Cependant, le metabarcoding peut être sujet des biais techniques qui doivent être pris en compte de manière appropriée pour étudier les interactions hôte–parasitoïde. Par exemple, la contamination potentielle de l'ADN au laboratoire ou la non–détection liée aux biais de PCR (Shokralla *et al.*, 2012) (voir section, **II.3.3**). Ce dernier peut être lié à des mismatches entre les amorces et les ADN cibles, ou de la compétition lors de la co–amplification de l'ADN du

parasitoïde présente en faible proportion par rapport à l'ADN de l'hôte présente en quantité très élevée. Bien qu'il existe des précautions techniques adéquates permettant de réduire des biais qui peuvent induire des faux positifs ou négatifs dans les expériences en metabarcoding (Ficetola *et al.*, 2015; Galan *et al.*, 2016; Smith et Peay, 2014), une évaluation de l'efficacité du metabarcoding fait défaut dans d'autres systèmes tels que les sols (Young *et al.*, 2017), l'environnement marin et les eaux douces (Bott *et al.*, 2010; Guardiola *et al.*, 2015; Pochon *et al.*, 2013). Cependant, il est essentiel d'évaluer la sensibilité de la détection du metabarcoding pour un diagnostic précis et fiable du parasitisme des ravageurs dans les agroécosystèmes.

L'objectif de ce chapitre est d'évaluer la pertinence du metabarcoding pour identifier les espèces de parasitoïdes et leur contribution relative à la régulation naturelle de la MEM. Les pertes de rendements dues à ce ravageur sont fortement atténuées par les ennemis naturels, notamment les prédateurs et les parasitoïdes (Bhatnagar, 1987; Gahukar, 1984; Nwanze et Sivakumar, 1990; Sow *et al.*, 2018), qui en font un modèle pertinent pour explorer la biodiversité fonctionnelle impliquée dans les réseaux trophiques et la lutte biologique. La pertinence de ce modèle est également soutenue par le fait que les assemblages de parasitoïdes associés à la MEM ont été documentés morphologiquement et génétiquement (voir **Chapitre II**), et que la forte mortalité des larves observée pendant le processus d'élevage (exemple, ~ 47% de mortalité larvaire, dans Sow *et al.* (2017)), représentant une contrainte majeure à l'évaluation des taux de parasitisme.

Dans ce chapitre, nous allons d'abord évaluer la sensibilité de détection du metabarcoding en testant l'amplification de mélanges artificiels de l'ADN de l'hôte et des différentes parasitoïdes. Ensuite, nous allons estimer le taux de parasitisme en appliquant simultanément l'approche metabarcoding et d'élevage à partir d'échantillon d'œufs et des larves de la MEM prélevés sur le terrain dans deux paysages agricoles contrastés.

## III.2. Matériel et Méthodes

### III.2.1. Echantillonnage d'insectes

La collecte sur le terrain d'échantillon des œufs et des larves de la MEM a été effectuée pendant la campagne agricole de 2016 dans quatre parcelles de mil situées dans la zone de Bambey (14 ° 43'0,79 "N; 16 ° 30'5.56" O) et Nioro du Rip (13 ° 45'20.39 "N; 15 ° 47'12.29" O), localisées dans le "bassin d'arachide", principale zone de production de mil au Sénégal (**voir présentation de la zone d'étude dans Chapitre II**). L'échantillonnage a été effectué au début à la fin du mois de septembre (2016), sur chaque parcelle de mil sélectionné, aux trois stades phénologiques distincts correspondant au développement successif de stades immatures de la MEM (**voir Chapitre II**).

Au total, 800 spécimens ont été collectés, dont 200 dans chaque parcelle de mil [Bambey 1 (66 œufs et 134 larves); Bambey 2 (82 œufs et 118 larves); Nioro 1 (70 œufs et 130 larves) ; Nioro 2 (68 œufs et 132 larves)]. La moitié de l'échantillon a été sélectionnée au hasard pour l'élevage en laboratoire, tandis que l'autre moitié a été conservée dans de l'alcool 90 pour des analyses moléculaires. Par conséquent, un total de 400 spécimens (143 œufs et 257 larves) ont été analysés par l'élevage et par metabarcoding, respectivement.

### III.2.2. Evaluation du parasitisme par élevage

Des œufs et des larves de la MEM ont été collectés puis élevés au laboratoire pour un diagnostic du parasitisme associé. Les œufs ont été triés et incubés à température ambiante dans des piluliers cubiques (10–25 œufs par boîtes). Les larves collectées ont été mises en élevage en individuel sur du milieu artificiel (Southland Products, USA). Les parasitoïdes qui émergeaient des œufs et des larves ont été récoltés puis conservés à –20° dans des micro tubes

contenant de l'alcool 90, puis identifier par Gérard Delvare (spécialiste des Hyménoptères), en utilisant des clefs taxonomiques (Delvare et Aberlenc, 1989; Huddleston et Walker, 1988; Morley et Rait-Smith, 2009; Wharton *et al.*, 1997) ou par comparaison avec des spécimens dans des collections de références de British Museum (London, UK) ou au CBGP (Montpellier, France). Le taux de parasitisme a été calculé de deux manières, (1) en prenant compte la mortalité (élevage incluant la mortalité: EIM) ou en l'excluant (élevage excluant la mortalité: EEM).

$$EIM = \frac{\text{nb d'individu parasité}}{\text{nb total d'individu collecté}} \quad (1)$$

$$EEM = \frac{\text{nb d'individu parasité}}{\text{nb total d'individu collecté} - \text{nb d'individu mort}} \quad (2)$$

### III.2.3. Evaluation du parasitisme par metabarcoding

Afin de vérifier la fiabilité et la sensibilité du metabarcoding, nous avons d'abord estimé (1) sa capacité à détecter des parasitoïdes dans les tissus de l'hôte malgré le déséquilibre du rapport d'ADN, (2) sa sensibilité à plusieurs assemblages hôte–parasitoïde et (3) sa reproductibilité à travers des répliquats techniques. Dans un deuxième temps, nous avons appliqué le metabarcoding sur les échantillons d'œufs et de larves collectés aux champs afin d'évaluer le taux de parasitisme.

#### III.2.3.1. Extraction d'ADN et test de dilution

Les extractions d'ADN ont été réalisées à l'aide du kit EZ–10 96–well plate DNA for Animal Samples (Biobasic Inc., Canada). Les spécimens de petite taille, tels que des micro–

hyménoptères, ont été extraits individuellement à l'aide du kit EZ–10 Spin Column Animal DNA Mini–Preps (Biobasic Inc., Canada) pour augmenter le rendement en ADN génomique. Toutes les extractions ont été effectuées suivant le protocole du fabricant. Une lyse non destructive par incubation individuelle pendant une nuit dans un mélange de 300 µl de solution de lyse cellulaire animale et 20 µl de protéinase K à 55 ° C sous agitation, a été effectuée.

Pour le test de sensibilité en conditions contrôlées, nous avons extrait des adultes des dix principales espèces de parasitoïdes de MEM (Sow *et al.*, 2018) ( Fig. 7). La concentration d'ADN pour chaque échantillon a été mesurée en utilisant le kit Qubit™ dsDNA HS Assay (Qubit® 2.0 fluorometer, Thermofisher, Canada), suivant le protocole du fabricant. Pour avoir une bonne concentration d'ADN de l'hôte, nous avons extrait un mélange de huit larves de MEM issues d'élevage au laboratoire pour être sûre qu'elles ne sont pas parasitées. Ensuite, nous avons effectué des dilutions en cascades sur des extraits d'ADN de concentrations connues de parasitoïdes dans des proportions de 1:8, 1:80, 1:800, et 1:80000, par rapport à la concentration initiale de l'ADN de l'hôte. Ces mélanges d'ADN ont été réalisés dans un volume final de 2 µL, contenant 1 µL d'ADN hôte (56 ng / µL) et 1 µL de chaque gamme de dilution (7, 0,7, 0,07 et 0,007 ng / µL) pour chaque espèce de parasitoïde. Pour *Habrobracon brevicornis* et *Trichogrammatoidea armigera*, nous n'avons pas inclus la dilution à 1:8, à cause d'ADN faiblement concentré pour ces deux parasitoïdes.

### III.2.3.2. PCR et séquençage en Illumina

Nous avons amplifié le mini–barcode de 133 pb du cytochrome c oxydase I (COI) (Gillet *et al.*, 2015) sur l'ensemble des échantillons d'arthropodes et de fèces en utilisant les amorces et le protocole de séquençage 2–Step PCR (Illumina MiSeq) décrit dans Galan *et al.* (2018). Il a

démontré que ce mini–barcode est très résolutif pour distinguer les espèces de prédateurs de la MEM (Sow *et al.*, 2018) et offre l'avantage d'amplifier l'ADN dégradé des proies. Plusieurs contrôles négatifs (n = 10) ont été inclus, suivant les recommandations dans Galan *et al.* (2016). Nous avons réalisé 3 réplicats techniques sur chaque extrait d'ADN arthropodes et de fèces afin de contrôler la stochasticité des PCR et de valider les résultats positifs (Robasky *et al.*, 2014).

Une première étape d'amplification du fragment COI court de 133 pb a été réalisée à l'aide d'amorces universelles. (MG-LCO1490 5'–ATTCHACDAAYCAYAARGAYATYGG–3' et MG-R 5'–ACTATAAAARAAAYTATDAYAAADGCRTG–3') modifier au niveau de l'extrémité 5'. Les réactions de PCR ont été effectuées dans un volume final de 10 µL contenant 5 µl de Multiplex Master Mix (Qiagen, Hilden, Allemagne), 0,5 µM de chaque amorce et 2 µL d'ADN. Les conditions de PCR de cette première étape consistaient en une dénaturation initiale à 95°C pendant 15 minutes, suivies de 40 cycles de dénaturation à 94°C pendant 30 s, une hybridation à 45°C pendant 45 s et une extension à 72°C pendant 30 s, et une dernière étape d'extension à 72°C pendant 10 min.

Une seconde étape de PCR a été réalisée pour ajouter des étiquettes de multiplexage spécifiques (appelées index i5 et index i7), constituées de courtes séquences spécifiques à l'échantillon de 8 pb et des adaptateurs Illumina (nommés P5 et P7) aux extrémités 5' de chaque fragment d'ADN amplifié à la première étape de PCR. Après mélange de tous les produits de PCR (multiplexage) pour le séquençage MiSeq, les index vont nous permettre d'identifier l'origine des séquences et de les réassigner à chaque échantillon (démultiplexage). Cette deuxième PCR a été réalisée dans un volume total de 10 µL contenant 5 µl de kit Multiplex (Qiagen, Allemagne), 0,7 µM de chaque amorce et 2 µL de produits de la première PCR pour chaque échantillon. Les conditions de la PCR consistaient en une étape de dénaturation initiale à 95°C pendant 15 minutes suivies de 8 cycles de dénaturation à 95°C

pendant 40 s, une hybridation à 55°C pendant 45 s et une extension à 72°C pendant 60 s, et une finale étape d'extension à 72°C pendant 10 min.

Le mélange volume–volume de tous les produits de PCR (4 µL par échantillon) a été examiné sur la base de la longueur des fragments résultant de l'excision sur un gel d'agarose à 1,5%. Le pool de produits de PCR spécifiques a été coupé à la taille attendue (328 pb correspondant à la taille de l'amplicon, y compris les amorces spécifiques au gène, les amorces de séquençage, les index et les adaptateurs) sous lumière ultraviolette. La librairie ainsi obtenue a été purifiée avec le kit de purification PCR (Macherey–Nagel, Allemagne), estimée par PCR quantitative (kit KAPA, Kapa Biosciences), puis séquencée sur un séquenceur MiSeq avec un kit 500v2 (Illumina, USA).

### III.2.3.3. Analyses des séquences

Nous avons traité les données de séquençage appariées du système Illumina MiSeq avec le plateforme FROGS (Escudié *et al.*, 2018). Nous avons d'abord utilisé un script (voir Annexe 4) pour fusionner des séquences de paires au niveau des contigs avec FLASH (Magoc et Salzberg, 2011) et couper les amorces avec Cut–adapt (Martin, 2011). Ce script est particulièrement utile lors de l'utilisation de FROGS sur des données produites avec des amorces dont la taille varie entre les séquences, ignorées lors de l'étape de prétraitement de FROGS. Dans notre étude, la variation de taille dans les amorces résulte de l'ajout de bases intercalaires d'hétérogénéité dans les adaptateurs lors de la construction de la librairie pour déplacer le cadre de lecture (Fadrosh *et al.*, 2014). Nous avons ensuite filtré les séquences en fonction de leur longueur (la valeur attendue est de 133b ± 10b), les séquences non–repliées, les chimères, en utilisant l'algorithme d'Edgar *et al.* (2011) implémenté dans

VSEARCH et des séquences en cluster avec SWARM en utilisant un seuil de clustering local avec la valeur par défaut  $d$  ( $d = 1$ ) (Mahé *et al.*, 2014).

Nous avons effectué l'assignation taxonomique pour chaque unité OTU (*Operational Taxonomic Unit*) en utilisant notre base de données de référence précédemment construite (**Chapitre II**). Les séquences absentes de notre base de données ont été comparées par Blast+ sur des bases de données publiques [BOLD Systems v. 3 (<http://www.boldsystems.org>), et GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/))]. L'identification a été considérée comme «valide» au seuil de similarité de 97 à 100%. En dessous de ce seuil, les spécimens ont été considérés comme non identifiés au niveau de l'espèce.

Le filtrage des faux positifs a été effectué suivant la stratégie proposée par Galan *et al.* (2016, 2018). En résumé, nous avons écarté les résultats positifs associés à des décomptes de séquence inférieurs à deux seuils spécifiques à l'OTU, qui contrôlent respectivement la contamination croisée entre les échantillons (en utilisant dix contrôles négatifs d'extraction et de PCR) et une mauvaise assignation résultant de la génération de clusters mixtes sur la Flow Cell lors du séquençage Illumina (en utilisant un taux global de faux d'appariement d'indices de 0,2%) basé sur des estimations de Kircher *et al.* (2012) et de Galan *et al.* (2016).

#### III.2.3.4. Analyses statistiques

Un Anova One–way a été utilisée pour tester la différence des taux de parasitisme (avec ou sans la mortalité) global et pour chaque espèce de parasitoïde entre les deux méthodes d'analyses (metabarcoding vs élevage) et les deux zones d'études (Nioro vs Bambey). Un test apparié de Wilcoxon a été utilisé pour rechercher une différence significative de la proportion moyenne de séquences de parasitoïdes estimée par metabarcoding de l'ADN entre les

différents stades du développement de l'hôte. Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel R V. 3.2.3 (RStudio, 2012).

### III.3. Résultats

#### III.3.1. Validation des données de séquençage Illumina

Au total, 1 113 échantillons d'œufs et de larves de la MEM ont été séquencés sur le MiSeq Illumina. Au total, 8 045 424 séquences ont été générées (moyenne = 6 749,5; écart-type = 2 467,0), avec 87,5% des séquences appartenant à la MEM (1 cluster), 6,1% des séquences appartenant à *Masalia nubila* (2 clusters; il s'agit des œufs de *M. nubila* qui ont été confondus avec ceux de la MEM car il est impossible de les discerner, ces séquences ont été retirées du jeu de données après filtre), 2,1% des séquences appartenaient à des parasitoïdes (4 clusters) et 4,2% des séquences artefactuelles (chimères, contaminations). Après filtrage (voir Galan *et al.*, 2018), 7 404 164 séquences ont été obtenues (moyenne = 6 652,4 ; écart-type = 1 3297,7). Sur les 114 échantillons de test de dilution d'ADN en condition contrôlé, nous avons obtenus 929 364 séquences avant filtre (moyenne = 8 152,4 ; écart-type = 2 540,5) et 928 344 séquences après filtre (moyenne = 8 143,4 ; écart-type = 2 542,7).

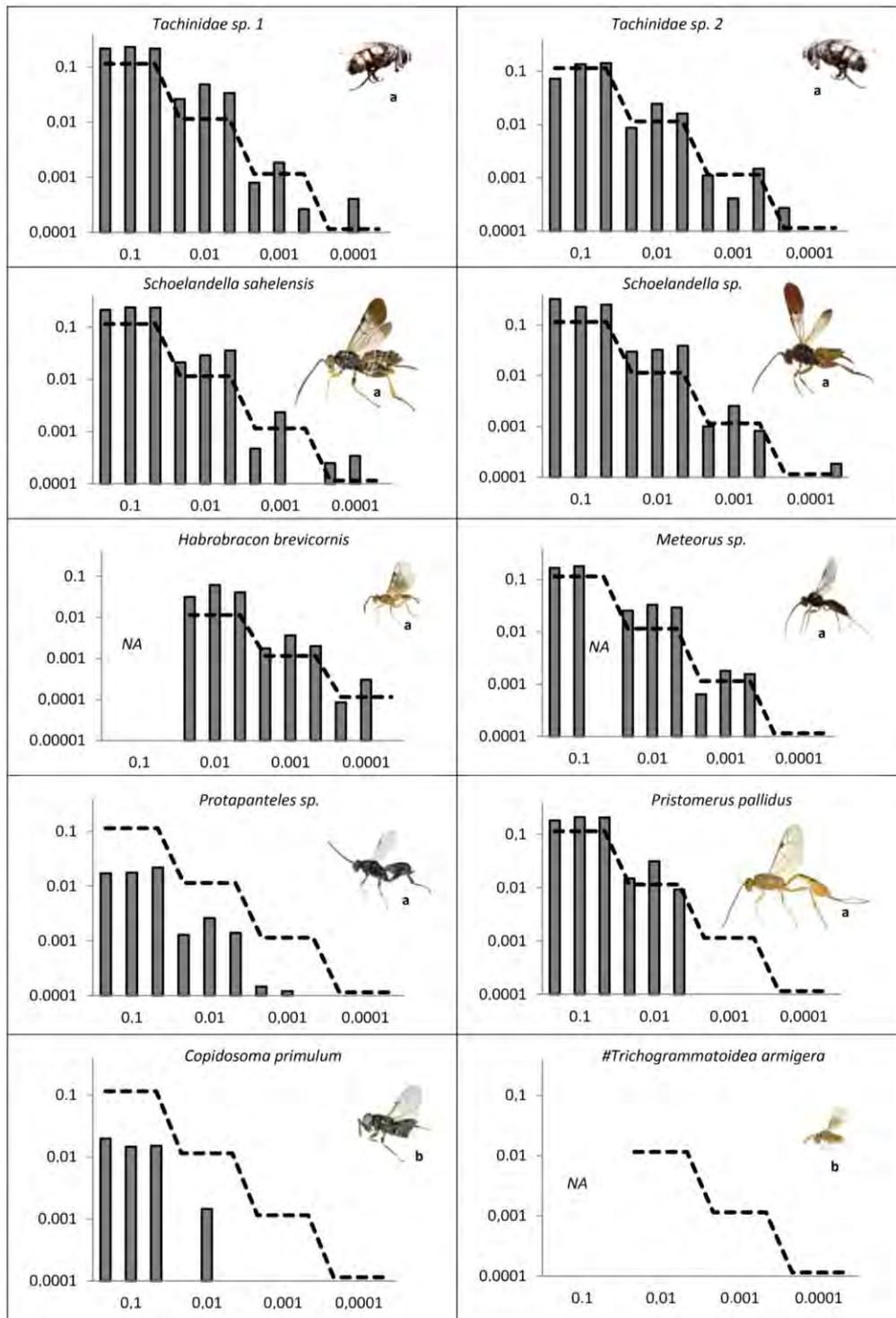
(Les données brutes de séquençage avant et après filtre sont disponibles sur ce lien <https://doi.org/10.5061/dryad.sj6mf40>).

#### III.3.2. Test de dilution de mélange d'ADN hôte–parasitoïdes en condition contrôlé

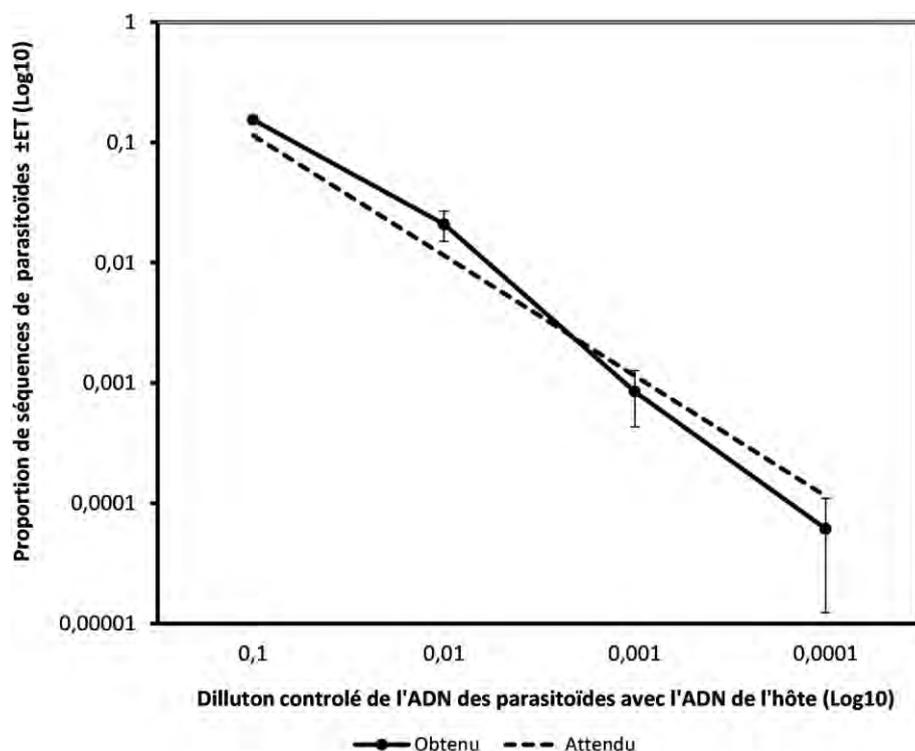
Nous avons évalué le taux de détection de l'ADN de 10 espèces de parasitoïdes mélangés à différentes concentrations avec l'ADN hôte. Toutes les espèces parasitoïdes ont été détectées à l'exception du parasitoïde des œufs *Trichogrammatoidea armigera* (Fig. 7). Nous avons

découvert un mismatches critique entre la séquence de référence de ce parasitoïde et l'extrémité 3' (reverse) de l'amorce.

Dans l'ensemble, il y avait une forte concordance entre la proportion de séquences de parasitoïdes observées et l'abondance de l'ADN parasitoïde par rapport à la quantité d'ADN hôte (Fig. 8). Le nombre de séquences obtenues entre réplicats techniques était remarquablement stable. En considérant les échantillons positifs avec au moins deux des trois répliques techniques positives, le seuil de détection était de 0,07 ng d'ADN de parasitoïde pour 56 ng d'ADN de l'hôte (c-à-d., une abondance relative d'ADN  $\sim 0,001$ ) pour sept des neuf espèces parasitoïdes testées (à savoir, *Habrobracon hebetor*, *Schoelandella* sp., *Meteorus* sp., *Schoelandella sahelensis*, *Protapanteles* et les deux espèces de tachinaires non identifiées; Fig. 7). Deux cas d'exceptions ont été obtenus avec *Pristomerus pallidus* et *Copidosoma primulum*, avec un seuil de détection à 0,7 ng et 7 ng d'ADN parasitoïde pour 56 ng d'ADN hôte, respectivement (c-à-d., une abondance relative d'ADN d'environ 0,01 et 0,1, respectivement). Avec des abondances relatives élevées (0,1 et 0,01), les proportions de séquences pour les parasitoïdes étaient plus importantes que prévu, sauf pour *C. primulum* et *Protapanteles* sp. (Figs. 7 et 8). Au seuil de détection (0,001), l'ADN des parasitoïdes étaient légèrement sous-estimé par rapport à l'ADN de l'hôte qui par effet de compétition était probablement sur-amplifié par le PCR (Fig. 8).



**Figure 7:** Proportion de séquences parasitoïdes observées par metabarcoding (axe des ordonnées) des dilutions contrôlées de l'ADN de parasitoïde dans l'ADN de l'hôte (axe des abscisses) pour chacune des 10 principales espèces de parasitoïdes. Pour chaque espèce de parasitoïde, nous avons mélangé 7, 0,7, 0,07 ou 0,007 ng de son ADN à 56 ng d'ADN de l'hôte, *Heliocheilus albipunctella*. La courbe en tiret représente le résultat attendu. Les axes sont en échelle logarithmique. Les trois barres par dilution représentent les trois répliquats techniques de la PCR. NA: les données ne sont pas disponibles en raison d'un manque de disponibilité de l'ADN du parasitoïde. #: Mismatche (en gras) ont été trouvés entre la séquence de référence de parasitoïdes (5'-CATGCTTTTTTAATAATTTTTTTTTTTGT-3') et l'extrémité 3' de l'amorce universelle (MG-R: 5'-ACTATAAAARAAAYTATDAYAAADGCRTG -3'). L'échelle des images de parasitoïdes est: a) 300 µm pour une longueur de 0,5 cm, b) 200 µm pour une longueur de 0,2 cm.

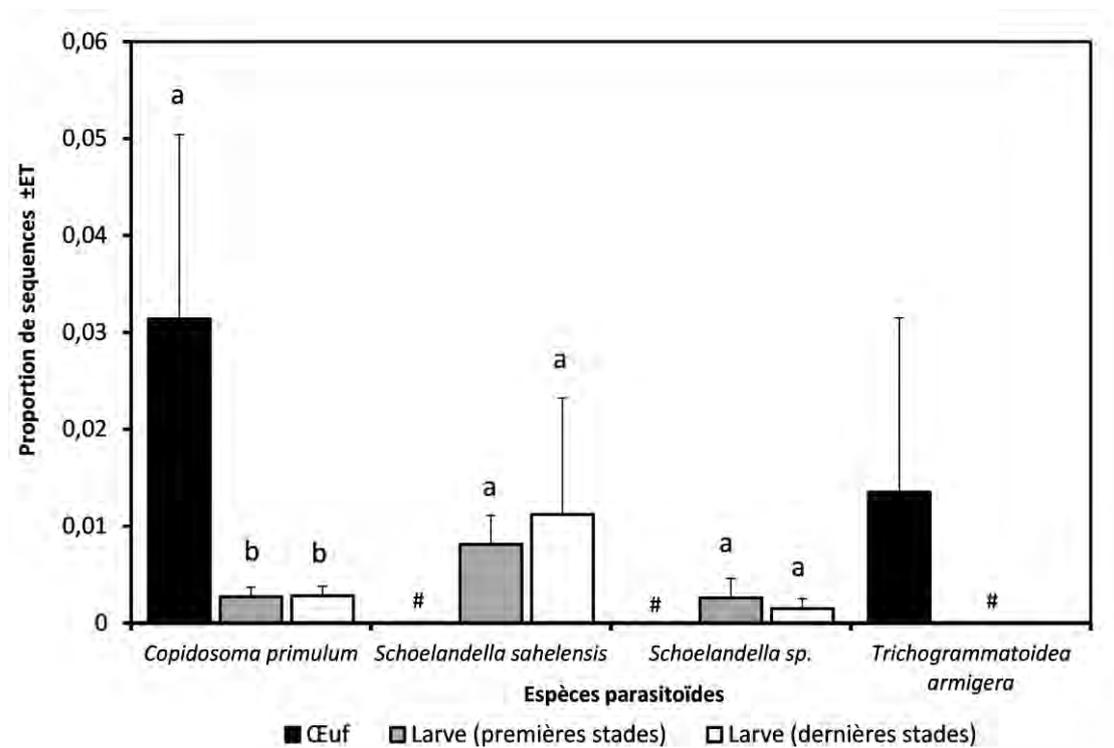


**Figure 8 :** Proportion moyenne de séquences de parasitoïdes observées par metabarcoding (axe des ordonnées) des dilutions contrôlées de l'ADN parasitoïde dans l'ADN de l'hôte (axe des abscisses) sur les 10 principales espèces de parasitoïdes. Pour chaque espèce de parasitoïde, nous avons mélangé 7, 0,7, 0,07 ou 0,007 ng de son ADN à 56 ng d'ADN de l'hôte (*Heliocheilus albipunctella*). Les barres représentent l'écart type. La droite en tiret représente le résultat attendu. La droite pleine représente le résultat obtenu. Les axes sont en échelle logarithmique.

### III.3.3. Détection de parasitoïdes dans des œufs et larves collectés sur le terrain

Quatre espèces de parasitoïdes ont été identifiées avec une similarité de 100% avec notre base de données de référence, à savoir *T. armigera* (Trichogrammatoidae), *C. primulum* (Encyrtidae) et les deux espèces cryptiques *S. sahelensis* et *Schoelandella* sp. (Braconidae). La proportion de séquences de *T. armigera* dans les œufs parasités était de  $0,0136 \pm 0,0187$  ( $n = 2$ ). La proportion de séquences de *C. primulum* était plus élevée au niveau des œufs parasités ( $0,032 \pm 0,020$ ,  $n = 58$ ) par rapport aux larves parasitées de stade précoce ( $0,003 \pm 0,002$ ,  $n = 18$ ) et tardif ( $0,003 \pm 0,002$ ,  $n = 26$ ) ( $t = 2,8$ ,  $df = 252,4$ ,  $P = 0,006$ ). La différence

de proportions de séquences de *S. sahelensis* entre les larves parasitées de stade précoce et tardif n'était pas significative, avec respectivement  $0,008 \pm 0,003$  ( $n = 36$ ) et  $0,011 \pm 0,013$  ( $n = 40$ ) ( $t = -1,21$ ,  $df = 159,41$  ;  $P = 0,228$ ). Aucune différence significative n'a été observée entre les larves de stade précoce et tardif parasitées par *Schoelandella* sp., avec respectivement  $0,003 \pm 0,002$  ( $n = 10$ ) et  $0,002 \pm 0,001$  ( $n = 7$ ) ( $t = -0,41$ ,  $df = 261,81$ ,  $P = 0,680$ ) (Fig. 9).



**Figure 9 :** Proportion des séquences de quatre espèces de parasitoïdes observées via metabarcoding à partir de 197 échantillons de la mineuse de l'épi de mil, *Heliocheilus albipunctella* à différents stades de développement (œufs, larves de 1–2<sup>ème</sup> stade, larves de 3–4<sup>ème</sup> stade). *Trichogrammatoidea armigera* est un parasitoïde des œufs; *Copidosoma primulum* est un parasitoïde ovo–larvaire; *Schoelandella sahelensis* et *Schoelandella* sp. Sont des parasitoïdes larvaires. Les barres d'erreurs sont représentées par des écart–types. # : Pas de données.

### III.3.4. Détection de parasitoïdes: Comparaison entre élevage et metabarcoding

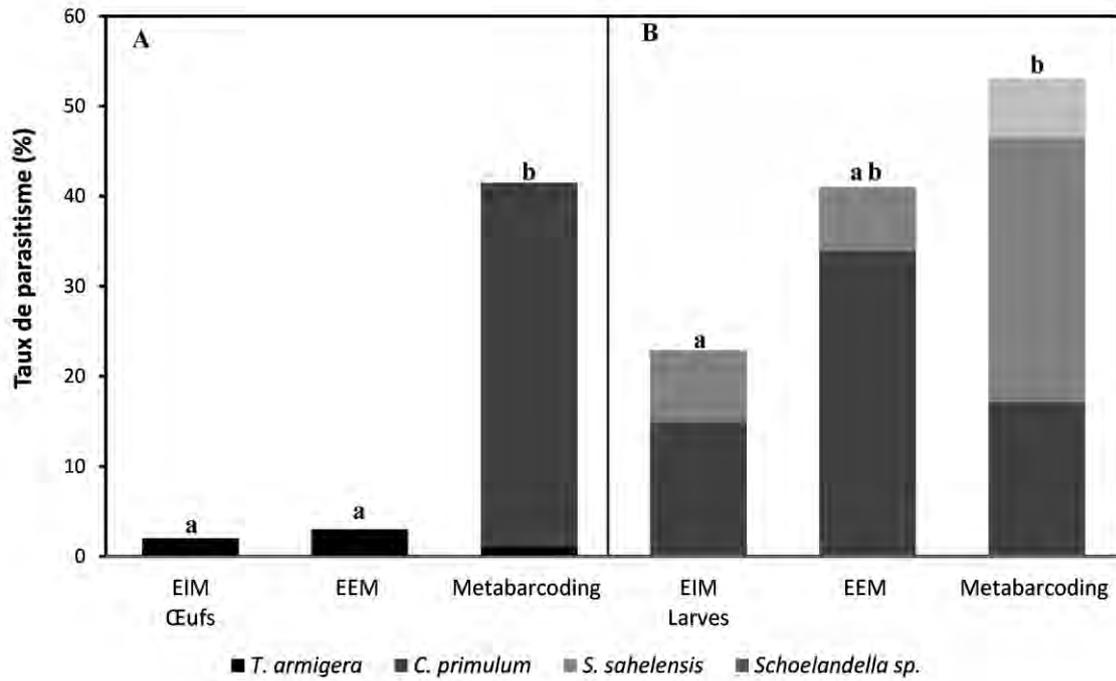
#### III.3.4.1. Taux de parasitisme global

Un taux de mortalité élevé des œufs (moyenne de 31,5%, variant entre 11,4–45,5) et des larves (moyenne de 56,3%, variant entre 52,5–59,7) élevés en laboratoire, a été enregistré. Le taux de parasitisme des œufs obtenu par l'élevage était significativement plus bas (moyenne de 3,0% avec une variabilité entre parcelles 2,0–3,0%, ou 2,3% variant entre 0–3,3%, quand on prend en compte ou pas la mortalité sur le calcul du taux de parasitisme, respectivement) que ce obtenu en metabarcoding (moyenne de 42,0%, variant entre 18,2–58,8%) ( $F = 68,8$  ;  $df = 1$  ;  $P < 0,001$ ) (Fig. 10A). Le taux de parasitisme larvaire obtenu par metabarcoding a été plus élevé (moyenne de 48,8%, variant entre 40,7–56,1%), que celui obtenu en élevage (moyenne de 22,1%, variant entre 16,7–26,9%) ( $F = 21.61$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0.001$ ), cependant il n'y a pas eu de différence significative entre le metabarcoding et élevage en tenant compte de la mortalité dans le calcul (moyenne =39,3%, variant entre 21,4–48,3%) ( $F = 2,99$  ;  $df = 1$  ;  $P = 0,085$ ) (Fig. 10B). Le taux de parasitisme global estimé par metabarcoding a été significativement plus élevé à Nioro qu'à Bambey, avec respectivement 55,0 et 37,5% ( $F = 12.65$ ,  $df=1$ ,  $P < 0.001$ ), cependant il n'y a pas de différence significative entre les deux sites via l'élevage ( $F = 0.019$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0.89$ ), avec 18,2 et 16,8%, respectivement à Bambey et Nioro (Fig. 11). Du multiparasitisme a été observé en moyenne sur 1,4% (0–6,0) des œufs et 7,9% (0–16,0) de larves analysées par metabarcoding.

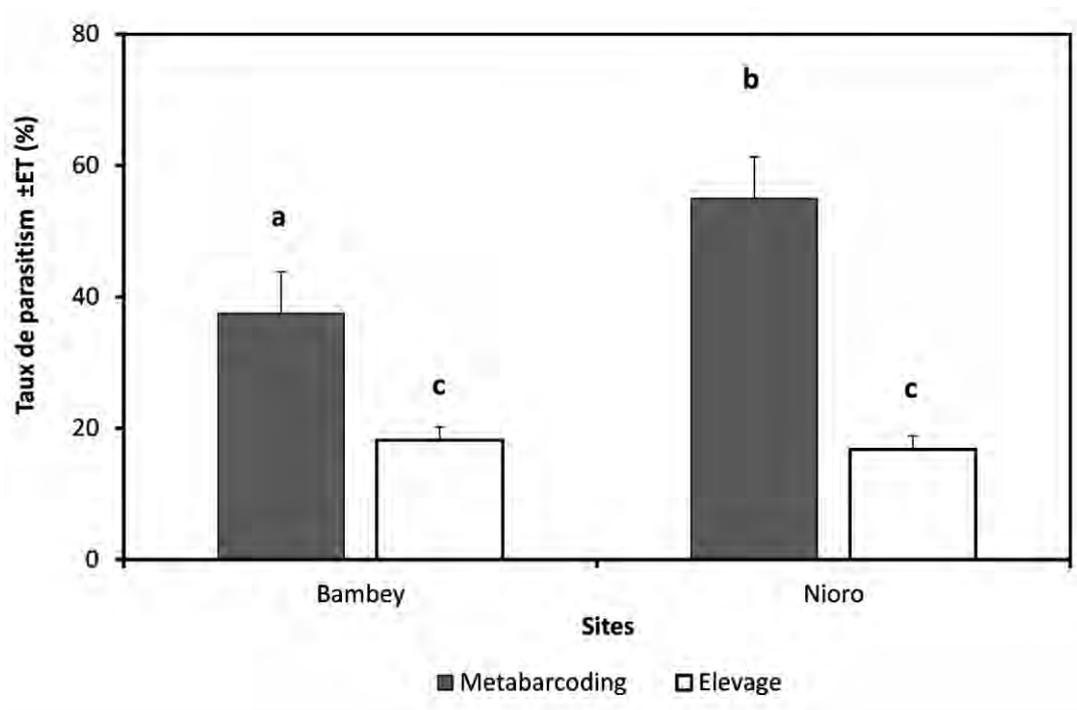
#### III.3.4.2. Taux de parasitisme par espèces parasitoïdes

Les proportions moyennes d'œufs parasités par *T. armigera*, le parasitoïde principal d'œufs de la MEM, a été faibles et pas de différence significative entre l'élevage et le metabarcoding (2,5% et 1,0% respectivement;  $F = 1,02$  ;  $df = 1$  ;  $P = 0,313$ ) (Fig. 10A). Cependant, pour cette espèce, la comparaison entre les deux méthodes a été remise en cause par l'existence

d'un mismatche sur l'extrémité 3' en position reverse de l'amorce, un biais qui fait que le metabarcoding ne détectait pas bien la séquence de ce parasitoïde. *C. primulum* a été un parasitoïde majeur avec 40,5% (18,2–55,9) d'œufs parasités et 17,1% (11,9–22,7) de larves parasitées par metabarcoding. La prévalence de *C. primulum* estimée par l'élevage était nulle sur les œufs et s'élevée en moyenne à 22,3% (6,1–44,8) sur les larves parasitées. En excluant la mortalité dans le calcul du taux de parasitisme, la prévalence de *C. primulum* sur les larves de la MEM a été plus élevée (33,9%, variant de 14,3–44,8) en l'élevage qu'en metabarcoding ( $F = 39,2$  ;  $df = 1$  ;  $P < 0,001$ ). La prévalence de *S. sahelensis* a été significativement plus élevée par metabarcoding (29,4%) qu'en élevage (7,1 et 8,0%, en tenant compte ou non de la mortalité dans le calcul) ( $F = 4,531$  ;  $df = 2$  ;  $P < 0,0111$ ). (Fig. 10B)



**Figure 10:** Comparaison entre metabarcoding (n = 400) et l'élevage (n = 400) pour estimer le taux parasitisme de chaque espèce de parasitoïdes à partir de spécimens de la mineuse collectés au champ. Parasitisme des œufs (A) et des larves (B). EIM (Elevage Incluant la Mortalité): Taux de parasitisme calculé en incluant les œufs non-éclosent et les larves mortes. EEM (Elevage Excluant la Mortalité): Taux de parasitisme calculé en excluant les œufs non-éclosent et les larves mortes.



**Figure 11 :** Taux de parasitisme global de la mineuse de l'épi de mil, estimés par metabarcoding (gris) et l'élevage (blanc) entre Bambey et Nioro.

### III.4. Discussion

Comprendre les interactions hôte–parasitoïde nécessite de pouvoir estimer avec précision le taux de parasitisme et d'identifier les espèces de parasitoïdes impliquées . Les approches moléculaires, comparés aux méthodes traditionnelles, peuvent fournir plus d'informations pour mieux comprendre les interactions entre les espèces hôtes ou proies et leurs ennemis naturels respectifs, à savoir les parasitoïdes (Šigut *et al.*, 2017; Wirta *et al.*, 2014) et les prédateurs (Paula *et al.*, 2016). Une meilleure compréhension de ces interactions est la base fondamentale pour le succès des programmes de lutte biologique basés sur l'introduction ou l'amélioration du 'fitness' des parasitoïdes (DeBach et Rosen, 1991; Fisher *et al.*, 1999; Parrella *et al.*, 1992). Dans ce chapitre nous avons montré que l'évaluation des interactions hôte–parasitoïde via le metabarcoding est une approche fiable pour renforcer notre connaissance sur la diversité spécifique et fonctionnelle des parasitoïdes d'insectes ravageurs dans un agroécosystème, et que cette approche se révèle plus efficace que l'élevage de l'hôte au laboratoire.

Des études récentes ont montré l'efficacité du metabarcoding de l'ADN pour identifier les individus impliqués dans les interactions hôte–parasitoïde à différents niveaux trophiques (Kitson *et al.*, 2018; Sow *et al.*, 2018), par rapport aux Barcoding standard et aux approches morphologiques (Šigut *et al.*, 2017). Cependant, la sensibilité (seuil de détection) de cette méthode a été peu étudiée, notamment en ce qui concerne l'importance de mieux prendre en compte les biais de PCR pour un diagnostic précis et fiable du parasitisme. Nos résultats ont montré que les amorces universelles (voir Galan *et al.* 2018) utilisées en metabarcoding dans le cadre de cette étude, ont été très efficaces pour la détection de l'ADN parasitoïde même lorsqu'elles étaient présentes en très faible quantités dans les tissus de l'hôte. Sous conditions contrôlées, nous avons pu détecter l'ADN de sept espèces parasitoïdes jusqu'à un taux de

dilution de 0,001. Pour les deux cas d'exception (excluant *T. armigera* qui avait un mismatch sur l'extrémité 3' en position reverse de l'amorce), les seuils de détection étaient de 0,1 ou 0,01. Le mismatch décelé sur nos amorces a été déjà observé en le metabarcoding des communautés d'arthropodes dans d'autres études, qui semble être spécifique pour certaines groupes hyménoptères (Galan *et al.*, 2018; Piñol *et al.*, 2014). Par conséquent, un taux de dilution de 0,1 a permis une détection systématique de l'ADN des parasitoïdes dans notre système. Ces ratios étaient supérieurs aux ratios de séquences de parasitoïdes obtenus pour les échantillons de terrain (moyenne = 0,006, variabilité 0,001–0,01). Compte tenu de l'absence de biais de PCR majeur (mis en évidence dans les tests de dilution), il est raisonnable de supposer que ces ratios correspondent au rapport des tissus de parasitoïdes dans une larve de la MEM en condition naturelle. Par conséquent, nous supposons qu'il y a peu de risque de manquer des parasitoïdes dans les œufs et les larves de l'hôte collectés sur le terrain. Liang *et al.* (2015), ont obtenu des résultats similaires en utilisant la qPCR, avec un seuil de détection de 0,25 ng d'ADN de parasitoïde [*Fopius arisanus* (Sonan)] dans 40 ng d'ADN hôte [*Bactrocera dorsalis* (Hendel)], pour un taux de dilution de ~ 0,006. En plus, notre seuil de détection semble être suffisamment sensible pour détecter tous les stades de développement de nos parasitoïdes, y compris les stades embryonnaires. Ce point est essentiel pour estimer le taux de parasitisme par metabarcoding, car il suggère que même les premiers stades des parasitoïdes (stade œuf) peuvent être efficacement détectés.

Le metabarcoding a pu détecter des tissus parasitoïdes contenus dans l'hôte pour la plupart des espèces parasitoïdes testées, mais deux cas étaient problématiques, probablement lié à la compétition due à un biais de PCR ou à une erreur de manipulation. La compétition liée au biais de PCR entre les lépidoptères et les hyménoptères n'était pas apparente, sauf pour le parasitoïde des œufs *T. armigera*, qui présentait un mismatch avec l'amorce EPT–MG–R (voir Galan *et al.*, 2018 et légende Fig. 6). Bizarrement, bien que l'ADN de *T. armigera* n'ait

pas été détecté dans nos mélanges d'ADN sous conditions contrôlées avec l'ADN hôte, cette espèce a été détectée dans les œufs prélevés au champ à un faible taux (1%). En outre, dans ces cas de détection, l'ADN de la MEM n'a pas été amplifié du tout (c-à-d., zéros séquences). Cela indique que seuls les stades de développement très avancés du parasitoïdes d'œufs (c-à-d., les stades tardifs) peuvent être détectés, par conséquent les échantillons positifs observés en metabarcoding sont probablement ceux dont le tissu parasitoïde est très abondant dans l'hôte et que des faux négatifs sont possible pour des échantillons contenant du tissu parasitoïde en faible abondance dans l'hôte.

Cette limite du metabarcoding peut entraîner une sous-estimation du taux de parasitisme des œufs par *T. armigera*. Cependant, il peut être facilement corrigé en utilisant une dégénérescence de base pour la position problématique au niveau de l'amorce reverse. L'échec de la validation du seuil de détection (test de dilution) pour *C. primulum* est probablement lié au mismach cette fois-ci en 5', beaucoup moins grave que celle en 3' mais qui pourrait expliquer en partie le faible succès de cette espèce.

De plus en plus, l'approche moléculaire du metabarcoding constitue une alternative prometteuse aux méthodes conventionnelles dans le diagnostic du parasitisme. Dans notre cas d'étude, parmi le complexe de dix espèces de parasitoïdes recensées sur la MEM, quatre espèces ont été détectées par metabarcoding, dont deux cryptiques (*S. sahelensis* et *Schoelandella* sp.); et trois par élevage (*T. armigera*, *C. primulum*, *S. sahelensis*). Ces espèces sont des parasitoïdes clés de la MEM, c'est-à-dire des espèces dominantes et omniprésentes inventoriées par Sow *et al.* (2018).

L'approche metabarcoding a fourni des estimations du taux de parasitisme significativement plus élevées comparé à l'élevage, dans les deux sites d'échantillonnage (en excluant la mortalité dans le calcul). Pas de différence significative entre metabarcoding et

élevage lorsqu'on inclut la mortalité dans le calcul. Cette information est intéressante car elle suggère qu'une grande partie de la mortalité des larves de l'hôte est probablement liée au parasitisme. En metabarcoding, nous avons détecté deux espèces de parasitoïdes, *C. primulum* et *T. armigera*, dans les œufs de la MEM, alors qu'en élevage seule *T. armigera* a été obtenue. Ceci était prévisible car *C. primulum*, qui est un endoparasitoïde ovo-larvaire, parasite son hôte au stade de l'œuf, mais les parasitoïdes adultes émergent qu'aux derniers stades. Cependant, même si ce parasitoïde domine largement le parasitisme des œufs en metabarcoding, il n'a pas d'impact direct sur la mortalité des œufs. Les mismatches détectés en 3 'sur *T. armigera* nous ont empêchés de faire une comparaison entre metabarcoding et l'élevage pour cette espèce. Néanmoins, le taux de parasitisme dû à cette espèce a été globalement faible (<4%).

Le taux de parasitisme larvaire obtenu par l'élevage était probablement sous-estimé en raison de la mortalité des larves et des parasitoïdes dans l'hôte. La mortalité des larves d'hôte est une contrainte majeure pour une estimation précise et reproductible du taux de parasitisme par l'élevage au laboratoire (Ashfaq *et al.*, 2004; Gariépy *et al.*, 2014). Dans ce cas, le metabarcoding est utile pour estimer le taux de parasitisme, car il permet de détecter des parasitoïdes (vivantes ou mortes) dans l'organisme hôte (Liang *et al.*, 2015). Par exemple, si nous prenons le cas de *S. sahelensis*, qui est détecté dans les deux méthodes (metabarcoding et élevage), et que son seuil de détection ( $\sim 0,001$ ) est suffisamment bas pour détecter tous les stades du parasitoïde. En metabarcoding la proportion de larves de la MEM parasitées par cette espèce a été quadruplée par rapport à l'élevage. En plus, ce parasitoïde domine largement le parasitisme larvaire par rapport au *C. primulum*, en metabarcoding. En revanche, la proportion de larves hôtes parasitées par *C. primulum* a été nettement supérieure à celle de *S. sahelensis* en élevage. Par conséquent, le metabarcoding est très efficace pour estimer «quantitativement» l'impact de chaque espèce de parasitoïde impliquée dans la régulation

naturelle du ravageur. Cependant, il ne prédit pas la survie des parasitoïdes face aux mécanismes de défense de l'hôte.

Nos résultats ont également montré que le taux de parasitisme global estimé par metabarcoding a été significativement plus élevé à Nioro qu'à Bambey, alors qu'aucune différence n'a été observée entre les deux zones en élevage. Ce qui constitue un atout considérable pour mieux étudier les interactions hôtes–parasitoïdes, et par conséquent de mieux apprécier l'impact des facteurs environnementaux et du paysage sur la régulation naturelle du ravageur (Ibrahiam Thiaw *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2016; Rusch *et al.*, 2013; Veres *et al.*, 2013). Il est probable que la zone de Nioro possède un type de végétation typique qui présente de nombreuses plantes spontanées qui pourraient servir de réservoir d'hôtes alternatives aux ennemis naturels. Ceci pourrait expliquer les fort taux de parasitisme observés dans cette zone. Nous avons ainsi montré que l'approche du metabarcoding de l'ADN peut être plus précise et fiable pour la comparaison du parasitisme entre différents contextes agroécologiques.

Dans ce chapitre, l'approche metabarcoding nous a également permis de détecter deux espèces cryptiques ou espèces en cour de spéciation génétique, *S. sahelensis* et *Schoelandella* sp., et de mesurer leurs fréquences respectifs. *S. sahelensis* a joué un rôle plus important que *Schoelandella* sp., sur le parasitisme des larves de la MEM, et la proportion de séquences de *S. sahelensis* a été plus important sur les larves âgées comparé à *Schoelandella* sp. Ceci suggère que les larves *S. sahelensis* se développent plus rapidement que les larves de *Schoelandella* sp., et par conséquent tuent leurs hôtes plutôt en limitant ainsi la longueur des galeries. En plus, nous avons montré dans une étude précédente que le complexe d'espèce de *Schoelandella* spp., parasitaient également *Masalia nubila* et *Helicoverpa armigera*, deux ravageurs secondaires du mil (Sow *et al.*, 2018). En considérant que *Schoelandella* sp., a été

peu abondant sur la MEM comparé à *S. sahelensis*, nous supposons que *Schoelandella* sp., est plutôt généraliste (plusieurs hôtes) et utilise la MEM comme hôte alternative. Le complexe d'espèces cryptiques est généralement ignoré en l'élevage (Smith *et al.*, 2008), alors qu'ils sont largement rencontrés chez les hyménoptères parasites (Derocles *et al.*, 2016).

La compétition entre espèces au sein d'un hôte commun est un aspect fondamental de la survie d'une espèce parasitoïde (Amarasekare, 2000; Fisher, 1961; Hagvar, 1988; Quicke, 2014). La compétition interspécifique entre parasitoïdes peut avoir un impact négatif sur la lutte biologique contre une espèce ravageur, en affectant le maintien ou l'efficacité des espèces de parasitoïdes (Yang *et al.*, 2013). Cette étude a mis en évidence plusieurs cas de multiparasitisme et de compétition pour les ressources entre les espèces de parasitoïdes. Cette compétition interspécifique a été observée entre plusieurs couples d'espèces: *C. primulum* contre *T. armigera* dans les œufs de la MEM (fréquence = 0,009) et *C. primulum* contre deux espèces cryptiques de *Schoelandella* au niveau des larves (fréquence = 0,05). La compétition interspécifique entre *C. primulum* et *T. armigera* peut expliquer en partie les faibles taux de parasitisme des œufs par *T. armigera* observés lors de l'élevage. En situation de compétition au sein d'un même hôte, les larves de *C. primulum* pourraient développer des mécanismes de défense contre les œufs ou les larves de *T. armigera*. Strand *et al.* (1990) ont montré qu'en situation de multiparasitisme entre le parasitoïde poly-embryonnaire *Copidosoma floridanum* Ashmead (Encyrtidae) et l'endoparasitoïde solitaire *Microplitis demolitor* Wilkinson (Braconidae) au sein d'un même hôte *Pseudoplusia includens* Walker (Noctuidae), la plupart des hôtes multi-parasités ont produit des adultes de *C. floridanum* ou sont morts sans émergence de parasitoïdes. Ceci peut aussi expliquer en partie le taux élevé de mortalité des larves obtenu par l'élevage, probablement liée à la compétition de multiparasitisme accrue entre nos différentes espèces de parasitoïdes. Dans l'avenir, il serait intéressant et original d'analyser en metabarcoding les individus morts lors de l'élevage au laboratoire pour vérifier,

(1) s'ils étaient parasités et (2) si oui, quelle espèce de parasitoïde provoque le plus de mortalité.

Bien que le metabarcoding permet de mieux décrire les assemblages et l'importance des parasitoïdes chez les larves de l'hôte, cette approche souffre encore de certaines limites pour déchiffrer les détails de certaines relations entre les parasitoïdes. Par exemple, il ne permet pas de prédire l'issue de la compétition entre les espèces de parasitoïdes: si les espèces se neutralisent ou si une espèce donnée a plus tendance à tirer profit de cette compétition (plus compétitif) (Fisher, 1961). En effet, la détection d'un parasitoïde chez un hôte n'indique pas nécessairement sa survie jusqu'au stade adulte (Garipey *et al.*, 2008). Les informations sur les caractéristiques biologiques telles que le comportement solitaire ou grégaire des espèces de parasitoïdes (compétition intraspécifique) sont également difficiles à obtenir car les séquences de parasitoïdes amplifiés ne permettent pas d'évaluer le nombre de spécimens parasitant une larve hôte. En plus, en metabarcoding, la détection simultanée de différentes séquences de parasitoïdes ne fournit pas d'informations sur la nature de la compétition entre les espèces de parasitoïdes; à savoir s'il s'agit de l'hyperparasitisme ou du multiparasitisme, sans connaissance préalables de la biologie des espèces impliquées. Pour tous ces points, l'estimation des caractéristiques biologiques des parasitoïdes via le metabarcoding pourra plus efficace que s'il est associé avec des méthodes conventionnelles telles que l'élevage.

### **III.5. Conclusion**

Nos résultats ont montré que le metabarcoding peut considérablement améliorer notre compréhension des interactions hôte–parasitoïde et du taux de parasitisme des ravageurs des cultures. Cette approche est très sensible car l’ADN des parasitoïdes peut être détecté avec succès même en mélange en très petites quantités avec l’ADN hôte. Même si une amélioration des amorces universelles est encore nécessaire pour améliorer la couverture des espèces de parasitoïdes, cette étude montre que le metabarcoding permet (i) évaluer plus précisément et de manière fiable le niveau de parasitisme d’un ravageur de culture dans des contextes agroécologiques contrastés, y compris la richesse et la diversité spécifiques de la communauté parasitoïde, et de (ii) mieux évaluer le multiparasitisme et les espèces cryptiques, qui ne sont pas nécessairement détectées par les méthodes d’élevage. Cette approche moléculaire devrait être combinée aux méthodes d’élevage pour mieux comprendre les interactions hôte–parasitoïde (en particulier la compétition) et les traits bio–écologiques des espèces de parasitoïdes et identifier les espèces les plus efficaces pour développer des programmes de lutte biologique par conservation.

## **Chapitre IV :**

Identification des prédateurs arthropodes et vertébrés de la mineuse de l'épi de mil, par metabarcoding

**Article 3.**

**Identification of arthropod and vertebrate generalist predators and their interactions by metabarcoding: in a millet agro-ecosystem.**

Ahmadou Sow, Thierry Brévault, Laure Benoit, Marie–Pierre Chapuis, Maxime Galan, Armelle Cœur d’Acier, Gérard Delvare, Mbacké Sembène, Julien Haran.

*Soumis dans **Basic and Applied Ecology***

## IV.1. Introduction

La prédation des insectes nuisibles par les prédateurs généralistes, notamment les arthropodes et les vertébrés, est une composante majeure de la lutte biologique (Symondson *et al.*, 2002). Un trait particulièrement important chez les prédateurs généralistes (en particulier les prédateurs indigènes) est qu'ils capablent de coloniser les champs en début de saison en se nourrissant de proies alternatives et en augmentant ainsi leurs populations avant l'arrivée du ravageur cible (Landis et Werf, 1997; Harwood et Obrycki, 2005; Harwood *et al.*, 2007). Cependant, l'ampleur de leur régime «généraliste», tels que la prédation intraguild, présente certains inconvénients sur la régulation contre les ravageurs (Furlong 2015; Jonsson, Wratten, Landis, & Gurr 2008; Symondson *et al.* 2002). Un diagnostic précis de l'ampleur et de la préférence alimentaire chez les prédateurs généralistes, y compris la prédation de proies non nuisibles, est nécessaire pour mieux comprendre les processus écologiques impliqués dans les réseaux trophiques (par exemple, la concurrence d'exploitation et la concurrence apparente) et finalement identifier les facteurs clés impliqués dans le contrôle biologique des ravageurs dans les agro-écosystèmes. Cependant, l'importance des prédateurs généralistes dans le réseau trophique n'est pas facilement accessible en raison de la nature éphémère des interactions entre prédateur et proie (Furlong 2015; Pompanon *et al.* 2012). La seule preuve concluante de la prédation est l'observation directe de la consommation de proies par un prédateur ou l'identification des résidus de proies dans l'intestin des prédateurs (Furlong 2015) ou de fèces (Bohmann *et al.* 2011).

Le metabarcoding via le séquençage à haut débit (HTS) a révolutionné nos approches sur l'évaluation et la compréhension de la biodiversité (Taberlet *et al.*, 2012) et offre des possibilités plus innovantes pour étudier le régime alimentaire des prédateurs par analyse des fèces (vertébrés) (Galan *et al.*, 2018) ou de contenu digestif (arthropodes) (Pompanon *et al.*, 2012). Comparer aux méthodes traditionnelles, le développement du metabarcoding permet

désormais aux chercheurs de mesurer les liens trophiques sans connaître a priori les espèces consommées et de déterminer le régime alimentaire de chaque individu. Puisqu'il permet de caractériser rapidement et en une seule réaction PCR un très grand nombre d'espèces présentes dans un échantillon environnemental et d'analyser simultanément plusieurs centaines d'échantillons (Taberlet *et al.*, 2012). De nos jours, ces méthodes sont de plus en plus utilisées pour explorer la diversité fonctionnelle des réseaux trophiques dans des agro-écosystèmes (Firlej *et al.*, 2013; Kartzinel *et al.*, 2015; Lopes *et al.*, 2015; Mollot *et al.*, 2014; Paula *et al.*, 2016).

L'objectif de ce chapitre est de reconstituer le réseau trophique qualitatif associé à la MEM, à partir de collecte de prédateurs généralistes d'un ravageur de cultures. La mineuse de l'épi de mil (MEM) (*Heliocheilus albipunctella* de Joannis) est le principal ravageur du mil en Afrique subsaharienne (Gahukar, 1984; Sow *et al.*, 2018; Vercambre, 1978). Les pertes de rendements dues à ce ravageur (~ 80% d'épi attaqués dans le bassin arachidier au Sénégal, voir Sow *et al.*, 2017) sont fortement atténuées par les ennemis naturels (Bhatnagar, 1987; Gahukar, 1984; Nwanze et Sivakumar, 1990; Sow *et al.*, 2018), qui en font un modèle pertinent pour explorer la biodiversité fonctionnelle impliquée dans les réseaux trophiques et la lutte biologique. Afin de promouvoir une lutte biologique efficace contre la MEM dans les agroécosystèmes à base de mil, les prédateurs sont probablement une composante majeure de cette régulation. Il est donc essentiel d'améliorer nos connaissances sur les interactions entre ces espèces prédatrices et leurs proies (ravageurs ou non) et mesurer avec précision leurs impacts. Cependant, si les espèces parasitoïdes de la mineuse ont été largement documenté (Ba *et al.*, 2013; Sow *et al.*, 2018), en ce qui concerne les prédateurs arthropodes de la MEM, les études restent purement spéculatives. Sow *et al.* (2018) ont identifié des prédateurs arthropodes potentiels dans une base de données de référence barcode à partir de spécimens d'arthropodes prélevés sur le terrain. À l'exception des larves de carabes, qui ont été observées

prédater des larves de la MEM sur des épis de mil, il n'y avait aucune preuve absolue que les autres espèces échantillonnées étaient des prédateurs efficaces de ce ravageur. D'autres observations sur le terrain dans la même zone ont également montré que des vertébrés tels que le tisserin gendarme, *Ploceus cucullatus* (Passeriformes, Ploceidae) et le taphien de maurice, *Taphozous mauritianus* (Chiroptera, Emballonuridae), étaient des prédateurs potentiels de la MEM. C'est pourquoi la MEM est un modèle pertinent pour explorer la contribution de la biodiversité fonctionnelle des prédateurs dans la lutte biologique. Le metabarcoding a été utilisé pour analyser le contenu intestinal et les fèces d'arthropodes et de vertébrés (oiseaux et chauves-souris), respectivement. La pertinence et les limites de l'approche moléculaire proposée pour évaluer l'impact des prédateurs de ravageurs des cultures dans un agro-écosystème donné sont discutées à la lumière des résultats.

## IV.2. Matériel et méthodes

### IV.2.1. Echantillonnage

Des échantillons d'arthropodes et des fèces d'oiseaux et de chauve-souris ont été collectés dans 2 parcelles de mil situées dans la zone de Bambey (14°43'0.79"N ; 16°30'5.56"O), durant la campagne agricole de 2017. Des arthropodes du sol (à savoir les fourmis et les coléoptères) ont été collectés à l'aide des pièges à pitfall placés dans les parcelles de mil à des intervalles de 4 m les uns des autres. Les pitfalls sont ouverts au crépuscule (20h le soir) et les prélèvements sont effectués à l'aube (7h du matin). Les arthropodes volants (perce-oreilles, punaises et araignées) ont été collectés à l'aide de d'aspirateurs entomologique à bouche ou mécanique (D-Vac®).

Au total 267 spécimens ont été collectés représentant 9 espèces d'arthropodes, à savoir une espèce de forficule (*Forficula senegalensis*, Forficulidae), une punaise (*Orius maxidentex*, Anthocoridae), une espèce de carabe (*Bradybaenus scalaris*, Carabidae), trois espèces d'araignées non identifiées et deux espèces de fourmis identifiées au niveau du genre (*Monomorium* et *Pachycondula*). Pour vérifier d'éventuelles contaminations croisées entre espèces prédateurs arthropodes et la MEM au moment de l'échantillonnage sur le terrain, des spécimens d'une punaise phytophage (*Carbula curtana*, Pentatomidae) a été utilisé comme control négatif. Tous les spécimens d'arthropodes ont été immédiatement immergés dans de l'alcool 90° et stockés à -20 ° C pour analyse moléculaire.

Au total 12 échantillons de fèces de chauves-souris (*Taphozous mauritanus*, Emballonuridae), et 30 échantillons de fèces d'oiseaux (*Ploceus cucullatus*, Passeridae) ont été collectés pour l'analyse de régime alimentaire. Les échantillons de fèces ont été collectés individuellement à l'aide d'une bâche en plastique placée sous les arbres où ils nichent. Des fèces d'une espèce de chauve-souris (*Eidolon helvum*, Pteropodidae) phytophage, ont été

utilisées comme control négatif. Les échantillons de fèces ont été collectés individuellement et mis dans des micro-tubes (2 ml) à l'aide de coton-tige propres, puis stockées à la température ambiante avec du silica-gel pour absorber l'humidité et empêcher ainsi le développement de moisissures dans les micro-tubes.

#### IV.2.2. Extraction ADN

L'extraction de l'ADN des spécimens d'arthropodes a été effectuée en utilisant le kit EZ-10 96-well plate DNA Kit (Biobasic Inc., Canada). Toutes les extractions ont été effectuées suivant le protocole du fabricant. Une lyse non destructive par incubation individuelle pendant une nuit dans un mélange de 300 µl de solution de lyse cellulaire animale et 20 µl de protéinase K à 55 ° C sous agitation, a été effectuée.

L'extraction d'ADN des échantillons de fèces a été réalisée à l'aide du kits NucleoSpin 8 Plant II (Macherey-Nagel) conformément aux légères modifications recommandées (Zarzosolacoste *et al.*, 2018). Ce kit offre le meilleur compromis entre l'isolement du débit d'ADN (jusqu'à 192 échantillons en parallèle), le prix et le succès du séquençage du prédateur et de la proie (see, Galan *et al.*, 2018). Tous les échantillons de fèces (n = 47, dont 30 échantillons d'oiseaux et 17 de chauves-souris) ont été congelés à - 80 ° C, broyés pendant 2 × 30 secondes à 30 Hz sur un Tissue Lyser (Qiagen) à l'aide de billes en acier inoxydable de 5 mm, puis extrait.

#### IV.2.3. PCR et séquençage en Illumina

Nous avons amplifié le mini-barcode de 133 pb du *cytochrome c oxydase I* (COI) (Gillet *et al.*, 2015) sur l'ensembles des échantillons d'arthropodes et de fèces en utilisant les amorces et le protocole de séquençage 2-Step PCR (Illumina MiSeq) décrit dans Galan *et al.* (2018). Il a

démontré que ce mini-barcode est très résolutif pour distinguer les espèces de prédateurs de la MEM (Sow *et al.*, 2018) et offre l'avantage d'amplifier l'ADN dégradé des proies. Plusieurs contrôles négatifs (n = 10) ont été inclus, suivant les recommandations dans Galan *et al.* (2016). Nous avons réalisé 3 répliquats techniques sur chaque extrait ADN d'arthropodes et de fèces afin de contrôler la stochasticité des PCR et de valider les résultats positifs (Robasky *et al.*, 2014).

Une première étape d'amplification du court fragment de COI (133 pb) a été réalisée à l'aide d'amorces universelles. (MG-LCO1490 5'-ATTCHACDAAYCAYAARGAYATYGG-3' et MG-R 5'-ACTATAAAARAAAYTATDAYAAADGCRTG-3') modifier au niveau de l'extrémité 5'. Les réactions PCR ont été effectuées dans un volume final de 10 µL contenant 5 µl de Multiplex Master Mix (Qiagen, Hilden, Allemagne), 0,5 µM de chaque amorce et 2 µL d'ADN. Les conditions de PCR de cette première étape consistaient en une dénaturation initiale à 95 ° C pendant 15 minutes, suivies de 40 cycles de dénaturation à 94 ° C pendant 30 s, une hybridation à 45 ° C pendant 45 s et une extension à 72 ° C pendant 30 s, et une dernière étape d'extension à 72 ° C pendant 10 min.

Une seconde étape de PCR a été réalisée pour ajouter des étiquettes de multiplexage spécifiques (appelées index i5 et index i7), constituées de courtes séquences spécifiques à l'échantillon de 8 pb et des adaptateurs Illumina (nommés P5 et P7) aux extrémités 5' de chaque fragment d'ADN amplifié à la première étape de PCR. Après mélange de tous les produits de PCR (multiplexage) pour le séquençage MiSeq, les index vont nous permettre d'identifier l'origine des séquences et de les réassigner à chaque échantillon (démultiplexage). Cette deuxième PCR a été réalisée dans un volume total de 10 µL contenant 5 µl de kit Multiplex (Qiagen, Allemagne), 0,7 µM de chaque amorce et 2 µL de produits de la première PCR pour chaque échantillon. Les conditions de la PCR consistaient en une étape de dénaturation initiale à 95 ° C pendant 15 minutes suivies de 8 cycles de dénaturation à 95 ° C

pendant 40 s, une hybridation à 55 ° C pendant 45 s et une extension à 72 ° C pendant 60 s, et une finale étape d'extension à 72 ° C pendant 10 min.

Le mélange volume à volume de tous les produits de PCR (4 µL par échantillon) a été examiné sur la base de la longueur des fragments résultant de l'excision sur un gel d'agarose à 1,5%. Le pool de produits de PCR spécifiques a été coupé à la taille attendue (328 pb correspondant à la taille de l'amplicon, y compris les amorces spécifiques au gène, les amorces de séquençage, les index et les adaptateurs) sous lumière ultraviolette. La librairie ainsi obtenue a été purifiée avec le kit de purification PCR (Macherey–Nagel, Allemagne), estimée par PCR quantitative (kit KAPA, Kapa Biosciences), puis séquencée sur un séquenceur MiSeq avec un kit 500v2 (Illumina, USA).

Les séquences ont été analysées suivant la même démarche développée dans le **Chapitre III** (voir section Analyses des séquences). Pour chaque séquences de prédateur identifié, le nombre de séquences obtenu dans un échantillon de PCR a été converti en information binaire (présence / absence) et les échantillons ont été considérés comme positifs si les deux triplicats techniques sur trois sont positif pour une espèce de proie donnée.

### IV.3. Résultats

#### IV.3.1. Séquençage et identification taxonomique

Nous avons effectué un séquençage en Illumina MiSeq de 314 échantillons (267 arthropodes, 30 fèces d'oiseaux et 17 fèces de chauve-souris). Au total, 4 999 279 séquences ont été générées (moyenne = 534,57, écart-type = 18 314,40) et, après filtrage, il restait 4 869 552 séquences (moyenne = 1 323,97; écart-type = 28 763,37). Un total de 2 362 clusters et de 111 clusters non identifiés correspondant à des séquences incohérentes ou à des contaminations [telles que des séquences de souris (Rodentia), de lézards (*Gama gama*), de sangliers d'Europe (*Sus scrofa*) et d'humains]] ont également été exclus de l'analyse. Les 464 clusters restants correspondaient à 108 taxons, dont 78,7% étaient des arthropodes (85 taxons, 2 706 077 séquences). Au total, 59 taxons (55,0%) ont été identifiés avec une similarité supérieure à 97% sur notre base de données de référence ou sur Genbank. Nous avons également détecté d'autres taxons inattendus, dont six attribués à des plantes (133 423 séquences), des algues (10 110 séquences) ou des champignons (3 304 séquences), des bactéries (909 séquences), des nématodes (72 séquences) et des virus (12 séquences).

#### IV.3.2. Régime alimentaire

Au total, dix taxons de proies arthropodes ont été identifiés dans l'ensemble des huit taxons de prédateurs arthropodes collectés dans les champs de mil (Tableau 4). Aucune séquence de la MEM n'a été détectée dans notre contrôle négatif (*C. curtana*, phytophage). Des séquences d'ADN de la MEM ont été détectées dans la majorité des espèces de prédateurs analysées en considérant au moins deux réplicats techniques positives sur les trois. Parmi les prédateurs positifs, *Bradybaenus scalaris* et une espèce d'araignée (Araneae sp5.), ont des pourcentages de fréquences de consommations élevées, avec respectivement 30,0 et 66,7%. Aucune

séquence d'ADN de MEM n'a été détectée au niveau des Lycosidae et des fourmis (*Monomorium* sp. et *Pachycondula* sp.), quel que soit le nombre de réplicat considéré.



*Bradybaenus scalaris*



*Orius maxidentex*



*Forficula senegalensis*

Nous avons observé une large diversité d'espèce de proie dans les échantillons de fèces de la chauve-souris insectivore (*Taphozous mauritanus*, 18 taxons de proie), et de l'oiseau (*Ploceus cucullatus*, 13 taxa), répartie dans sept ordres d'arthropodes (à savoir, Coleoptera, Dermaptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera et Orthoptera) (Tableau 4). Pas de séquences d'ADN de la MEM dans les échantillons de fèces de la chauve-souris frugivore (*Eidolon helvum*). Une importante quantité de séquences d'ADN de la MEM ont été détectées dans les échantillons de fèces des chauves-souris et des oiseaux, avec des fréquences de consommation relativement élevées de 50,0 et 36,7%, respectivement. Nos résultats montrent également que le régime alimentaire de la chauve-souris est principalement composé de papillons (9 espèces sur 18) et que le régime alimentaire du Tisserin gendarme est constitué essentiellement d'arthropodes que l'on rencontre sur le mil.



*Taphozous mauritanus*



*Ploceus cucullatus*

**Tableau 4 :** Taxons et le nombre d'échantillons positifs pour chaque espèce de proies détectés dans le contenu de l'intestin de huit prédateurs arthropodes et deux prédateurs vertébrés, collectés dans des champs de mil pendant la saison agricole 2016.

Classe	Prédateur: Ordre; Famille et espèces	n	Proie : Ordre	Espèces de proie détectée avec notre Base de donnée* ou avec Genbank**: Meilleur score de similarité (%)	Nombres d'échantillons positifs				Fréquences (%)	
					3 sur 3 répliquats	2 sur 3 répliquats	1 sur 3 répliquats	Total		
<b>Arthropoda</b>	<b>Araneae</b> Araneae sp.1 (non-identifiée)	19	Coleoptera	<i>Omonadus floralis</i> (100)**	1			1	5,3	
			Hemiptera	<i>Campylomma</i> sp.1 (100)*	2			2	10,5	
					<i>Campylomma</i> sp.2b (100)*	1			1	5,3
			Lepidoptera	<i>Coniesta ignefusalis</i> (100)*		1		1	5,3	
				<i>Heliocheilus albipunctella</i> (100)*		1		1	5,3	
		Araneae sp.5 (non-identifiée)	3	Hemiptera	<i>Campylomma</i> sp.1 (100)*	1			1	33,3
				Lepidoptera	<i>Heliocheilus albipunctella</i> (100)*			2	2	66,7
		Lycosidae sp.1 (non-identifiée)	42	Blattodea	<i>Odontotermes</i> sp. (100)**	3	1	1	5	11,9
	Coleoptera			<i>Omonadus floralis</i> (100)**	1		1	2	4,7	
	Hemiptera			<i>Campylomma</i> sp.1 (100)*	1			1	2,4	
					<i>Carbula curtana</i> (100)*		1	1	2	4,7
		<b>Coleoptera</b> <i>Bradybaenus scalaris</i> (Carabidae)	50	Blattodea	<i>Odontotermes</i> sp. (100)**	1		2	3	6
	Hemiptera			<i>Carbula curtana</i> (100)*			1	1	2	
	Lepidoptera			<i>Coniesta ignefusalis</i> (100)*			1	1	2	
					<i>Heliocheilus albipunctella</i> (100)*	6	1	8	15	30
		<b>Dermaptera</b> <i>Forficula senegalensis</i> (Forficulidae)	80	Hemiptera	<i>Carbula curtana</i> (100)*		1	3	4	5
	Lepidoptera			<i>Heliocheilus albipunctella</i> (100)*			1	1	1,3	
		<i>Orius maxidentex</i> (Anthocoridae)	40	Hemiptera	<i>Campylomma</i> sp.1 (100)*	3		3	6	15
					<i>Campylomma</i> sp.2a (100)*	1			1	2,5
					<i>Campylomma</i> sp.3b (100)*			1	1	2,5
Lepidoptera	<i>Heliocheilus albipunctella</i> (100)*					2	2	5		
	<b>Hymenoptera</b> <i>Monomorium</i> sp. (Formicidae)	15	Hemiptera	<i>Campylomma</i> sp.1 (100)*			1	1	6,6	
				<i>Carbula curtana</i> (100)*			2	2	13,3	
	<i>Pachycondula</i> sp. (Formicidae)	5			–	–	–	–	–	

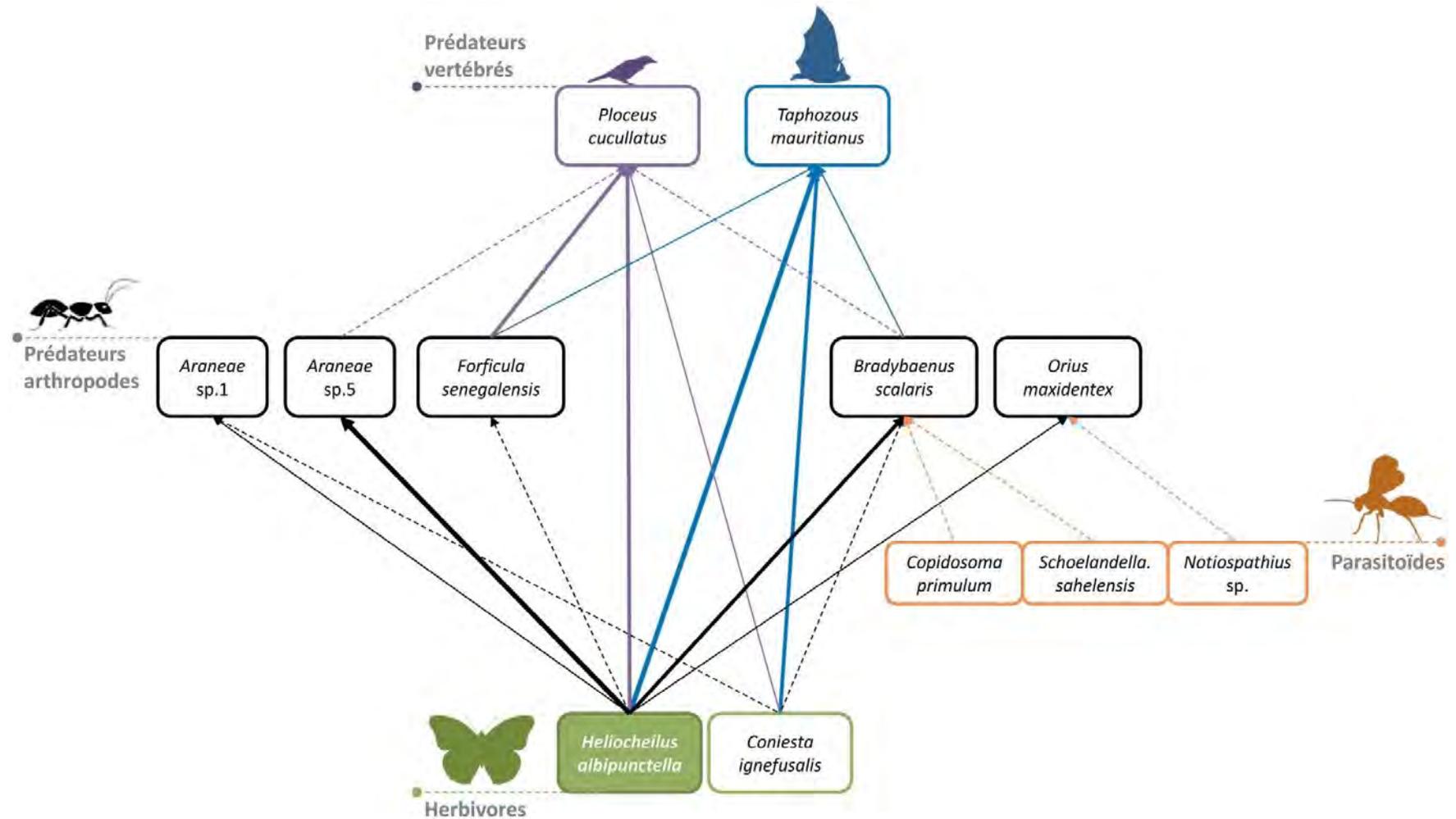
**Suite Tableau 4**

Vertebrate		Chiroptera							
	<i>Taphozous mauritianus</i> (Emballonuridae)	12	Coleoptera	<i>Bradybaenus scalaris</i> (100)*	2		2	16,7	
				<i>Platymetopus vestitus</i> (99)**	2		2	16,7	
			Dermaptera	<i>Forficula senegalensis</i> (100)*		1	1	8,3	
			Diptera	<i>Hemigymnochaeta unicolor</i> (98)**	1		1	2	16,7
			Hemiptera	<i>Campylomma</i> sp.1 (100)*	1	1		2	16,7
				<i>Cicadella viridis</i> (100)**			1	1	8,3
			Hymenoptera	<i>Monomorium</i> sp. (100)*	1			1	8,3
			Lepidoptera	<i>Acheta domesticus</i> (99)**	2			2	16,7
				<i>Achyra coelatalis</i> (99)**	2		2	4	33,3
				<i>Chlorochlystis</i> sp. (99)**	1			1	8,3
				<i>Coniesta ignefusalis</i> (100)*	2		2	4	33,3
				<b><i>Heliocheilus albipunctella</i></b> (100)*	5	1		6	50
				<i>Lepidoptera</i> sp. (98)**	2			2	16,7
				<i>Lepidoptera</i> sp.4 (100)*	3	1	1	5	41,7
				<i>Noctuidae</i> sp. (99)**	3			3	25
				<i>Tathorhynchus exsiccata</i> (100)**	2			2	16,7
			Orthoptera	<i>Aiolopus thalassinus</i> (99)**	1			1	8,3
				<i>Orthoptera</i> sp. (98)**	1			1	8,3
	<b>Passeriformes</b>								
	<i>Ploceus cucullatus</i> (Passeridae)	30	Araneae	<i>Araneae</i> sp.5 (100)*	1			1	3,3
				<i>Araneae</i> sp.6 (100)*	1			1	3,3
			Coleoptera	<i>Bradybaenus scalaris</i> (100)*			1	1	3,3
			Dermaptera	<i>Forficula senegalensis</i> (100)*	1		6	7	23,3
			Hemiptera	<i>Campylomma</i> sp.1 (100)*			1	1	3,3
				<i>Campylomma</i> sp.2 (100)*			1	1	3,3
				<i>Carbula curtana</i> (100)*	2			2	6,7
			Hymenoptera	<i>Pachycondula</i> sp. (100)*	2		1	3	10
			Lepidoptera	<i>Anomis flava</i> (100)**			1	1	3,3
				<i>Coniesta ignefusalis</i> (100)*			2	2	6,7
				<b><i>Heliocheilus albipunctella</i></b> (100)*	3		8	11	36,7
				<i>Lepidoptera</i> sp.4 (100)*	1		1	2	6,7
			Orthoptera	<i>Orthoptera</i> sp. (98)**	1			1	3,3

Dans ce tableau, nous avons représenté pour chaque espèce de prédateurs les séquences d'espèces de proies détectées dans leurs contenus intestinaux et de fèces, identifiées à un seuil supérieur à 97% avec notre Base de donnée de référence (\*) ou sur Genbank (\*\*). Les chauves-souris ont été identifiées à partir de leurs séquences sur Genbank (Top hit = 100%) et les d'oiseaux à l'aide du Guide des oiseaux d'Afrique de l'Ouest (Borrow, 2008). –Aucune proie détectée.

### IV.3.3. Réseau trophique

Un réseau trophique qualitatif associé MEM a été reconstitué pour les dix espèces de prédateurs arthropodes et vertébrés (Fig. 12). Nos résultats montrent une interaction intra-gilde des prédateurs vertébrés sur les quelques prédateurs arthropodes de la MEM (Araneae sp.5, *F. senegalensis* et *B. scalaris*), et une interaction intra-gilde entre prédateurs arthropodes (*B. scalaris* et Araneae sp.5 qui consomment *F. senegalensis*). Nous avons également observé des interactions intra-gilde indirectes entre prédateurs et parasitoïdes de la MEM, en détectant l'ADN de *Copidosoma primulum* et *Schoelandella sahelensis* dans le tube digestif de *B. scalaris*. De même, nous avons détecté l'ADN d'une espèce de parasitoïde identifiée au genre (*Notiospathius*, Braconidae) dans les échantillons d'*Orius maxidentex*.



**Figure 12 :** Réseaux trophique qualitatif des prédateurs arthropodes et vertébrés associé à la mineuse de l'épi de mil, et *C. ignefusalis* (ravageur secondaire). Des codes couleurs ont été assignés pour chaque groupe : Noir (prédateurs arthropodes), bleu ciel (chauves-souris), meuve (oiseaux), orange (parasitoïdes), et vert (herbivores). Les flèches représentent le flux de biomasse entre prédateurs-proies. L'épaisseur des flèches représentent les pourcentages des fréquences de consommations : fort ( $F \geq 50\%$ ) ; intermédiaire ( $\geq 30\%$ ) ; faible ( $\geq 5\%$ ) ; très faible ( $< 5\%$ ).

#### IV.4. Discussion

La fiabilité des informations biologiques fournies en metabarcoding, dépendent essentiellement des mesures non–arbitraires entreprises pour limiter les biais PCR induites durant la manipulation et qui peuvent donner une fausse interprétation de la réalité. Dans notre étude nous avons appliqué les filtres non arbitraires comme recommander dans Galan *et al.* (2108), pour limiter les biais PCR. Après filtre, juste 3,0% des séquences ont été supprimées de notre jeu de donnée (correspondant à des chimères, pseudogènes et contaminations). Par contre 80% des clusters ne matchs avec rien sur les bases de données, par conséquent notre réseaux trophique a été construit uniquement à partir de 15,8% des séquences obtenues. Comparé à l'étude de Paula *et al.* 2016, qui avaient utilisé l'Illumina MiSeq (shortgun–sequencing DNA), notre taux d'assignation de 55% est relativement faible. Ceci est en partie lié du fait que l'entomo–faune Africaine (en particulier celle de l'agroécosystème à base mil) est très peu représenté dans les base de données de références publiques [(Bold), (Genbank– voir Harris, 2003)], en plus notre base de référence n'était pas très exhaustive, puisque 74,1% des séquences ont été identifiées sur Genbank, contre 25,9% sur notre base de données. Paula *et al.* (2016), avait obtenu une meilleure résolution en utilisant plusieurs gènes (mitochondrial et nucléaire), comparé à d'autres études en metabarcoding (metabarcoding 454, voir Mollot *et al.*, 2014) qui n'ont utilisés qu'un seul gène (comme dans notre cas d'étude). Ceci montre à quel point la reconstitution du régime alimentaire de prédateurs généralistes par metabarcoding dépend de notre capacité à pouvoir identifier la majeurs parties des séquences de proies trouvés dans leurs contenu stomacal, et qui en retour dépend essentiellement de la résolution des bases des données publiques, mais également de disposer d'une base de référence assez exhaustive (*i.e.* en utilisant plusieurs gènes par exemple). Par ailleurs, ces séquences non identifiées sont pour la plus part des

chimères et de séquences rares ( $\leq$  deux séquences). En plus, un taxa peut avoir plusieurs variantes de séquences (*i.e.* dans notre cas d'étude, rien que pour les Forficules il y'a 164 variantes de séquences). Les forficules étant l'espèce prédatrice la plus abondante dans notre run, c'est pourquoi elle semble être très favorisée par le séquençage. Néanmoins le metabarcoding (Illumina MiSeq) a fourni des données très robustes qui nous ont permis de reconstituer le réseau trophique associé à l'agroécosystème à base de mil, et d'apporter une preuve évidente du rôle des principaux prédateurs arthropodes et vertébrés de la MEM.

En écologie, la notion « *qui mange qui* » est une question fondamentale qui permet de mieux comprendre les interactions trophiques complexes existantes entre ravageurs et ces ennemis naturels au sein d'un écosystème donné (Pompanon *et al.*, 2012; Valentini *et al.*, 2009). L'analyse moléculaire du régime alimentaire des prédateurs arthropodes et vertébrés collectés dans les champs de mil, nous a permis de quantifier le réseau trophique associé à la MEM en identifiant avec précision les prédatrices clés impliquées dans la régulation de la MEM.

Dans cette présente étude nous avons identifié l'ADN de la MEM dans le tube digestif des cinq prédateurs arthropodes analysés, à savoir *Bradybaenus scalaris*, *Forficula senegalensis*, *Orius maxidentex* et deux espèces araignées non identifiées (Araneae sp.1 et sp. 5). Parmi les prédateurs arthropodes de la MEM identifiés, *B. scalaris* avait la plus forte fréquence de consommation avec 30,0% d'échantillons positives. De manière générale, il a été démontré que les carabes avaient la capacité de contrôler efficacement certains ravageurs (punaise, diptères, lépidoptères, etc.) dans plusieurs système de culture (céréales, chou, betterave à sucre) (Kromp, 1999). Dans l'agroécosystème à base de mil, *B. scalaris* peut être un excellent candidat à la régulation des populations de la MEM. En effet dans la majeure partie des cas, le régime alimentaire entre adultes et larves de carabes peut être différent (Luff, 1974). Nous avons pu observer au champ et grâce à des données moléculaires non publiées, la

prédation des larves de la MEM par des larves de carabes (piqueur–suceurs) sur les épis en leurs sortant de leurs galerie (Sow *et al.*, 2018). En plus, contrairement aux larves, les adultes de carabes peuvent agir plutôt en consommant les œufs de la MEM, puisque la prédation des adultes de carabes sur des œufs de limaces (Oberholzer et Frank, 2003) et des œufs de diptères (Kromp, 1999) a été démontrée. Par conséquent, les actions combinées des larves et adultes de *B. scalaris* (Carabidae) sur la MEM, permet probablement une meilleure régulation de la MEM. L'un des aspects les plus importants en lutte biologique est de disposer un ennemi naturel capable de contrôler le ravageur cible à son stade précoce de développement (c. –à–d., au stade œuf ou jeune larve). Par conséquent, en plus des adultes de carabes, la punaise prédatrice *O. maxidentex* (Anthocoridae) et *F. senegalensis* (Forficulidae) peuvent être de potentiels candidats. Cependant le pourcentage de fréquence d'échantillons positifs pour la MEM a été relativement faible, avec 5 et 1,3% respectivement. Dans la littérature, *O. maxidentex* est réputé d'être un excellent prédateur de plusieurs ravageurs, tel que les Thrips (Kajita, 1986; Kumar et Ananthakrishnan, 1984), le moucheron noir du sorgho (*Contarinia sorghicola*) (Thontadarya et Rao, 1987), sur l'aleurode du tabac (*Bemisia tabaci*) (Kernasa *et al.*, 2008), et sur la noctuelle de la tomate – également un ravageur secondaire du mil, (*Helicoverpa armigera*) (Pawar *et al.*, 1986). *O. maxidentex*, peut jouer un rôle déterminant sur la régulation des populations de la MEM, en consommant les œufs et les larves néonatales limitant ainsi les dégâts. Contrairement à *O. maxidentex*, le statut de *F. senegalensis* comme prédateur est souvent très discuté (Romeu–Dalmau *et al.*, 2012), puisqu'il a été longtemps considéré comme ravageur du mil (Gahukar, 1984). Cependant, son rôle de prédateur potentiel sur la MEM a été reconsidéré suite aux travaux de Ibrahim *et al.* (1997), qui grâce aux analyses de contenus digestifs non–digérés des spécimens collectés aux champs, ont conclut que ces derniers consommés essentiellement du pollen et d'insectes, mais sans savoir

exactement les espèces ingérées. Nos résultats moléculaires nous pouvons confirmer le statut de prédateur de *F. senegalensis* sur la MEM, mais également sur une punaise phytophage (*Carbula curtana*). Les forficules consomment probablement les œufs et les jeunes larves de la MEM. Même si la fréquence de consommation des spécimens de forficules testés sur la MEM est relativement faible (0,01), leur forte abondance sur les épis de mil peut s'avérer efficace sur les œufs et les jeunes larves de la MEM (Sow *et al.*, 2018). Par ailleurs, les perce-oreilles, sont considérés comme d'excellents prédateurs sur les populations de puceron dans les vergers (Romeu–Dalmau *et al.*, 2012). Par exemple, l'espèce *F. auricularia* L., permettait de réduire efficacement les populations de puceron [(*Eriosoma lanigerum*, L.) (Mueller *et al.*, 1988), et (*Phorodon Humuli*, Schrank) (Buxton et Madge, 1976)]. Par conséquent, à l'instar de *B. scalaris* et d'*O. maxidentex*, *F. senegalensis* peut contribuer à la régulation naturelle de la MEM en agissant sur les stades précoces du ravageur. Enfin, parmi les prédateurs arthropodes nous avons deux espèces d'araignées non encore identifiées, dont l'une des espèces avait une forte fréquence de consommation (0,67), mais dont seulement 3 spécimens ont été testés. D'une manière générale, les araignées sont considérées comme des agents de control biologique dans plusieurs systèmes de culture (Nyffeler et Benz, 1987; Riechert et Lockley, 1984). Leurs impacts sur la suppression du ravageur dépendent fortement de leurs abondances dans le système de culture (*i.e.*, dans les systèmes sans traitement de pesticide). Cependant, dans le cas de notre étude, l'espèce la plus abondante (42 spécimens testés) appartenant à la famille des Lycosidae, ne consommaient pas la MEM. En plus, la manque d'information sur la bio-écologie de ces espèces liée par le fait que ces dernières ne sont pas identifiées, constitue une limite considérable pour comprendre leur contribution à la régulation naturelle de la MEM.

Nous avons également étudié le régime alimentaire du Taphien de Maurice (*Taphozous mauritianus*) et du Tisserin gendarme (*Ploceus cucullatus*). Le régime alimentaire du Taphien de Maurice (TM) est essentiellement constitué de Lépidoptère (69,0% d'échantillons positives), dont la MEM était l'espèce la plus fréquente dans les échantillons de fèces (6 positifs sur 12 testés). Nos résultats concordent ceux de Kingdon (1974), qui avait montré que le régime alimentaire du TM était principalement constitué de papillons. Dans le cas de la MEM, le TM constitue un enjeu majeur pour la régulation de ce ravageur principal du mil, car contrairement aux prédateurs arthropodes, les chauves-souris insectivores peuvent consommer une quantité importante de papillons, empêchant ainsi la ponte. Par ailleurs, il a été démontré que l'activité des chauves-souris insectivores est fortement corrélée à l'abondance des arthropodes dans la zone (Kunz *et al.*, 2011). Dans notre cas, la MEM est l'espèce la plus abondante au moment de l'épiaison du mil et d'après nos observations c'est à cette période que les TM s'installent dans la zone. Le TM a un comportement alimentaire (chasse nocturne) et des mécanismes de chasses très efficaces (écholocation de proie, vol rapide) (Dengis, 1996), qui font de lui un excellent prédateur de noctuelles. Le TM est capable de géo-localiser leurs proies facilement, de les capturer en plein vol et à une basse altitude (Dengis, 1996). Ils ont une période de chasse qui coïncide au moment où les femelles de la MEM sortent de leurs cachettes pour pondre sur les épis de mil ou pour se nourrir, c-à-d., au tombé de la nuit. Le TM peut également avoir un comportement de chasse plus ou moins opportuniste. Puisque, nos observations sur le terrain, ont révélées que ce prédateur généraliste était capable de voler sous les lampadaires à proximité des cages pour capturer des insectes – malgré qu'il soit capable de chasser efficacement dans l'obscurité totale (Kunz, 2013). Ces lampadaires jouent le rôle de pièges à insectes, essentiellement de noctuelles. A Bambey le TM niche sur des rôniers (fréquents aux environs des villages), et chassent à

proximité de ces nids (Dengis, 1996). Ceux-ci pourraient probablement expliquer le fait qu'il avait plus de régulation dans les champs de cages (situées entre 0–200 mètres des cages) par rapport aux champs de brousses (>700 mètres des cages) à Bambey (Thiaw *et al.*, 2017). Contrairement au TM qui est exclusivement insectivore, le Tisserin gendarme (TG) est plutôt omnivore. De manière générale, le rôle des oiseaux comme agents contrôles de biologie est souvent discuté (Wenny *et al.*, 2011; Whelan *et al.*, 2008). Cependant, nos résultats ont montrés que le régime alimentaire du TG est constitué essentiellement d'arthropodes appartenant à différents ordres [Araneae (2 espèces), Coleoptera (1), Dermaptera (1), Hemiptera (3), Hymenoptera (1), Lepidoptera (4), et Orthoptera (1)]. Nos résultats concordent ceux de Bruggers *et al.* (1985), qui avait observés que les adultes de TG se nourrissaient principalement d'insectes auxquels ils ajoutaient des graines sauvages. Sur les 13 espèces arthropodes identifiées, la MEM était l'espèce la plus fréquente (11 positifs sur 30 testés) dans les fèces, suivi de *F. senegalensis* (7 positifs). En effet, le TG colonisent les arbres (essentiellement les Neems, noms scientifique : *Azadirachta indica* A. Juss.) situées près ou dans les villages, au début de l'épiaison pour ce reproduire (Collias et Collias, 1967). A cette période les TG sont très actif sur la ressource, à savoir le mil et les insectes présentent sur les épis pour s'alimenter et éventuellement nourrir leurs petits. Au moment de la journée, les TG peuvent faire plusieurs allers-retours entre leurs nichoirs et les champs de mil situés à proximité à la chercher de larves pour nourrir leurs oisillons (Bruggers *et al.*, 1985). Cependant, l'impact du TG sur les larves de la MEM ne permet pas d'éviter les dégâts sur les épis puisqu'ils consomment essentiellement les larves de derniers stades, mais cependant ils peuvent contribuer à réduire la longueur de galeries.

Globalement, sur les cinq prédateurs décrits plus haut, seul *B. scalaris*, *O. maxidentex*, *T. mauritanus*, *P. cucullatus* ont de forts potentiels de régulation naturelle sur la MEM. En

plus il semble y avoir une certaine préférence alimentaire de ces prédateurs pour la MEM, puisqu'elle représente l'espèce la plus fréquente dans leurs tubes digestifs respectifs. Dans une optique de lutte biologique par conservation, ces espèces peuvent être d'excellents candidats, cependant dans des études à venir il serait important de mieux étudier la bio-écologie de ces espèces et les facteurs paysagers qui peuvent influencer leur impact sur la MEM.

L'approche moléculaire a révolutionné notre compréhension des interactions trophiques existantes entre prédateurs–proies cibles ou non–cibles, mais également des interactions intra–guildes (Birkhofer *et al.*, 2017). Une prédation intra–gilde asymétrique a été détectée entre *B. scalaris*, Araneae sp.5, et *F. senegalensis*. Nous avons détecté l'ADN de *F. senegalensis* dans le tube digestif de *B. scalaris* et Araneae sp.5. Cette prédation intra–gilde sur les forficules pourrait avoir un impact positif sur la régulation de la MEM, compte tenu du faible impact des forficules sur la MEM et qui pourrait être considéré dans une certaine mesure comme un ravageur secondaire sur mil. Les forficules peuvent être des proies alternatives pour ces prédateurs arthropodes à des périodes où la MEM est absente ou présente à faible densité. Les proies alternatives ont la capacité de maintenir des prédateurs généralistes dans la culture lorsque la densité des ravageurs est faible (Harwood et Obrycki, 2005; Koss et Snyder, 2005). Les interactions d'interférences entre prédateurs–parasitoïdes décelés grâce à la détection de l'ADN d'espèces parasitoïdes dans le tube digestif des prédateurs ne renseignent pas sur la nature de ces interactions écologiques qui existent entre ces deux entités, à savoir s'il s'agit d'une interaction directe du prédateur sur l'espèce parasitoïde (prédation), ou indirectement à travers son hôte (intra–gilde), ou plutôt s'il s'agit d'une espèce parasitoïde du prédateur (parasitisme). Cependant, la présence de *Copidosoma primulum* et de *Schoelandella sahelensis* (principales espèces parasitoïdes de la MEM, **Chapitre III**) dans le

tube digestif de *B. scalaris*, s'explique par le fait que ce dernier a tout simplement consommé des larves de la MEM parasitées par ces parasitoïdes (interaction indirecte). Par contre, le cas de *Notiospathius* (Braconidae) dans le tube digestif d'*Orius maxidentex*, peut être lié au trois cas de figures cités plus haut. Grâce au metabarcoding, nous avons pu déceler les interactions trophiques qui existaient entre proie–prédateurs mais plus encore les interactions intra–guildes qui peuvent être déterminant pour une meilleure compréhension de l'impact des ennemies naturelles sur la régulation de la MEM.

## **IV.5. Conclusion**

L'étude du réseau trophique et son dynamique est fondamentale pour mieux comprendre les mécanismes d'interactions trophiques entre espèces et leurs impacts sur le fonctionnement d'un écosystème donnée (Duffy *et al.*, 2007). Le metabarcoding par Illumina MiSeq nous a permis de reconstituer le réseau trophique associé à la MEM, et d'identifier l'ensemble des interactions trophiques existantes entre prédateurs et proies (cibles ou alternatives), dans l'agroécosystème à base de mil. Cette approche est à la fois rapide, efficace et très sensible pour analyser le régime alimentaire à la fois pour des prédateurs arthropodes par analyse de contenus digestifs (ADN présente en très faible quantité) et des prédateurs vertébrés par analyse de fèces (ADN très concentré). Dans cette présente étude nous avons pu identifier les espèces arthropodes et vertébrés clés pour la régulation de la MEM, et la connaissance précise de leurs régimes alimentaires nous permettra d'identifier les ressources environnementales clés pour concevoir des stratégies de lutte biologique par conservation fiables.

## **Chapitre V :**

Effet de la structure et de la composition du  
paysage sur l'incidence et la régulation naturelle de  
la mineuse de l'épi de mil

**Article 4.**

**Influence of landscape structure and composition on the abundance and natural regulation of millet head miner: trees or rangelands?**

Ahmadou Sow, Ibrahima Thiaw, Valérie Soti, Thierry Brévault.

*Préparé pour Landscape Ecology*

**Article publié en co-auteurs:**

Soti, V., Thiaw, I., Debaly, Z.M., **Sow, A.**, Diaw, M., Fofana, S., Diakhate, M., Thiaw, C., Brévault, T., (2019).

Effect of landscape diversity and crop management on the control of the millet head miner, *Heliocheilus*

*albipunctella* (Lepidoptera: Noctuidae) by natural enemies. *Biol. Control* **129**, 115–122.

## V.1. Introduction

Les effets de l'intensification de l'agriculture à l'échelle locale (pratiques culturales) et celle du paysage (homogénéisation des terres) perturbent d'importants services écosystémiques (régulation naturelle) résultant de la perte de biodiversité dans les systèmes agro-écologiques. Cependant, mieux comprendre l'effet du paysage à travers les habitats semi-naturels sur la dynamique des insectes auxiliaires (prédateurs et parasitoïdes) permettra d'établir des stratégies de lutte biologique plus efficaces contre les ravageurs des cultures. L'impact de la composition et de la structure du paysage sur l'abondance des ravageurs, la biodiversité et l'efficacité du contrôle biologique par les ennemis naturels est de plus en plus discuté dans la littérature (Bianchi *et al.*, 2006; Burel *et al.*, 2013; Landis *et al.*, 2000), dont l'effet sur la suppression des ravageurs de cultures qui augmente à l'échelle des habitats semi-naturel, est bien démontré (Chaplin-Kramer et Kremen, 2012; Rusch *et al.*, 2013; Veres *et al.*, 2013; Zaller *et al.*, 2009).

La gestion du paysage par l'entretien ou la restauration de l'habitat non cultivé ou semi-naturels peut constituer un atout considérable pour une agriculture durable par la conservation des services écosystémiques fournis par les ennemis naturels sur les ravageurs des cultures. La qualité d'une espèce auxiliaire pour contrôler efficacement un ravageur cible dans un système de culture dépend de sa capacité à se maintenir dans le paysage environnement même lorsque l'espèce ravageur cible est absent ou peu abondant. La gestion du paysage par l'aménagement des habit semi-naturels peut aider à créer des conditions écologiques appropriées dans le paysage agricole pour fournir aux ennemis naturels des ressources telles que la nourriture (principalement le nectar pour les adultes), des proies ou hôtes alternatifs et

un abri contre les conditions défavorables (Landis *et al.*, 2000), et leurs permettre de se maintenir en attendant l'arrivée du ravageur cible.

Cependant, certaines études récentes ont montré que la réponse des habitats semi-naturels sur la régulation naturelle des ravageurs est variable selon les études (Karp *et al.*, 2018; Tschardtke *et al.*, 2016). C'est pourquoi il est essentiel de mieux comprendre l'effet de la composition et de la structure du paysage sur le ravageur et de ces ennemis naturels dans le but de mieux appréhender le concept « win-win » dont représente les habitats semi-naturels sur le contrôle des ravageurs. Soti *et al.* (2019), ont montré que la régulation naturelle globale (BSI) de la MEM augmentait avec l'abondance des arbres dans les parcelles et la diversité de la végétation naturelle dans un rayon de 1750 m autour des champs de mil à Bambey. Dans ce chapitre nous avons pour principal objectif d'évaluer d'une part l'effet (1) de la densité végétation semi-naturel du paysage, en comparant deux zones agro-écologiques contrastées, à savoir Bambey et Nioro (2) et de la proximité des parcelles aux villages (cages vs brousses) et aux parcours, sur l'incidence et la régulation naturelle de la MEM.

## V.2. Matériel et Méthode

### V.2.1. Sélection des parcelles de mil

Un réseau de 60 parcelles de mil, 32 à Bambey (14°43'0.79"N ; 16°30'5.56"O) et 28 à Nioro (13°45'20.39"N ; 15°47'12.29"O), ont été sélectionnées (voir présentation de la zone d'étude dans **Chapitre II**). A Bambey, la végétation naturelle est constituée essentiellement d'arbres, par contre à Nioro nous avons un paysage avec peu d'arbres et dont la végétation naturelle est constituée de parcours de reliquat de forêt clair. Les parcelles de mil ont été sélectionnées suivant deux variables paysagers communes aux deux zones : distances aux villages (case vs brousse) et densité végétation naturelle (haute végétation vs basse végétation). A Nioro nous avons une troisième variable, à savoir distance des parcelles de mil par rapport aux parcours. Toutes les parcelles étaient distantes d'au moins 2 km l'une de l'autre et n'ont été l'objet d'aucun traitement insecticide. Cette distance a été choisie en fonction des études de marquage-recapture qui ont montré dans la plupart des cas la dispersion des ennemis naturels ne dépassait généralement pas 2 km lorsque les ressources sont disponibles localement (Sivakoff *et al.*, 2012; Tschardtke *et al.*, 2007). Des observations et des prélèvements ont été réalisés depuis l'épiaison jusqu'à la maturité des épis, au cours des deux campagnes agricoles 2015 et 2016.

### V.2.2. Incidence et dégâts dus à la MEM

L'incidence de la mineuse de l'épi de mil a été suivie par comptage des larves sur un échantillon de 50 épis par parcelle, au stade remplissage des grains (voir **Chapitre II**).

Pour déterminer les dommages dus à la mineuse, la longueur, le diamètre et le nombre de galeries par épi ont été mesurés sur 24 poquets par parcelle. Deux épis par poquet ont été

choisis au hasard. Le pourcentage de perte en grain a été estimé à partir de relations allométriques établies entre la surface développée des galeries et la perte en poids de grains (Sow, 2013).

### V.2.3. Régulation naturelle de la MEM

La pose de manchons d'exclusion a été effectuée pour estimer l'impact de la prédation et du parasitisme sur les œufs et les larves suivant trois modalités: [1] épis non infestés et non protégés ( $T0$ ), [2] épis infestés et non protégés ( $T1$ ), [3] épis infestés et protégés à l'aide d'un manchon en tulle de manière permanent pour mesurer la régulation globale ( $M$ ). Cinq lots de 5 épis (5 répétitions) par parcelle ont été suivis à partir de la floraison femelle. Le comptage des larves a été effectué sur chaque épi, 18 jours après la pose des manchons.

L'impact du contrôle biologique a été estimé à partir du calcul de l'indice BSI (Biocontrol Service Index) utilisé par Woltz *et al.* (2012). Le BSI peut être défini comme étant la capacité des ennemis naturels à contrôler la population du ravageur (Chaplin–Kramer et Kremen, 2012). Les valeurs de BSI varient entre 0 et 1, si le BSI = 1 cela signifie une élimination totale du ravageur, par contre si le BSI = 0 ceci indique qu'il y'a absence de régulation naturelle. Le BSI standard est calculé comme étant la différence entre le nombre de larve dans la modalité protégée ( $M$ ) et la modalité non–protégé ( $T0$ ), le tout divisé par le nombre de larve dans la modalité  $M$ .

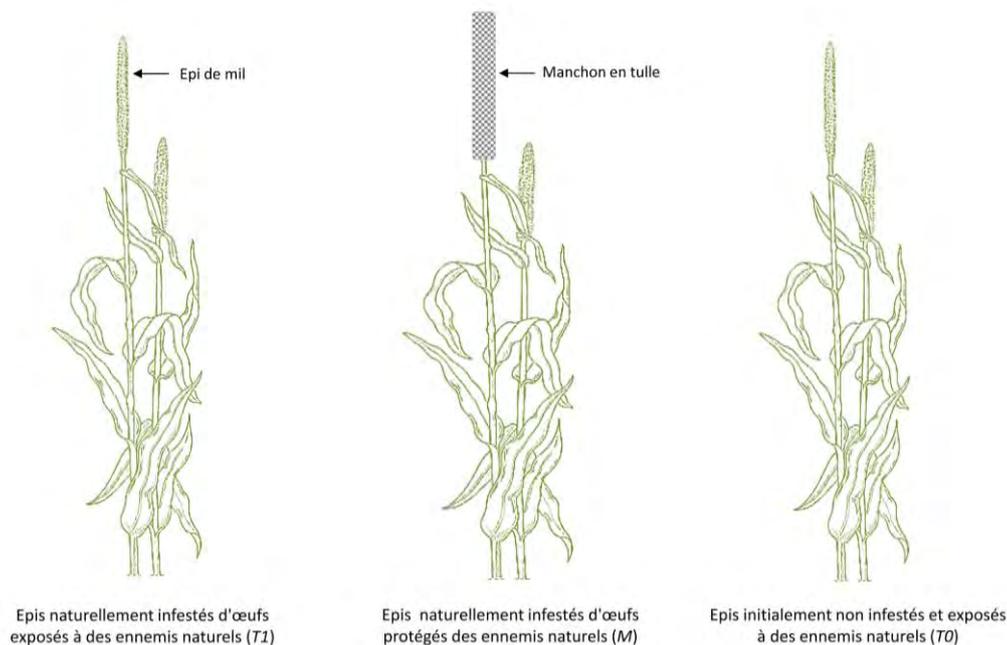
$$BSI = (M - T1) / M (1)$$

Cet indice sous–estime souvent l'importance du contrôle biologique car il ne prend pas en compte l'occurrence de nouvelles pontes sur les épis non protégés. La mesure du nombre d'individus dans le témoin ( $T0$ ) permet de corriger le BSI.

$$\text{BSI corrigé} = [M - (T1 - T0)] / M \quad (2)$$

Compte tenu de l'incertitude sur l'absence d'œuf sur les épis T0 au début de l'expérience, nous proposons de diviser par 3 le poids du coefficient de correction.

$$\text{BSI corrigé} = [M - (T1 - T0/3)] / M \quad (3)$$



**Figure 13 :** Schéma illustratif du dispositif expérimental pour estimer la régulation naturelle de la mineuse de l'épi de mil aux champs.

#### V.2.4. Parasitisme et prédation associés à la MEM

Des œufs et des larves de la mineuse ont été collectés puis élevés au laboratoire pour un diagnostic du parasitisme associé (voir **Chapitre III**, section 2.2). A partir des résultats du metabarcoding (**Chapitre III** et **IV**), nous avons identifié les espèces clés de parasitoïdes et

prédateurs de la MEM, ensuite nous avons calculé l'indice de diversité de Shannon (*SHDI*) pour ces deux groupes.

### V.2.5. Analyses paysagers

La distance aux villages et aux parcours a été calculée en utilisant le logiciel Qgis. La densité végétation naturelle (arbres et parcours) a été calculée par analyse de cartes d'occupation du sol des deux zones d'étude à partir de deux images satellites Pléiades satellites images prises en 2013 et 2014 avec une résolution sous-métrique ( $< 1$  m) (Soti *et al.*, 2019). En utilisant le logiciel *Fragstat* (McGarigal et Marks), ces variables paysagers ont été calculés sur 2 échelles spatiales, de 250 à 1750 m sur l'ensemble des parcelles de mil suivis. Nous avons choisie de faire les analyses sur ces deux échelles puisque dans une étude précédente nous avons pu montrer que ces deux échelles spatiales étaient plus pertinente pour évaluer la régulation naturelle de la MEM à Bambey (Soti *et al.*, 2019). Nous avons calculé pour chaque parcelle sur ces deux buffers : 1) l'Indice de Densité de Patch d'Arbre (*IDPA*) en comptant le nombre total de patchs d'arbre dans chaque taille de buffer, et 2) l'Indice de Densité de Patch de parcours (*IDPP*) à Nioro en calculant la surface en m<sup>2</sup> de patch de couloirs dans chaque taille de buffer.

### V.2.6. Analyses statistiques

Le logiciel R (version 3.4.4) a été utilisé pour l'analyse statistique des données. Les variables à expliquer sont : le pourcentage d'épis infestés en œufs ( $v_1$ ) et larves ( $v_2$ ), les dégâts ( $v_3$ ), le taux de parasitisme d'œufs ( $v_4$ ) et de larves ( $v_5$ ), BSI ( $v_6$ ), indice de diversité de Shannon (*SHDI*) de parasitoïdes ( $v_7$ ) et prédateurs ( $v_8$ ). Les variables explicatives sont : L'année d'étude

(2015 vs 2016), zone d'étude (Bambey vs Nioro), la densité de végétation semi-naturelle dans un rayon de 250 et 1750 m autour des parcelles suivies, la proximité des parcelles aux villages et des parcours. Les corrélations deux à deux entre variables à expliquer ou explicatives ont été établies en utilisant le test de corrélation de Pearson. Des tests de normalités (Test de Shapiro) sont effectués pour vérifier si les distributions des variables à expliquer sont normales. Un Modèle Linéaire Généralisé (GLM) a été construit pour chaque variable à expliquer, en utilisant la fonction (glm). Chaque modèle a été adapté en utilisant le type de distribution et la fonction de lien appropriés : 'gaussian' pour les données (ou données log-transformées) dont la distribution est normale et 'binomial' pour les pourcentages. Pour chaque modèle, la variable 'parcelle' a été considérée comme effet aléatoire. Les prédicteurs des modèles ont été soumis à une analyse de variance de type II et un test Wald Chi-2 ou F en utilisant le package 'car'. Les comparaisons entre modalités ont été faites en utilisant un test post-hoc de Tukey

### V.3. Résultats

#### V.3.1. Effet sites et années

Au total, 3000 épis ont été échantillonnés dans les deux zones d'étude. L'infestation des épis par des œufs et des larves de MEM a été globalement élevée, avec respectivement 48,2 (14–92%) et 78,5% (50–96%) d'épis infestés et une importante variabilité entre parcelle (Tableau 5). L'infestation a été plus élevée à Nioro (80,7%) qu'à Bambey (75,3%). Nous avons également observé un pourcentage d'épis infestés plus important en 2016 (84,8%) qu'en 2015 (71,4%). A la récolte, 85,2 (60–100%) et 74,0 (33–96%) des épis d'une parcelle présentaient au moins une galerie, à Bambey et Nioro, respectivement (Tableau 5). La proportion d'épis infestés en œufs a été plus importante à Nioro qu'à Bambey, alors que la proportion d'épis infestés en larves a été plus importante à Bambey qu'à Nioro. Les infestations ont été plus importantes en 2016 qu'à 2015. Notre estimation des dommages donne un pourcentage de perte moyen de 10,5 (4–18%) et 9,2 (1–20%) en poids de grain, respectivement à Bambey et Nioro, mais sans différence significative.

**Tableau 5 :** Incidence et dégâts dus à la MEM en fonction de la zone et de l'année d'étude. Moyenne (min–max).

Variables	Zone		P	Année		P
	Bambey	Nioro		2015	2016	
<i>Epis infestés en œufs (%)</i>	42,0 (14,0 – 74,0)	58,0 (14,0 – 92,0)	***	35,0 (14,0 – 66,0)	60,0 (26,0 – 92,0)	***
<i>Epis infestés en larves (%)</i>	80,7 (54,0 – 96,0)	75,2 (50,0 – 90,0)	**	71,3 (50,0 – 88,0)	84,8 (60,0 – 96,0)	***
<i>Epis avec des galeries (%)</i>	85,2 (60,4 – 100)	74,0 (33,3 – 95,8)	***	83,8 (64,5 – 95,8)	77,9 (33,3 – 100)	NS
<i>Perte en poids de grain (%)</i>	10,5 (4,1 – 17,9)	9,2 (1,2 – 19,7)	NS	10,1 (5,4 – 19,7)	9,9 (1,2 – 17,9)	NS

P=P-value ; \*\*P<0,005 ; \*\*\*P<0,0005 ; NS=Non significatif

Sur les 5020 œufs suivis au laboratoire, nous avons obtenu un taux de parasitisme de 15,0 (0–78%) et 15,0 (1–42%), respectivement à Bambey et à Nioro. Le parasitisme des œufs est identique entre les deux zones. On observe une différence significative entre les deux années étudiées, avec plus de parasitisme en 2015 qu’en 2016. Sur les 10046 larves suivies au laboratoire, nous avons obtenu un taux de parasitisme larvaire de 52,7 (35–79%) et 52,3 (22–76%), respectivement à Bambey et à Nioro. Ni la zone ni l’année n’ont eu un effet sur le parasitisme larvaire. La zone n’a pas un effet sur la diversité d’espèces prédateurs et parasitoïdes clés de la MEM. Cependant, on note une différence significative entre les deux années d’études. Le taux de régulation naturelle globale (BSI *M*) s’élève à 66,3 (0–100%) à Bambey et 71,2 (25–100%) à Nioro, avec une forte variabilité entre parcelles (0–100%). La régulation naturelle n’est pas significativement différente entre les deux zones ou les deux années étudiées (Tableau 6).

**Tableau 6:** Parasitisme, indice de Shannon et régulation naturelle de la MEM en fonction de la zone et de l’année d’étude. Moyenne (min–max).

Variables	Zone			Année		
	Bambey	Nioro	<i>P</i>	2015	2016	<i>p</i>
<i>Taux de parasitisme des œufs</i>	0,15 (0–0,78)	0,15 (0,01–0,42)	<i>NS</i>	0,2 (0–0,78)	0,1 (0–0,27)	**
<i>Taux de parasitisme larvaire</i>	0,53 (0,35–0,79)	0,52 (0,22–0,76)	<i>NS</i>	0,51 (0,35–0,79)	0,53 (0,22–0,76)	<i>NS</i>
<i>Indice Shannon parasitoïdes</i>	0,9 (0,2–1,5)	0,9 (0,6–1,2)	<i>NS</i>	1,2 (0,8–1,5)	0,7 (0,2–1,1)	***
<i>Indice Shannon prédateurs</i>	0,8 (0–1,8)	0,7 (0–1,3)	<i>NS</i>	1,0 (0–1,8)	0,6 (0–1,3)	**
<i>BSI total (%)</i>	66,2 (0 – 100)	71,2 (25,0 – 100)	<i>NS</i>	63,9 (0 – 100)	72,0 (0 – 100)	<i>NS</i>

*P*=*P*-value ; \*\**P*<0,005 ; \*\*\**P*<0,0005 ; *NS*=Non significatif

### V.3.2. Effet des variables locales : Proximité des parcelles aux villages et parcours

La proximité des parcelles aux villages influe négativement sur la proportion d'épis infestés par des œufs (Nioro) et des larves (Bambey), avec moins d'infestation aux niveaux des parcelles proches des villages (<100m) que les parcelles de brousse (>500m). Par contre, la proximité des parcelles aux parcours influe positivement sur les infestations en œufs à Nioro.

La régulation naturelle globale (BSI) et le taux de parasitisme des œufs de la MEM sont plus importants dans les parcelles proches des villages, à Nioro et Bambey respectivement. La diversité d'espèces parasitoïdes augmente dans les parcelles proches des villages, par contre la diversité de prédateurs est plus importante dans les parcelles loin des villages. (Tableau 7)

**Tableau 7 :** Tableau récapitulatif de l'effet des variables locales sur les infestation en œufs (V1) et larves (V2), les dégâts (V3), le parasitisme des œufs (V4) et larves (V5), le *BSI* (V6), *Indice de diversité de (Shannon)* de parasitoïdes (V7) et prédateurs (V8).

Variables explicatives	Variables à expliquer							
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8
<i>Proximité aux villages_Bambey</i>		↗*					↘***	↗***
<i>Proximité aux villages_Nioro</i>	↗**			↘**		↘**		
<i>Proximité aux parcours_Nioro</i>	↘***							

\* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,005$  ; \*\*\* $P < 0,0005$ .

Dans ce tableau nous avons représenté les résultats des tests GLM entre variables locales (explicatives) et variables à expliquer. Les cages en vert montrent qu'il y'a un effet, et le sens de l'effet de la variable est représenté par l'orientation de la flèche. La pointe de la flèche orientée vers le haut indique un effet positif, et un effet négatif quand celle-ci est orientée vers le bas.

### V.3.3. Effet des variables paysagers : Densité de patch d'arbres et de parcours

L'infestation en œufs (V1) est influencée par la densité de patch d'arbres et de parcours dans le paysage. A Bambey, la ponte sur les épis diminue dans les parcelles à forte densité d'arbre à 250m. Cependant, à 1750m l'effet de la *DPA* sur les infestations en œufs s'inverse, avec

plus de ponte dans les parcelles à forte densité d'arbres à Bambey et à Nioro. A Nioro, la *DPP* influe négativement sur la ponte, avec moins d'infestation dans les parcelles à forte densité de parcours à 250 et à 1750m.

Le parasitisme des œufs (V3) est positivement corrélé à la densité de végétation naturelle dans le paysage autour des parcelles de mil. A Bambey le parasitisme des œufs est plus important dans les parcelles à forte densité d'arbres à 250 et à 1750m. A Nioro, la densité d'arbres n'influe pas sur le taux de parasitisme des œufs, par contre on observe un effet de la densité de parcours à 1750m. La régulation naturelle (V5) est positivement corrélée à la densité d'arbres et de parcours à 1750m, à Bambey et à Nioro respectivement. A Nioro, la densité d'arbres à 250m semble influencer négativement la régulation naturelle. La densité de végétation de naturelle ne semble pas influencer la diversité des espèces parasitoïdes clés. Cependant, on observe une forte corrélation entre abondance de *Trichogrammatoidea armigera* et densité d'arbres à 250m ( $r=0.39$ ,  $P=0,02$ ) et 1750m ( $r=0.51$ ,  $P=0,01$ ). L'abondance de *Copidosoma primulum* est aussi corrélée à la densité d'arbres à 1750m ( $r=0.51$ ,  $P=0,01$ ). (Fig. 14)

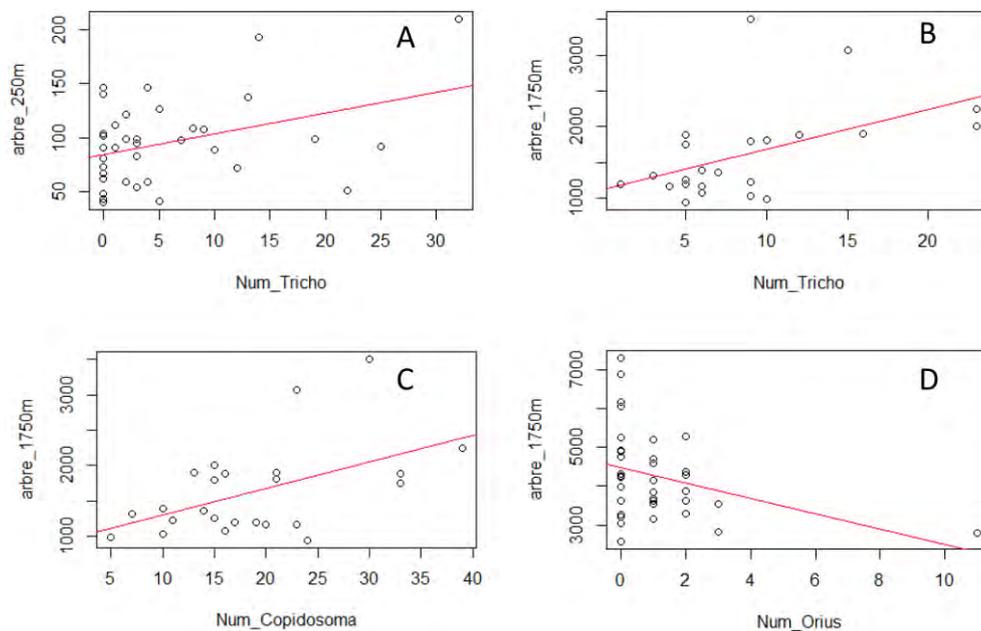
Cependant, on observe plus de diversité d'espèces prédatrices dans les parcelles à faible densité d'arbres à 1750m (Tableau 8). L'abondance d'*Orius maxidentex* dans les parcelles a été négativement corrélée à la densité d'arbres à 1750m ( $r=0.51$ ,  $P=0,04$ ) (Fig. 14).

**Tableau 8 :** Tableau récapitulatif de l'effet des variables paysagers sur l'incidence en œufs (V1) et des larves (V2), les dégâts (V3), le parasitisme des œufs (V4) et larves (V5), le *BSI* (V6), *Indice de diversité (Shannon)* de parasitoïdes (V7) et prédateurs (V8).

Variables explicatives	Variables explicatives							
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8
Densité arbre_250m_Bambey	↘**			↗***				
Densité arbre_1750m_Bambey	↗***			↗***		↗***		↘**
Densité arbre_250m_Nioro						↘**		
Densité arbre_1750m_Nioro	↗**							
Densité parcours_250m_Nioro	↘***							
Densité parcours_1750m_Nioro	↘***			↗*		↗***		

\* $P < 0,05$  ; \*\* $P < 0,005$  ; \*\*\* $P < 0,0005$ .

Dans ce tableau nous avons représenté les résultats des tests GLM entre variables paysagers (explicatives) et variables à expliquer. Les cages en vert montrent qu'il y a un effet, et le sens de l'effet de la variable est représenté par l'orientation de la flèche. La pointe de la flèche orientée vers le haut indique un effet positif, et un effet négatif quand celle-ci est orientée vers le bas.



**Figure 14:** Abondance de *Trichogrammatoïdea armigera* (A ; B), *Copidosoma primulum* (C), *Orius maxidentex* (D) en fonction de la densité d'arbre à 250m et 1750m.

## V.4. Discussion

Nos résultats montrent une différence de l'incidence de la MEM entre Bambey et Nioro. La ponte est plus importante à Nioro qu'en Bambey, par contre nous constatons plus d'infestation en larves et de dégâts à Bambey qu'en Nioro. La différence de ponte entre les deux zones, peut être expliquée par le fait que la MEM est plus abondant à Nioro qu'à Bambey. D'après des données de piégeages (non-publiées), la moyenne de nombre de papillons capturée par heure de piégeages était de 8,3 à Bambey contre 21,1 à Nioro (Annexe 5). Il y'avait probablement plus de mécanismes de régulation à Nioro qui a inversé la tendance, avec au final moins de larves et par conséquent moins de dégâts. Ces mécanismes de régulation naturelle n'ont pas pu être décelés ni par notre BSI ni par les taux de parasitisme des œufs ou des larves obtenus. Grâce à l'approche metabarcoding nous avons observé plus de parasitisme à Nioro (55,0%) qu'en Bambey (35,7%) (**Chapitre III**).

Nos résultats montrent également un effet de l'année sur les infestations, avec plus d'infestation en 2015 qu'en 2016. Ceci peut être lié par un parasitisme des œufs plus élevé en 2015 qu'en 2016. Dans le bassin arachidier la pluviométrie est très instable et très variable d'une année sur l'autre. Un retard de l'arrivée des premières pluies par exemple peut perturber l'incidence de la MEM, en décalant la coïncidence entre pic d'émergence et stade phénologiques favorable à la ponte, ce qui peut avoir un impact considérable sur l'incidence de la mineuse (Gahukar, 1987). Cette variation de la pluie entre les années semble également perturber la stabilité de certains ennemis naturels, probablement plus sur les deux espèces parasitoïdes spécialistes (*Copidosoma primulum*, et *Schoelandella sahelensis*), et potentiellement sur l'unique parasitoïde des œufs (*Trichogrammatoïdea armigera*). *C. primulum* et *S. sahelensis*, ont un cycle de développement synchronisé avec celui de la MEM,

par conséquent une perturbation quelconque du cycle de leurs hôtes principales peut avoir une répercussion sur ces dernières.

Nos résultats montrent un effet négatif et significatif de la proximité des parcelles aux villages sur les infestations dans les deux zones étudiées. Cet effet est probablement lié par le fait qu'on observe plus de régulation (BSI et taux de parasitisme des œufs) dans ces parcelles. Nos résultats concordent ceux obtenus en 2013–2014 à Bambey, qui avaient montrés plus de régulation naturelle (BSI) aux niveaux de parcelles proches des villages (Soti *et al.*, 2019). Les parcelles proches des villages (ou parcelles de cages) reçoivent plus de fertilisant organique par rapport aux parcelles situées en plein brousse. Ces fertilisants ont un double effet, ils apportent des nutriments à la culture mais aussi ils peuvent favoriser l'activité biologique des ennemis naturels arthropodes. Ces parcelles profitent également d'un fort potentiel de régulation naturelle par les prédateurs vertébrés sur les papillons de la MEM. Durant la campagne agricole de 2017, nous avons conduits une étude à Bambey, pour mesurer l'impact des prédateurs vertébrés (oiseaux et chauves-souris). Les résultats ont montré que la présence d'oiseaux a un effet négatif sur le pourcentage d'épis infestés ( $P < 0,001$ ) et le nombre d'œufs par épi ( $P < 0,01$ ) (Séye, 2018, Annexe 6). Ce qui laisse penser que les oiseaux peuvent consommer les papillons de la MEM. En plus une espèce de chauve-souris insectivore (*Taphozous mauritanus*) a été recensé dans la zone, et les analyses moléculaires ont révélées une forte fréquence de consommation (50% de positif, voir **Chapitre IV**) de papillons de la MEM par cette espèce. Les oiseaux en plus des papillons peuvent consomment les larves de la MEM, et ces larves constituent l'aliment de base des oisillons (voir discussion **Chapitre IV**).

Cependant, la proximité des parcelles aux villages influe négativement sur la richesse spécifique des prédateurs clés de la mineuse. Ceci peut être expliqué par le fait que dans les

parcelles proches des villages, la concentration d'ennemis naturels de différentes guildes (arthropodes et vertébrés) favorise la prédation des prédateurs vertébrés sur les prédateurs arthropodes. Par exemple, nos analyses de régime alimentaire (voir **Chapitre IV**) ont révélées une forte interaction intragilde entre les principales espèces prédateurs arthropodes (*Bradybaenus scalaris*, *Forficula senegalensis*, *Orius maxidentex*, une espèce d'araignée non-identifiée) et les deux prédateurs vertébrés, à savoir Tisserin gendarme (*TG*) et le Taphien de maurice (*TM*). Martin *et al.* (2013) ont montrés que lorsqu'ils excluaient les oiseaux, la régulation naturelle due aux insectes prédateurs (généralistes) et les parasitoïdes (spécialistes) augmentait avec la complexité du paysage. En d'autre terme, l'action des prédateurs vertébrés sur les ennemis naturels arthropodes avait effacé l'effet du paysage sur ces prédateurs et parasitoïdes arthropodes. Ce qui semble être notre cas, l'action combiné des *TM* et des *TG*, a eu un effet négatif sur la diversité des prédateurs arthropodes. En plus, nous observons un effet positif de la proximité des parcelles aux parcours sur les infestations à Nioro. Les services fournis par les habitats semi-naturels peuvent être bénéfiques aux ennemis naturels mais aussi aux ravageurs. Dans notre cas, la proximité des parcelles aux habitats semi-naturels semble favoriser ici la MEM, ils peuvent fournir aux adultes de l'abri pour se protéger des prédateurs, et également du pollen et du nectar qui sont sources de nourriture indispensable à la survie des papillons.

L'effet d'une augmentation de la densité d'arbres dans le paysage sur les infestations n'est pas clair. A 250m, la densité d'arbres a un effet négatif et significatif sur ponte de la MEM à Bambey. Par contre la densité d'arbre à 1750m semble influencée positivement la ponte. Cette différence entre échelle peut être expliquée par un effet de dilution de la densité d'arbres entre 250 et 1750m. En passant d'une échelle de 250 à 1750m, on augmente la surface et par conséquent si le nombre d'arbre ne suit pas la tendance, cela peut entraîner une

dilution de l'effet des arbres sur la ponte. A 250m, la concentration des patchs d'arbres augmente la connectivité entre différents patchs, ce qui ne semble pas être le cas à 1750m. Cette connectivité entre patchs peut faciliter la mobilité des ennemis naturels, et augmenter leurs impacts sur la régulation de la MEM. Cependant, les parcours de par leurs structures compactes faites qu'un changement d'échelle n'affectent pas forcément la connectivité entre patchs d'arbres, mais également les services écosystèmes apportaient par ces habitats semi-naturels. Par conséquent, l'effet négatif de la végétation semi-naturel sur la ponte a été constant entre les deux échelles étudiées à Nioro.

Parmi les composants de la régulation naturelle de la MEM, le parasitisme joue un rôle important. Dans la littérature l'effet bénéfique de la complexité du paysage sur le parasitisme et la diversité des parasitoïdes a été démontré (Liu *et al.*, 2016; Zaller *et al.*, 2009). En effet, le parasitisme des œufs de la MEM a été favorisé par la densité d'arbres (250 et 1750m) à Bambey et de parcours (1750m) à Nioro. Ainsi que l'abondance de *Trichogrammatoidea armigera* et *Copidosoma primulum*, étaient positivement corrélées avec la densité d'arbres. A 1750m, le BSI a été favorisé par une augmentation de la densité des arbres à Bambey et de parcours à Nioro. Ce résultat concorde ceux de Valérie *et al.* (2019), qui ont montré que la régulation naturelle de la MEM augmentait avec la densité de patch d'arbres d'arbres à une échelle de 1750m, à Bambey. On constate également qu'à Nioro, en absence d'arbres, les parcours apportent les services écosystémiques nécessaire à la régulation des populations de la MEM. Le rôle de la végétation semi-naturelle sur la régulation naturelle des ravageurs de culture est largement documenté (Bianchi *et al.*, 2006; Chaplin-Kramer et Kremen, 2012; Veres *et al.*, 2013), et que la composition du paysage est un levier important aux ennemis naturels et les services écosystémique qui en résultent. D'après nos résultats nous constatons qu'un changement de la composition du paysage n'affecte pas son rôle sur la régulation

naturelle de la MEM. Grâce à une approche multi-échelle, nous constatons que la réponse du paysage sur le BSI n'est pas constante entre 250 et 1750m. En effet, le BSI et la diversité de prédateurs a été négativement influencé par la densité d'arbre dans le paysage, à une échelle de 250 et 1750m respectivement. Ces résultats montrent à quel point l'impact du paysage sur le comportement et la performance des ennemis naturels voir même des ravageurs, peut varier en fonction de l'échelle considéré. Dans la littérature, cette inconstance de la réponse des ravageurs et des prédateurs sur la composition du paysage, a été démontrée (Karp *et al.*, 2018; Tscharrntke *et al.*, 2016).

## **V.5. Conclusion**

En conclusion, nos résultats ont montré que l'incidence et la régulation naturelle de la mineuse peuvent être affectés par l'aménagement du paysage à l'échelle locale, et du paysage. A l'échelle locale, la proximité des parcelles aux villages a un effet négatif sur les infestations en œufs et larves, en favorisant la régulation naturelle de la MEM. A l'échelle du paysage, à l'instar des arbres à Bambey, les parcours jouent un rôle important sur la régulation naturelle de la MEM dans la zone de Nioro. Une meilleure connaissance des relations entre espèces végétales (arbres ou parcours) sur la bio-écologie de la MEM et de ses ennemis naturels clés, doit permettre de mieux définir les modalités de pilotage des processus écologiques de régulation de ses populations, dans une perspective de renforcement de la lutte biologique par conservation.

## **Chapitre VI :**

Discussion générale & Perspectives

## **VI.1. Synthèse des objectifs et résultats des recherches menées**

Les objectifs de ma thèse visaient à définir des modalités de pilotage du réseau trophique pour favoriser la régulation des populations de la MEM dans les paysages agricoles à base de céréales sèches. Plus spécifiquement, il s'agissait de, (i) caractériser (base de données morphologique et moléculaire) l'entomofaune des cultures de mil, (ii) identifier les ennemis naturels (parasitoïdes et prédateurs) associés à la MEM en supposant que l'action de ces ennemis naturels est une composante majeure à la régulation naturelle de ce ravageur, et (iii) évaluer l'effet de certains facteurs environnementaux sur l'incidence et la régulation naturelle de la MEM puisque les conditions environnementales à l'échelle de la parcelle (milieu) et du paysage (composition en cultures, habitats semi-naturels, etc.), peuvent favoriser l'action des ennemis naturels.

La caractérisation du réseau trophique associé à la MEM par approche écologique et moléculaires, révèle un réseau trophique relativement riche en ennemis naturels. 13 espèces de parasitoïdes primaires et 2 espèces d'hyperparasitoïdes ont été identifiées. En plus 19 prédateurs potentiels ont été inventoriés dans les champs de mil. Nous avons effectué une mise en jour importante sur la biodiversité des espèces clés impliquées dans le réseau trophique associé à la MEM et apporter des informations complémentaires par rapport aux études antérieures réalisées par Gahukar (1984) et Bhatnagar (1987), au Sénégal. (**Chapitre II**). Cependant, le rôle de certains prédateurs comme ennemis naturels de la MEM était incertain.

L'identification des ennemis naturels clés de la MEM par metabarcoding a permis d'identifier trois parasitoïdes et sept prédateurs (dont cinq arthropodes et deux vertébrés) clés de la MEM (**Chapitre III et IV**). L'approche moléculaire était pertinente pour mesurer

l'impact des ennemis naturels sur la régulation des populations de la MEM, et des interactions existantes entre ennemis naturels [i.e. multiparasitisme (**Chapitre III**) et la prédation intraguilde (**Chapitre IV**)].

L'analyse de la variabilité de l'environnement à l'échelle locale et du paysage, révèle que les parcelles proches des villages ainsi que les parcelles à forte densité de végétation naturelle (arbres et parcours) dans le paysage environnant, bénéficient plus de contrôle biologique fourni par les ennemis naturels (**Chapitre V**).

## **VI.2. Une importante biodiversité au sein du réseau trophique associé à la MEM**

Mieux comprendre la structure et le fonctionnement d'un réseau trophique associé à un ravageur est un facteur déterminant pour mieux appréhender les mécanismes de régulation de ce dernier en vue d'une mise en place de lutte biologique efficace. Cependant, la perte de biodiversité engendrée par l'utilisation excessive de pesticide dans certains systèmes de culture constitue un frein à la mise en place d'une agriculture durable (Bass et Jones, 2018). La reconstitution du réseau trophique associé à la MEM montre une excellente conservation de la richesse et la biodiversité du complexe d'ennemis naturels (prédateurs et parasitoïdes) impliqués dans la régulation naturelle de ce ravageur. En effet, l'absence d'application d'insecticides dans les agroécosystèmes à base de mil et les faibles changements des pratiques agricoles et du contexte paysager pourraient expliquer ces observations. Grâce à la mise en jour apportée à la liste des ennemis naturels impliqués dans le réseau trophique associé à la MEM, nous avons pu décrire 6 parasitoïdes et 6 prédateurs (dont 5 carabes) supplémentaires en combinant l'identification morphologique et moléculaire (voir **Chapitre II**), en fournissant ainsi un appui substantiel à l'identification des communautés d'espèces dans l'agroécosystème

à base de mil. Nous avons également achevé l'identification de certaines espèces parasitoïdes clés, telles que *Copidosoma primulum* (Mecet) (*Lithomastix* sp. Syn.), *Pristomerus pallidus* (Kriechbaumer) et *Trichogrammatoidea armigera* (Manjunath). D'ailleurs concernant *T. armigera*, son identification complète réalisée au cours de cette thèse, ouvre déjà des perspectives de lutte biologique par lâcher en complémentarité avec les lâchers de *H. hebetor* au Niger (Karimoune *et al.*, 2018). Ceci montre l'importance d'identifier les espèces d'ennemies naturelles de manière précise en lutte biologique. Dans cette même lancée, nous n'avons pas identifié *Habrobracon hebetor* (Say), l'unique espèce de ce genre (*Habrobracon*) qui a été décrite sur MEM au Sénégal (Bhatnagar, 1987; Gahukar, 1984), et très utilisée récemment dans des programmes de lutte biologique en Afrique de l'Ouest (Ba *et al.*, 2013; Baoua *et al.*, 2018; Payne *et al.*, 2011). En revanche, nous avons identifié une espèce très proche, à savoir *H. brevicornis*, jamais décrite sur MEM, avec un taux de parasitisme très faible (<1%). Cependant, des études récentes basées sur des analyses microsatellites ont montré que la frontière entre ces espèces était très étroite (Garba *et al.*, 2016). Il est donc possible que dans les études antérieures, l'espèce décrite comme *H. hebetor* était en réalité *H. brevicornis*, ou plus probablement que *H. hebetor* et *H. brevicornis* soient présents tous les deux au Sénégal, et que l'espèce *H. brevicornis* soit la plus abondante dans notre zone d'étude.

Grâce à la combinaison de deux approches (moléculaire et écologique) complémentaires, nous avons reconstitué avec plus de précision le réseau trophique complet associé à la MEM, et les interactions complexes sous-jacentes. La complémentarité de ses méthodes pour étudier la structure et le fonctionnement d'un réseau trophique a été démontrée (Firlej *et al.*, 2013; Šigut *et al.*, 2017; Wirta *et al.*, 2014). Nous avons construit une librairie de référence barcode et metabarcoding de l'entomofaune associée à l'agroécosystème à base de mil au Sénégal.

Notre librairie de référence est constituée de 266 spécimens identifiés et barcodés, et constitue une importante amorce d'une base de données de référence, qui peut être très utile dans d'autres études impliquant l'entomofaune du mil. De manière générale, les insectes d'Afrique sont peu explorés et très faiblement représentés dans les bases de données publiques (Bold, Genbank) ce qui limite en quelque sorte l'utilisation des outils moléculaires dans ce continent par rapport au reste du monde. Le metabarcoding nous a permis d'identifier des interactions entre ennemis naturels et ravageurs, mais également entre ennemis naturels (multiparasitisme, prédation intraguilde). Ces interactions sont déterminantes pour mieux appréhender le fonctionnement d'un réseau trophique (Hrček et Godfray, 2015). Cependant, le metabarcoding nécessite en amont une bonne connaissance des espèces attendues. En effet, cette approche repose sur la détection de l'ADN du parasitoïde dans le cas du parasitisme et de la proie dans le cas de la prédation. En élevage, le diagnostic du parasitisme repose sur l'émergence d'un adulte du parasitoïde identifiable sur des traits morphologiques par contre en metabarcoding, comme toutes approches moléculaires, repose sur une identification de l'espèce à partir d'une séquence de référence déjà existante. En l'absence d'une séquence de référence l'espèce reste inconnue et par conséquent impossible de connaître sa bio-écologie. Le metabarcoding est très efficace pour estimer les taux de parasitisme des espèces impliquées ainsi que les interactions entre espèces parasitoïdes (multiparasitisme), mais ne renseigne pas sur la survie des parasitoïdes, une information accessible en élevage. En plus, le metabarcoding donne une information qualitative (positif/négatif) de la prédation d'un prédateur mais ne renseigne pas sur la voracité de cette espèce. Cependant cet aspect peut être facilement étudié à partir de suivis au laboratoire ou des observations aux champs. Au final, pour identifier les processus écologiques impliqués dans la régulation naturelle d'un ravageur, il est important de combiner l'approche écologique et moléculaire afin de disposer l'ensemble

des informations susceptibles d'affecter cette régulation, et qui renseignent sur la bio-écologie des espèces impliquées.

### **VI.3. Les facteurs écologiques de régulation des populations de la MEM**

#### **VI.3.1 Facteur biotique : rôle des ennemis naturels**

Les ennemis naturels sont un facteur déterminant de régulation des ravageurs dans les systèmes agricole (DeBach et Rosen, 1991; Wilby et Thomas, 2002). Dans l'agroécosystème à base de mil au Sénégal, l'incidence de la MEM a été très élevée, avec en moyenne 79% d'épis infestés. Cependant, une importante régulation des populations de la MEM (68%), permet de limiter les pertes de rendement en grain (1–20%). Nous avons posé comme hypothèse de recherche que les ennemis naturels (prédateurs et parasitoïdes) de la MEM constituent une composante majeure de cette importante régulation naturelle observée. Grâce à la combinaison de l'approche moléculaire et écologique nous avons mesuré l'impact des communautés d'ennemis naturels de la MEM. Nos résultats mettent en évidence une biodiversité et un fort impact des ennemis naturels sur les populations de la MEM. Globalement, 11 espèces d'ennemis naturels à fort potentiel de régulation naturelle, ont été identifiées. Parmi lesquelles, 4 espèces parasitoïdes, à savoir *T. armigera*, *C. primulum* et *Schoelandella sahelensis* et *Schoelandella* sp., dominant largement le parasitisme des œufs et larves de la MEM. L'unique parasitoïde des œufs est *T. armigera*, un endoparasitoïde généraliste qui a été décrite Manjunath en 1972. Malgré son impact relativement fiable sur les œufs de la MEM (11,2%), probablement à cause de la compétition induit par le multiparasitisme avec *C. primulum* révélé grâce aux metabarcoding, les Trichogrammes représentent une groupe largement utilisée dans les programmes de lutte biologique contre d'autres ravageurs (Davies *et al.*, 2011, 2009; Duffield, 1994b). Si le parasitisme associé au

stade embryonnaire reste relativement faible, le parasitisme larvaire est important (48,8%) et une diversité notable d'espèces (3 espèces clés) a été observée. *C. primulum* et les deux espèces cryptiques de *Schoelandella* dominant largement le parasitisme des larves. En effet, ces parasitoïdes sont omniprésents et ils ont un cycle de développement synchronisé avec celui de la MEM. Leur degré de spéciation fait que ces espèces parasitoïdes sont très adaptées aux conditions du milieu et à la biologie de leur hôte principal, à savoir la MEM. Cependant, ces deux espèces n'ont pas un impact direct sur les dégâts, mais réduisent significativement la population résiduelle dans le sol. Néanmoins, ceci peut être compensé par l'action des prédateurs généralistes (Gontijo *et al.*, 2015). Les prédateurs contrairement aux parasitoïdes consomment leurs proies sans délai, ce qui entraîne un impact direct sur la population du ravageur cible. Sept espèces prédatrices clés de la MEM ont été identifiées par metabarcoding, dont une espèce d'oiseaux (Tisserin gendarme), et une chauve-souris (Taphien de maurice). Malgré une estimation qualitative (Pompanon *et al.*, 2012) de leur impact fournit par le metabarcoding, les informations issues de cette approche ont été suffisantes pour nous renseigner sur l'importance de ces prédateurs comme facteur de régulation des populations la MEM. En plus les données moléculaires sont appuyées par des observations et suivis sur le terrain de ces prédateurs. Les résultats obtenus mettent en exergue un fort impact des prédateurs, en particulier les prédateurs vertébrés. En effet, les prédateurs vertébrés peuvent contribuer significativement à la régulation des populations de la MEM, en consommant les adultes et empêcher ainsi la ponte sur les épis. Le Taphien de maurice, l'unique chauve-souris insectivore est très active sur la MEM, ainsi que l'abondance d'oiseaux en particulier celle de Tisserins gendarmes était négativement corrélée à l'infestation en œufs. Ceci peut expliquer les fortes variabilités des infestations observées entre parcelles. En plus ces prédateurs vertébrés peuvent consommés une quantité importante de proie. En

effet, les TG consomment également les larves qui constituent l'alimentation de base des adultes et des oisillons. Les prédateurs arthropodes aussi ont contribué à la régulation naturelle de la MEM. Sur les cinq prédateurs arthropodes identifiées, deux espèces présentent un réel potentiel de régulation naturelle, à savoir *Bradybaenus scalaris* et *Orius maxidentex*. *B. scalaris* avait une forte fréquence de consommation sur la MEM (30% d'échantillon positif). De manière générale, il a été démontré que les carabes avaient la capacité de contrôler efficacement certains ravageurs (punaise, diptères, lépidoptères, etc.) dans plusieurs systèmes de culture (céréales, chou, betterave à sucre) (Kromp, 1999). Son capacité à prédateur aussi bien sur les œufs et les larves de la MEM, fait de lui un excellent candidat à la régulation des populations de ce ravageur dans l'agro-écosystème à base de mil. *O. maxidentex* avait une fréquence de consommation relativement faible, cependant certaines espèces d'*Orius* sont connues comme d'excellents prédateurs généralistes et peuvent être très efficaces pour lutter contre les ravageurs des cultures (Dennill et Pretorius, 1995; Hernandez et Stonedahl, 1999; Lundgren *et al.*, 2009). En plus comme *B. scalaris*, *O. maxidentex* peut consommer les œufs et les larves néonatales. Deux espèces d'araignées non identifiées ont également joué un rôle sur la régulation de la MEM. Cependant la non-identification de ces espèces constitue une limite importante sur leurs bio-écologies.

### VI.3.2. Facteur biotique : larves baladeurs

Le comportement baladeur des larves néoantales de la MEM, a un impact qu'on peut qualifier d'*autocontrôle biologique*. En effet, notre étude de BSI (*Biocontrol Service Index*) basé sur un dispositif de test d'exclusion à l'aide de manchon de tulles, n'exclut pas cet effet. Les manchons peuvent empêcher les larves néonatales de tomber au niveau des épis protégés, contrairement sur les épis non-protégés. Pour vérifier l'impact de ce comportement baladeur des larves, un dispositif expérimental sous serre pour exclure l'effet de la pluie et des ennemis

naturels, a été réalisé. Nous avons transféré des larves néonatales sur des épis protégés et non protégés. Le pourcentage de perte en larves lié aux chutes, était de 12,7 et 10,4% pour une densité de 6 et 12 larves transférées respectivement (Annexe 7). Ceci montre une limite du BSI estimé avec le dispositif de test d'exclusion avec des manchons, qui risque de le sur-estimé. Le BSI est un indice qui est largement utilisé pour étudier la régulation naturelle (Chaplin–Kramer et Kremen, 2012; Gardiner *et al.*, 2009; Landis *et al.*, 2008; Woltz *et al.*, 2012). Cependant cet indice n'est pas adapté pour étudier la régulation naturelle d'un ravageur qui a un comportement baladeur, comme c'est le cas de la MEM. Néanmoins, nous avons pu montrer que les ennemis naturels jouent un rôle important sur la régulation de la MEM dans le bassin arachidier au Sénégal. Par ailleurs, ce comportement baladeur des larves peut exposer ces dernières à la prédation.

### **VI.3.3. Facteur abiotique : rôle de la pluie**

De par sa variabilité inter-saisonnière et son effet mécanique, la pluie peut affecter la dynamique des populations d'un ravageur (Beirne, 1970; Gaviria et Engelbrecht, 2015; Gutierrez *et al.*, 1988). Nous avons observé une différence d'infestation entre 2015 et 2016. Une différence qui peut être expliquée par une variabilité de la pluviométrie entre ces deux années d'études (voir discussion **Chapitre V**). L'effet mécanique de la pluie combiné aux comportements baladeurs des larves néonatales peuvent avoir un impact sur la mortalité des larves de la MEM. Cependant la pluie prise individuellement n'a pas un effet significatif sur la mortalité des œufs et des larves de la MEM. En effet, nous avons évalué l'impact de la pluie sur la chute des œufs et des larves de la MEM. Un dispositif expérimental comprenant deux modalités, avec (1) un épi protégé de manière permanente à l'aide d'un manchon de tulle [M] et (2) un épi protégé à l'aide d'un manchon puis exposé pendant la pluie [P], a été

réalisé dans une parcelle à Bambey, durant la campagne agricole de 2017. Au total 20 épis ont été suivis pour chaque modalité, et un comptage du nombre de larve a été réalisé 14 jours après pose des manchons. Nous n'avons pas observé une différence significative de la mortalité des larves entre les deux modalités (Annexe 8). Ceci peut être liés en partie à la structure de l'épi de mil qui fait un effet barrière à la pluie, en plus les œufs sont pondus à l'intérieur des glumes et restent collés à l'aide d'une substance sécrétée lors de la ponte par les femelles. Egalement, les galeries creusaient par les larves jeunes et âgées, forment des '*bunkers*' naturels capables de les protéger de la pluie.

#### **VI.4. Effet du paysage sur la performance des ennemis naturels de la MEM**

L'aménagement du paysage peut contribuer à un contrôle biologique durable des ravageurs de culture, en affectant directement la dynamique du ravageur ou indirectement en affectant ses ennemis naturels (Veres *et al.*, 2013). Nos résultats ont montré que l'incidence et la régulation naturelle de la mineuse peuvent être affectés par l'aménagement du paysage à l'échelle locale, et du paysage.

En effet, à l'échelle locale, les parcelles proches des villages bénéficient des services écosystémiques rendu par la présence d'habitats semi-naturels. Nous avons pu montrer que les prédateurs vertébrés de la MEM (**Chapitre IV**), à savoir Tisserin gendarme (TG) et le Taphien de maurice (TM) ont un impact considérable sur la régulation des populations de la MEM. En effet, ces deux espèces nichent sur les arbres (rônier pour le TM et le neem pour TG) situées près des villages. L'abondance de ces arbres dans et autour des parcelles de mil peut favoriser la présence de ces prédateurs et par conséquent leurs impacts sur la régulation naturelle de la MEM. Une augmentation et une conservation de ces espèces arbres dans le paysage environnement semble être une stratégie de lutte biologique par conservation pertinente

et réaliste. D'autant plus, l'apport de fertilisants organiques dans les parcelles proches des villages a un impact sur la régulation naturelle en favorisant une intensification de l'activité biologique dans le sol.

A l'échelle du paysage, une augmentation de la densité de végétations naturelles (arbres et parcours) a un effet sur l'abondance de la MEM et ses ennemis naturels. Les habitats semi-naturels à l'échelle du paysage permettent une meilleure conservation de la biodiversité dans les zones agroforestières. Le maintien des ennemis naturels dans le paysage environnant des zones de production est fondamental pour assurer des programmes de lutte biologique par conservation efficace. Ce maintien est régi à la fois par les pratiques agricoles locales et par la présence de ressources (nourritures, proies, hôtes alternatives) dans le paysage environnant (Monteiro *et al.*, 2013). La présence de parc agroforestiers dans le bassin arachidier du Sénégal et l'absence d'utilisation d'insecticide, jouent un rôle crucial dans le maintien des services écosystémiques fournis par les ennemis naturels aussi bien sur le mil que sur les autres cultures (arachide, niébé, maïs).

Le fait marquant de nos résultats est que l'agro-écosystème à base de mil est un exemple de système agro-écologique fonctionnel qui semble être très stable. Cependant, si l'interaction entre végétations naturelles constituées d'arbres et prédateurs vertébrés est relativement bien appréhendée à la lumière de nos résultats, leurs rôles sur les ennemis naturels arthropodes restent très mal connus.

## VI.5. Perspectives expérimentales

**A l'issue de cette thèse et des résultats obtenus, il serait intéressant :**

*D'identifier les plantes réservoirs sources de nourritures des papillons de la MEM, des parasitoïdes adultes, et des prédateurs omnivores par analyse de régime alimentaire en metabarcoding.*

Grâce à des amorces spécifiques de la végétation présentent dans le paysage, il est possible de déterminer les relations trophiques entre ravageur–plante et ennemis naturels–plante. Ces relations sont importantes à déterminer car elle nous permet d'identifier les espèces végétales susceptibles de favoriser la MEM et ou ses ennemis naturels. Dans ce cas, la réduction et/ou l'élimination des plantes réservoirs de la MEM dans le paysage, mais également la multiplication des plantes réservoirs de ces ennemis naturels peuvent être utilisées comme stratégie de lutte biologique. L'efficacité de l'approche moléculaire pour étudier les interactions entre plante–ravageur–parasitoïdes a été déjà démontré (Derocles *et al.*, 2015).

*D'analyser en metabarcoding les individus morts lors de l'élevage au laboratoire pour vérifier, (1) s'ils étaient parasités et (2) si oui, quelle espèce de parasitoïde provoque le plus de mortalité.*

Compte tenu du taux élevé de mortalité des larves obtenu en élevage, une analyse de ces larves mortes en metabarcoding permettra d'identifier les espèces impliquées dans cette mortalité et d'avoir un aperçu plus complète du rôle des parasitoïdes sur la régulation des populations de la MEM (en cours d'étude). Ceci est également une stratégie intelligente

d'associer l'approche écologique (élevage) et moléculaire (metabarcoding) pour étudier de manière plus pertinente le parasitisme et de toutes les interactions écologiques impliquées.

*D'étudier la dynamique de consommation et la bio-écologie des deux prédateurs vertébrés identifiés, à savoir le Taphien de maurice et le Tisserin gendarme.*

Grâce au metabarcoding, nous avons pu démontrer le potentiel de contrôle biologique de ces deux espèces de prédateurs. Cependant, il serait important d'étudier la dimension spatio-temporelle de la dynamique de prédation de ces espèces sur la MEM. Par exemple, en ce qui concerne les TG, nous n'avons pas confirmé leurs rôle sur les papillons de la MEM. Les échantillons de fèces analysées ont été récoltés en fin floraison mâle qui correspond au stade larvaire de la MEM. Durant la campagne agricole de 2018, nous avons effectué un échantillonnage de fèces d'oiseaux et de chauves-souris sur tout le cycle de développement du mil (épiaison-maturation mil), afin de déterminer le dynamique de la prédation des ces prédateurs sur la population de la MEM. Des informations comme la dispersion, la reproduction, l'immigration de ces espèces dans notre zone d'étude sont encore très mal connu. Grâce à des émetteurs de géo-localisation, il serait possible de suivre la dynamique et le déplacement de ces espèces, en particulier l'espèce de chauve-souris. Les TG de par leurs comportements grégaires sont relativement faciles à suivre. D'après nos observations et les enquêtes réalisées sur le terrain, ces oiseaux s'installent dans la zone au début de l'épiaison du mil, qui correspond au moment de la ponte de la MEM. Cependant, en ce qui concerne l'espèce de chauve-souris insectivore, qui est plutôt solitaire, hormi sa plante nichoir et les informations disponibles dans la littérature (voir Discussion **Chapitre IV**), nous n'avons aucune information sur sa bioécologie.

*D'étudier le rôle des espèces végétales (arbres et parcours) sur les ennemis naturels de la MEM.*

Nos analyses paysagères ont montrées que la végétation semi-naturelle composée d'arbres ou de parcours a un effet positif sur la régulation naturelle de la MEM et de ses composantes. Cependant, nos résultats ne permettent pas de savoir le type d'interaction qui existe entre espèce végétale (*i.e.* arbres) et ennemis naturels. Il est important d'identifier les espèces végétales qui fournissent les services écosystémiques, telles que de l'abri, de la nourriture (nectar et pollen), des proies et hôtes alternatives, aux ennemis naturels.

## Références bibliographiques

### A

---

- Agustí, N., Shayler, S.P., Harwood, J.D., Vaughan, I.P., Sunderland, K.D., Symondson, W.O.C.** 2003. Collembola as alternative prey sustaining spiders in arable ecosystems: prey detection within predators using molecular markers. *Mol. Ecol.* **12**, 3467–3475.
- Altieri, M.A.** 1989. Agroecology: A New Research and Development Paradigm for World Agriculture. *Agric. Ecosyst. Environ.* 37–46.
- Altieri, M.A.** 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems, in: Paoletti, M.G. (Ed.), *Invertebrate Biodiversity as Bioindicators of Sustainable Landscapes*. Elsevier, Amsterdam, pp. 19–31.
- Amarasekare, P.** 2000. Coexistence of competing parasitoids on a patchily distributed host: local vs. spatial mechanisms. *Ecology* **81**, 1286–1296.
- Andersen, K., Bird, K.L., Rasmussen, M., Haile, J., Breunin-Madsen, H., Kjaer, K.H., Orlando, L., Gilbert, M.T.P., Willerslev, E.** 2012. Meta-barcoding of ‘dirt’DNA from soil reflects vertebrate biodiversity. *Mol. Ecol.* **21**, 1966–1979.
- Andrew, N.R., Hill, S.J.** 2017. Effect of Climate Change on Insect Pest Management, in: *Environmental Pest Management*. John Wiley & Sons, 195–223.
- Appert, J.** 1957. Les parasites animaux des plantes cultivées au Sénégal et au Soudan. Gouvernement Général de l’Afrique Occidentale Française, Couve, Paris.
- Ashfaq, M., Braun, L., Hegedus, D., Erlandson, M.** 2004. Estimating parasitism levels in *Lygus* spp. (Hemiptera: Miridae) field populations using standard and molecular techniques. *Biocontrol Sci. Technol.* **14**, 731–735.

### B

---

- Ba, M.N.** 2017. Sustainable large-scale biological control of the millet head worm in the Sahel. (Technical annual report for Mcknight foundation). ICRISAT, Niamey, Niger.
- Ba, M.N., Baoua, I.B., N’Diaye, M., Dabire-Binso, C., Sanon, A., Tamò, M.** 2013. Biological control of the millet head miner *Heliocheilus albipunctella* in the Sahelian

- region by augmentative releases of the parasitoid wasp *Habrobracon hebetor*: effectiveness and farmers' perceptions. *Phytoparasitica* **41**, 569–576.
- Bal, A.B.** 1992. Les principaux insectes du mil au Senegal: importance du parasitisme et methodes de lutte [*Acigona ignefusalis*, *Heliocheilus albipunctella*], in: Seminaire Sur La Lutte Integree Contre Les Ennemis Des Cultures Vivrieres Dans Le Sahel.[2. Seminar on Integrated Pest Management of Food Crops in Sahel]. Bamako (Mali). 4-9 Jan 1990. INRA, Bamako, Mali, pp. 13–23.
- Bal, A.B.** 1993. Etude du parasitisme naturel d'*Heliocheilus albipunctella* de Joannis (Lepidoptere: Noctuidae) par *Trichogrammatoidea* sp. (Hymenoptere: Trichogrammatidae) a Bambey. *Insect Sci. Its Appl.* **14**, 221–221.
- Balasingh, J., Koilraj, J., Kunz, T.H.** 1995. Tent construction by the short-nosed fruit bat *Cynopterus sphinx* (Chiroptera: Pteropodidae) in southern India. *Ethology* **100**, 210–229.
- Balde, M.** 1993. Synthèse des acquis de la recherche entomologique sur les cultures cerealieres et legumineuses. (No. 236/93). CNRA, Bambey (SENEGAL). pp. 22.
- Bale, J.S., Masters, G.J., Hodkinson, I.D., Awmack, C., Bezemer, T.M., Brown, V.K., Butterfield, J., Buse, A., Coulson, J.C., Farrar, J., Good, J.E.G., Harrington, R., Hartley, S., Jones, T.H., Lindroth, R.L., Press, M.C., Symrnioudis, I., Watt, A.D., Whittaker, J.B.** 2002. Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Glob. Change Biol.* **8**, 1–16.
- Baoua, B.I., Ba, M., N'diaye, M.** 2008. Rapport d'activite projet de gestion integree de la mineuse de l'epi du mil (Rapport d'activité). IER/INERA/INRAN/ITA, Burkina Faso, Mali, Niger. pp. 29.
- Baoua, B.I., Niango, M.B., N'diaye, M., Binso, C.D., Tamo, M., Aminou, A.M.** 2009. Projet de gestion integree de la mineuse de l'epi du mil (Bilan 2006/2008). IER/INERA/INRAN/ITA, Mali, burkina Faso, Niger. pp. 28.
- Baoua, I.B., Amadou, L., Oumarou, N., Payne, W., Roberts, J.D., Stefanova, K., Nansen, C.** 2014. Estimating effect of augmentative biological control on grain yields from individual pearl millet heads. *J. Appl. Entomol.* **138**, 281–288.

- Baoua, I.B., Ba, M.N., Amadou, L., Kabore, A., Dabire-Binso, C.L.** 2018. Field dispersal of the parasitoid wasp *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) following augmentative release against the millet head miner *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Sahel. *Biocontrol Sci. Technol.*
- Barba, M.D., Miquel, C., Boyer, F., Mercier, C., Rioux, D., Coissac, E., Taberlet, P.** 2014. DNA metabarcoding multiplexing and validation of data accuracy for diet assessment: application to omnivorous diet. *Mol. Ecol. Resour.* **14**, 306–323.
- Barbosa, P.A.** 1998. Conservation Biological Control, 1st ed. Academic Press. pp. 396.
- Bartlett, B.R.** 1961. The influence of ants upon parasites, predators, and scale insects. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **54**, 543–551.
- Barzman, M., Bàrberi, P., Birch, A.N.E., Boonekamp, P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Graf, B., Hommel, B., Jensen, J.E., Kiss, J., Kudsk, P., Lamichhane, J.R., Messéan, A., Moonen, A.-C., Ratnadass, A., Ricci, P., Sarah, J.-L., Sattin, M.** 2015. Eight principles of integrated pest management. *Agron. Sustain. Dev.* **35**, 1199–1215.
- Bass, C., Jones, C.M.** 2018. Editorial overview: Pests and resistance: Resistance to pesticides in arthropod crop pests and disease vectors: mechanisms, models and tools. *Curr. Opin. Insect Sci., Pests and resistance \* Behavioural ecology* **27**, iv–vii.
- Beddington, J.R., Free, C.A., Lawton, J.H.** 1978. Characteristics of successful natural enemies in models of biological control of insect pests. *Nature* **273**, 513–519.
- Begg, G.S., Cook, S.M., Dye, R., Ferrante, M., Franck, P., Lavigne, C., Lövei, G.L., Mansion-Vaquie, A., Pell, J.K., Petit, S., Quesada, N., Ricci, B., Wratten, S.D., Birch, A.N.E.** 2017. A functional overview of conservation biological control : Pesticide use and risk reduction with IPM. *Crop Prot.* **97**, 145–158.
- Beirne, B.P.** 1970. Effects of precipitation on crop insects. *Can. Entomol.* **102**, 1360–1373.
- Berryman, A.A., Stenseth, N.C., Isaev, A.S.** 1987. Natural regulation of herbivorous forest insect populations. *Oecologia* **71**, 174–184.

- Bezançon, G., Renno, J.-F., Anand Kumar, K.** 1997. Le mil, in: **Charrier, A., Jacquot, M., Hamon, S., Nicolas, D.** (Eds.), *L'amélioration des plantes tropicales*, Repères. André Charrier, Montpellier, pp. 457–482.
- Bezançon G., Pham J.-L.** 2004. Ressources génétiques des mils en Afrique de l'Ouest: diversité, conservation et valorisation: actes de l'atelier "Diversité, conservation et valorisation des ressources génétiques des mils", ICRISAT, Niamey (Niger), 28-29 mai 2002. *IRD. Ed., Colloques et séminaires. France.* pp. 192.
- Bhatnagar, V.S.** 1983. Programme de lutte biologique (Rapport d'activité). CILSS/ISRA, Laboratoire de NIORO. pp. 67.
- Bhatnagar, V.S.** 1987. Conservation and encouragement of natural enemies of insect pests in dryland subsistence farming: Problems, progress and prospects in the Sahelian zone. *Int. J. Trop. Insect Sci.* **8**, 791–795.
- Bhatnagar, V.S.** 1986. Lutte Integree Contre Les Ravageurs Des Cultures Vivrieres Dans Le Sahel (Rapport d'activité No. 625- 0928–85). DPV/ISRA/FAO/USAID, Nioro Rip.
- Bianchi, F.J.J., Booij, C.J., Tschardtke, T.** 2006. Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proc. R. Soc. Biol. Sci.* **273**, 1715–1727.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K., Das, I.** 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecol. Evol.* **22**, 148–155.
- Birkhofer, K., Bylund, H., Dalin, P., Ferlian, O., Gagic, V., Hambäck, P.A., Klapwijk, M., Mestre, L., Roubinet, E., Schroeder, M., Stenberg, J.A., Porcel, M., Björkman, C., Jonsson, M.** 2017. Methods to identify the prey of invertebrate predators in terrestrial field studies. *Ecol. Evol.* **7**, 1942–1953.
- Blackman, R.C., Constable, D., Hahn, C., Sheard, A.M., Durkota, J., Hänfling, B., Handley, L.L.** 2017. Detection of a new non-native freshwater species by DNA metabarcoding of environmental samples—first record of *Gammarus fossarum* in the UK. *Aquat. Invasions* **12**, 177–189.

- Bohan, D.A., Bohan, A.C., Glen, D.M., Symondson, W.O.C., Wiltshire, C.W., Hughes, L.** 2000. Spatial dynamics of predation by carabid beetles on slugs. *J. Anim. Ecol.* **69**, 367–379.
- Borrow, N.A.** 2008. Guide des oiseaux de l’Afrique de l’Ouest. Delachaux et Niestlé. Paris. **1**, pp. 502.
- Bott, N.J., Ophel-Keller, K.M., Sierp, M.T., Rowling, K.P., McKay, A.C., Loo, M.G., Tanner, J.E., Deveney, M.R.** 2010. Toward routine, DNA-based detection methods for marine pests. *Biotechnol. Adv.* **28**, 706–714.
- Bottenberg, H., Singh, B.B.** 1996. Effect of neem leaf extract applied using the ‘broom’ method, on cowpea pests and yield. *Int. J. Pest Manag.* **46**, 207–209.
- Boukary, I.B., Tourneur, J.-C., Gingras, J.** 1996. Life cycle of *Forficula Senegalensis* Serv. (Dermaptera: Forficulidae) and its relationship to the development of Bulrush Millet in the Sudanese-Sahelian zone of Niger. *Can. Entomol.* **128**, 831–838.
- Brodeur, J., Boivin, G., Bourgeois, G., Cloutier, C., Doyon, J., Grenier, P., Gagnon, A.-È.** 2013. Impact des changements climatiques sur le synchronisme entre les ravageurs et leurs ennemis naturels : conséquences sur la lutte biologique en milieu agricole au Québec. pp. 124.
- Brown, S., Collins, R., Boyer, S., Lefort, M.-C., Malumbres-Olarte, J., Vink, C., Cruickshank, R.** 2012. SPIDER : Species Identity and Evolution in R.
- Bruce, T.J.A., Aradottir, G.I., Smart, L.E., Martin, J.L., Caulfield, J.C., Doherty, A., Sparks, C.A., Woodcock, C.M., Birkett, M.A., Napier, J.A., Jones, H.D., Pickett, J.A.** 2015. The first crop plant genetically engineered to release an insect pheromone for defence. *Sci. Rep.* **5**, 11183.
- Bruggers, R.L., Jaeger, M.E., Jaeger, M.M.** 1985. Tisserins gendarmes (*Ploceus cucullatus* abyssinicus) et tisserins masqués (*Ploceus intermedius* intermedius) munis d’émetteurs radio et de rubans dans une colonie de nidification du Sud de l’Ethiopie. *Oiseaux Rev. Fr. Ornithol.* **55**, 81–92.
- Brun-Barale, A., Hema, O., Martin, T., Suraporn, S., Audant, P., Sezutsu, H., Feyereisen, R.** 2010. Multiple P450 genes overexpressed in deltamethrin-resistant strains of *Helicoverpa armigera*. *Pest Manag. Sci.* **66**, 900–909.

- Burel, F., Lavigne, C., Marshall, E.J.P., Moonen, A.C., Ouin, A., Poggio, S.L.** 2013. Landscape ecology and biodiversity in agricultural landscapes. *Agric. Ecosyst. Environ.* **166**, 1–2.
- Busato, E., Ghittino, C., Casale, A.** 2014. Carabus of Subgenus *Cathoplius* C.G. Thomson, 1875, with description of their life-way, life-cycle and pre-imaginal morphology (Coleoptera: Carabidae). *Zootaxa* **3866**, 451–478.
- Buxton, J.H., Madge, D.S.** 1976. The Evaluation of the European Earwig (*Forficula auricularia*) as a Predator of the Damson-Hop Aphid (*Phorodon humuli*). I. Feeding Experiments. *Entomol. Exp. Appl.* **19**, 109–114.

## C

---

- Cardinale, B.J., Duffy, J.E., Gonzalez, A., Hooper, D.U., Perrings, C., Venail, P., Narwani, A., Mace, G.M., Tilman, D., Wardle, D.A., Kinzig, A.P., Daily, G.C., Loreau, M., Grace, J.B., Larigauderie, A., Srivastava, D.S., Naeem, S.** 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature* **486**, 59–67.
- Chacón, J.M., Heimpel, G.E.** 2010. Density-dependent intraguild predation of an aphid parasitoid. *Oecologia* **164**, 213–220.
- Chailleux, A., Droui, A., Bearez, P., Desneux, N.** 2017. Survival of a specialist natural enemy experiencing resource competition with an omnivorous predator when sharing the invasive prey *Tuta absoluta*. *Ecol. Evol.* **7**, 8329–8337.
- Chaplin-Kramer, R., O'Rourke, M.E., Blitzer, E.J., Kremen, C.** 2011. A meta-analysis of crop pest and natural enemy response to landscape complexity: Pest and natural enemy response to landscape complexity. *Ecol. Lett.* **14**, 922–932.
- Chaplin-Kramer, R., Kremen, C.** 2012. Pest control experiments show benefits of complexity at landscape and local scales. *Ecol. Appl.* **22**, 1936–1948.
- Chen, Y., Giles, K.L., Payton, M.E., Greenstone, M.H.** 2000. Identifying key cereal aphid predators by molecular gut analysis. *Mol. Ecol.* **9**, 1887–1898.
- Chisholm, P.J., Gardiner, M.M., Moon, E.G., Crowder, D.W.** 2014. Tools and techniques for investigating impacts of habitat complexity on biological control. *Biol. Control.* **75**, 48–57.

- Clément, J., Bezançon, G., Billard, G.** 1993. Proseptions des mils cultivés et des mils sauvages de l’Afrique de l’Ouest, in: *Le Mil En Afrique*. Paris, France ORSTOM, pp. 9–20.
- Cleveland, C.J., Betke, M., Federico, P., Frank, J.D., Hallam, T.G., Horn, J., López, J.D., McCracken, G.F., Medellín, R.A., Moreno-Valdez, A., Sansone, C.G., Westbrook, J.K., Kunz, T.H.** 2006. Economic value of the pest control service provided by Brazilian free-tailed bats in south-central Texas. *Front. Ecol. Environ.* **4**, 238–243.
- Collias, N.E., Collias, E.C.** 1967. A Quantitative Analysis of Breeding Behavior in the African Village Weaverbird. *The Auk* **84**, 396–411.
- Consoli, F.L., Parra, J.R.P., Zucchi, R.A.** 2010. Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma. *Springer Science & Business Media*. pp. 481.
- Cristescu, M.E., Hebert, P.D.N.,** 2018. Uses and Misuses of Environmental DNA in Biodiversity Science and Conservation. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **49**, 209–230.
- Cruaud, A., Jabbour-Zahab, R., Genson, G., Cruaud, C., Couloux, A., Kjellberg, F., Van Noort, S., Rasplus, J.-Y.** 2010. Laying the foundations for a new classification of Agaonidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), a multilocus phylogenetic approach. *Cladistics* **26**, 359–387.
- Cruaud, P., Rasplus, J.-Y., Rodriguez, L.J., Cruaud, A.** 2017. High-throughput sequencing of multiple amplicons for barcoding and integrative taxonomy. *Sci. Rep.* **7**, 41948.

## D

---

- Dabre, E.E.** 2008. Inventaire et importance des insectes ravageurs du mil, *Pennisetum glaucum* (leek) r. Br. En zone Sahelienne du Burkina Faso (Mémoire d’étude pour l’obtention du Diplôme d’ingénieur du développement rural). Université Polytechnique De Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. pp. 69.
- Dainese, M., Schneider, G., Krauss, J., Steffan-Dewenter, I.** 2017. Complementarity among natural enemies enhances pest suppression. *Sci. Rep.* **7**, 8172.

- Dastjerdi, H.R., Hejazi, M.J., Ganbalani, G.N., Saber, M.** 2009. Sublethal effects of some conventional and biorational insecticides on ectoparasitoid, *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae). *J. Entomol.* **6**, 82–89.
- Davies, A.P., Pufke, U.S., Zalucki, M.P.** 2009. *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Ecology in a Tropical Bt Transgenic Cotton Cropping System: Sampling to Improve Seasonal Pest Impact Estimates in the Ord River Irrigation Area, Australia. *J. Econ. Entomol.* **102**, 1018–1031.
- Davies, A.P., Carr, C.M., Scholz, B.C.G., Zalucki, M.P.** 2011. Using *Trichogramma westwood* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) for insect pest biological control in cotton crops: an Australian perspective. *Aust. J. Entomol.* **50**, 424–440.
- Day, W.H.** 1994. Estimating mortality caused by parasites and diseases of insects: comparisons of the dissection and rearing methods. *Environ. Entomol.* **23**, 543–550.
- De Bach, P.** 1964. The scope of biological control, in: Biological Control of Insect Pests and Weeds. London, UK, pp. 3–20.
- DeBach, P., Rosen, D.** 1991. Biological Control by Natural Enemies. CUP Archive. pp. 466.
- Delvare, G., Aberlenc, H.-P.** 1989. Les insectes d’Afrique et d’Amérique tropicale: clés pour la reconnaissance des familles, Quae. Ed. CIRAD-GERDAT. pp. 289.
- Dempster, J.P.** 1967. The Control of *Pieris rapae* with DDT. I. The Natural Mortality of the Young Stages of *Pieris*. *J. Appl. Ecol.* **4**, 485–500.
- Dengis, C.A.** 1996. *Taphozous mauritianus*. *Mamm. Species* 1–5.
- Dennill, G.B., Pretorius, W.L.** 1995. The status of Diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Plutellidae), and its parasitoids on cabbages in South Africa. *Afr. Entomol.* **3**, 65–71.
- Derocles, S.A., Plantegenest, M., Simon, J.-C., Taberlet, P., Le Ralec, A.** 2012. A universal method for the detection and identification of Aphidiinae parasitoids within their aphid hosts. *Mol. Ecol. Resour.* **12**, 634–645.

- Derocles, S.A., Evans, D.M., Nichols, P.C., Evans, S.A., Lunt, D.H.** 2015. Determining plant–leaf miner–parasitoid interactions: a DNA barcoding approach. *PLoS One* **10**, e0117872.
- Derocles, S.A., Plantegenest, M., RASPLUS, J.-Y., Marie, A., Evans, D.M., Lunt, D.H., Le Ralec, A.** 2016. Are generalist Aphidiinae (Hym. Braconidae) mostly cryptic species complexes? *Syst. Entomol.* **41**, 379–391.
- Diémé, E.** 1986. Etude biologique au laboratoire de *Bracon hebetor* Say (Hymenoptera : Braconidae), parasite de *Raghuva albipunctella* Joannis (Lepidoptera: Noctuidae) et d'*Ephestia kuehniella* Zell (Lepidoptera: Phycitidae) au Sénégal. (Rapport d'étude), Sous programme de lutte biologique, Projet de CLSS de lutte intégrée. CNRA, Nioro du Rip. pp. 31.
- Dill, L.M., Fraser, A.H.G., Roitberg, B.D.** 1990. The economics of escape behaviour in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Oecologia* **83**, 473–478.
- Dioulla, H.** 2009. Préférence de site de ponte de *Habrobracon Hebetor* say (Hymenoptera, Braconidae), ectoparasitoïde de *Heliocheilus albipunctella* de Joannis (Lepidoptera, Noctuidae) au laboratoire de la Direction de la Protection des Végétaux (DPV). (Mémoire d'étude pour l'obtention du Diplôme de Technicien du développement rural IPDR/KOLLO). Niamey. pp. 34.
- Driesche, R.V., Jr, T.S.B.** 1996. Biological Control. Springer Science & Business Media. pp. 539.
- Duffield, S.** 1994a. Trichogramma Egg Parasitism of *Helicoverpa armigera* on Short-Duration Pigeonpea Intercultured with Sorghum. *Entomol. Exp. Appl.* **72**, 289–296.
- Duffy, J.E., Cardinale, B.J., France, K.E., McIntyre, P.B., Thébault, E., Loreau, M.** 2007. The functional role of biodiversity in ecosystems: incorporating trophic complexity. *Ecol. Lett.* **10**, 522–538.
- Duman, M., Guz, N., Sertkaya, E.** 2015. DNA barcoding of sunn pest adult parasitoids using Cytochrome c Oxidase subunit I (COI). *Biochem. Syst. Ecol.* **59**, 70–77.
- Dunne, J.A., Williams, R.J., Martinez, N.D.** 2002. Food-web structure and network theory: The role of connectance and size. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **99**, 12917–12922.

**E**

---

- Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C., Knight, R.** 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* **27**, 2194–2200.
- Eggleton, P., Belshaw, R.** 1992. Insect parasitoids: an evolutionary overview. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **337**, 1–20.
- Ehler, L.** 1998. Chapter 1 - Conservation biological control: Past, present, and future, in: **Barbosa, P.** (Ed.), Conservation Biological Control. *Academic Press*, San Diego, pp. 1–8.
- Elbrecht, V., Vamos, E., Meissner, K., Aroviita, J., Leese, F.** 2017. Assessing strengths and weaknesses of DNA metabarcoding based macroinvertebrate identification for routine stream monitoring. *PeerJ Prepr.* **24**.
- Elliott, N., Kieckhefer, R., Kauffman, W.** 1996. Effects of an invading coccinellid on native coccinellids in an agricultural landscape. *Oecologia* **105**, 537–544.
- Elzen, G.W., King, E.G.** 1999. CHAPTER 11 - Periodic Release and Manipulation of Natural Enemies, in: **Bellows, T.S., Fisher, T.W.** (Eds.), Handbook of Biological Control. Academic Press, San Diego, pp. 253–270.
- Erlinge, S., Goransson, G., Hogstedt, G., Jansson, G., Liberg, O., Loman, J., Nilsson, I.N., von Schantz, T., Sylven, M.** 1984. Can Vertebrate Predators Regulate Their Prey? *Am. Nat.* **123**, 125–133.
- Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez-Raquet, G., Combes, S., Pascal, G.** 2018. FROGS: Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution. *Bioinforma. Oxf. Engl.* **34**, 1287–1294.
- Eubanks, M.D.** 2001. Estimates of the direct and indirect effects of red imported fire ants on biological control in field crops. *Biol. Control* **21**, 35–43.
- Eubanks, M.D., Blackwell, S.A., Parrish, C.J., Delamar, Z.D., Hull-Sanders, H.** 2002. Intraguild predation of beneficial arthropods by red imported fire ants in cotton. *Environ. Entomol.* **31**, 1168–1174.

**F**

---

- Fadrosh, D.W., Ma, B., Gajer, P., Sengamalay, N., Ott, S., Brotman, R.M., Ravel, J.** 2014. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform. *Microbiome* **2**, 6.
- FAO**, 2016. La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture 2016 (SOFA): Changement climatique, agriculture et sécurité alimentaire. (Rapport annuel). Rome. pp. 234.
- Feener Jr, D.H., Brown, B.V.** 1997. Diptera as parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.* **42**, 73–97.
- Ficetola, G.F., Pansu, J., Bonin, A., Coissac, E., Giguët-Covex, C., De Barba, M., Gielly, L., Lopes, C.M., Boyer, F., Pompanon, F.** 2015. Replication levels, false presences and the estimation of the presence/absence from eDNA metabarcoding data. *Mol. Ecol. Resour.* **15**, 543–556.
- Firlej, A., Doyon, J., Harwood, J.D., Brodeur, J.** 2013. A Multi-Approach Study to Delineate Interactions Between Carabid Beetles and Soybean Aphids. *Environ. Entomol.* **42**, 89–96.
- Fisher, R.C.** 1961. A Study in Insect Multiparasitism: II. The Mechanism and Control of Competition for Possession of the Host. *J. Exp. Biol.* **38**, 605–629.
- Fisher, T.W., Bellows, T.S., Caltagirone, L.E., Dahlsten, D.L., Huffaker, C.B., Gordh, G.** 1999. Handbook of Biological Control: Principles and Applications of Biological Control. Academic Press. pp. 1046.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R.,** 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase Subunit 1 from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* **3**, 294–299.
- Frago, E.** 2016. Interactions between parasitoids and higher order natural enemies: intraguild predation and hyperparasitoids. *Curr. Opin. Insect Sci.* **14**, 81–86.
- Furlong, M.J., Rowley, D.L., Murtiningsih, R., Greenstone, M.H.** 2014. Combining ecological methods and molecular gut-content analysis to investigate predation of a lepidopteran pest complex of Brassica crops. *Entomol. Exp. Appl.* **153**, 128–141.

**Furlong, M.J.** 2015. Knowing your enemies: integrating molecular and ecological methods to assess the impact of arthropod predators on crop pests. *Insect Sci.* **22**, 6–19.

## G

---

**Gahukar, R. T.** 1984. Insect pests of earl millet in West Africa. *Trop. Pest Manag.* **30**, 142–147.

**Gahukar, R.T., Bos, W.S., Bhatnagar, V.S., Diémé, E., Fytizas, E., Bal, A.B.,** 1986a. Acquis récents en entomologie du mil au Senegal (Rapport Annuel, CNRA Bambey). SENEGAL. pp. 29.

**Gahukar, R.T., Guevremont, H., Bhatnagar, V.S., Doumbia, Y.O., Ndoye, M., Pierrard, G.,** 1986b. A review of the pest status of the millet spike worm, *Raghuva albipunctella* de Joannis (Noctuidae: Lepidoptera) and its management in the Sahel. *Int. J. Trop. Insect Sci.* **7**, 457–463.

**Gahukar, R.T.** 1987. Relationship between spike worm (*Raghuva albipunctella*) infestation and flowering of pearl millet, and some sources of resistance. *Agronomie* **7**, 595–598.

**Gahukar, R.T.** 1989. Insect pests of millets and their management: A review. *Trop. Pest Manag.* **35**, 382–391.

**Gahukar, R.T.** 1990. Field screening of pearl millet cultivars in relation to insects and diseases. *Int. J. Trop. Insect Sci.* **11**, 13–19.

**Galan, M., Guivier, E., Caraux, G., Charbonnel, N., Cosson, J.-F.** 2010. A 454 multiplex sequencing method for rapid and reliable genotyping of highly polymorphic genes in large-scale studies. *BMC Genomics* **11**, 296.

**Galan, M., Pagès, M., Cosson, J.-F.** 2012. Next-Generation Sequencing for Rodent Barcoding: Species Identification from Fresh, Degraded and Environmental Samples. *Plos One* **7**, e48374.

- Galan, M., Razzauti, M., Bard, E., Bernard, M., Brouat, C., Charbonnel, N., Dehne-Garcia, A., Loiseau, A., Tatard, C., Tamisier, L., Vayssier-Taussat, M., Vignes, H., Cosson, J.-F.** 2016. 16S rRNA Amplicon Sequencing for Epidemiological Surveys of Bacteria in Wildlife. *mSystems* **1**.
- Galan, M., Pons, J.-B., Tournayre, O., Pierre, É., Leuchtmann, M., Pontier, D., Charbonnel, N.** 2018. Metabarcoding for the parallel identification of several hundred predators and their prey: Application to bat species diet analysis. *Mol. Ecol. Resour.* **18**, 474–489.
- Garba, M., Loiseau, A., Benoit, L., Gauthier, N.** 2016. A new suite of twenty-two polymorphic microsatellite loci in the parasitic wasp, *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae): Promising molecular tools for studying the population genetics of several beneficial braconid species. *EJE* **113**, 265–269.
- Gardiner, M.M., Landis, D.A., Gratton, C., DiFonzo, C.D., O’Neal, M., Chacon, J.M., Wayo, M.T., Schmidt, N.P., Mueller, E.E., Heimpel, G.E.** 2009. Landscape diversity enhances biological control of an introduced crop pest in the north-central USA. *Ecol. Appl.* **19**, 143–154.
- Garipey T., Kuhlmann U., Gillott C., Erlandson M.** 2007. Parasitoids, predators and PCR: the use of diagnostic molecular markers in biological control of Arthropods. *J Appl Entomol* **131**, 225–240.
- Garipey, T., Kuhlmann, U., Gillott, C., Erlandson, M.** 2008. A large-scale comparison of conventional and molecular methods for the evaluation of host–parasitoid associations in non-target risk-assessment studies. *J. Appl. Ecol.* **45**, 708–715.
- Garipey, T., Haye, T., Zhang, J.** 2014. A molecular diagnostic tool for the preliminary assessment of host–parasitoid associations in biological control programmes for a new invasive pest. *Mol. Ecol.* **23**, 3912–3924.
- Gaviria, J., Engelbrecht, B.M.J.** 2015. Effects of Drought, Pest Pressure and Light Availability on Seedling Establishment and Growth: Their Role for Distribution of Tree Species across a Tropical Rainfall Gradient. *Plos One* **10**, e0143955.

- George E. H., Michael F.A., Rosa A.F., and Michael R.S.** 1997. Reproductive Isolation and Genetic Variation between Two 'Strains' of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Biol. Control* **9**, 149–156.
- Georgiadis, N., Tsarouhas, K., Tsitsimpikou, C., Vardavas, A., Rezaee, R., Germanakis, I., Tsatsakis, A., Stagos, D., Kouretas, D.** 2018. Pesticides and cardiotoxicity. Where do we stand? *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **353**, 1–14.
- Germain, J.-F., Chatot, C., Meusnier, I., Artige, E., Rasplus, J.-Y., Cruaud, A.** 2013. Molecular identification of *Epitrix potato* flea beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) in Europe and North America. *Bull. Entomol. Res.* **103**, 354–362.
- Getu, E., Overholt, W.A., Kairu, E.** 2004. Comparative studies on the influence of relative humidity and temperature on life table parameters of two populations of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera : Braconidae). *Biocontrol Sci. Technol.* **14**, 595–605.
- Gillet, F., Tiouchichine, M.-L., Galan, M., Blanc, F., Némoz, M., Aulagnier, S., Michaux, J.R.** 2015. A new method to identify the endangered Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) and to study its diet, using next generation sequencing from faeces. *Mamm. Biol. - Z. Für Säugetierkd.* **80**, 505–509.
- Gliessman, S.R.** 1992. Agroecology in the tropics: Achieving a balance between land use and preservation. *Environ. Manage.* **16**, 681–689.
- Godfray, H.C.J.** 1994. Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press.
- Gomez-Polo, P., Alomar, O., Castañé, C., Aznar-Fernández, T., Lundgren, J.G., Piñol, J., Agustí, N.** 2016. Understanding trophic interactions of *Orius* spp. (Hemiptera: Anthocoridae) in lettuce crops by molecular methods. *Pest Manag. Sci.* **72**, 272–279.
- Gontijo, L.M., Beers, E.H., Snyder, W.E.** 2015. Complementary suppression of aphids by predators and parasitoids. *Biol. Control* **90**, 83–91.
- Gotwald Jr, W.H.** 1995. Army ants: the biology of social predation. Cornell University Press.

- Goudiaby, M.F., Sarr, I., Sembène, M.** 2018. Source of resistance in pearl millet varieties against the stem borers and the ear head miner. *J. Entomol. Zool. Stud.* **6**, 1702–1708.
- Grandgirard, J.** 2003. Localisation et exploitation des patches d'hôtes chez le parasitoïde *Trybliographa rapae* W. (Hymenoptera: Figittidae): approche théorique et application à la lutte biologique contre la mouche du chou *Delia radicum* L. (Diptera: Anthomyiidae). *Rennes* **1**.
- Green, S.V., Owusu, E.O., Youm, O., David R.** 1999. Mating Behaviour of the Millet Head miner Moth, *Heliocheilus albipunctella* (de Joannis) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliiothinae). *Appendix* **3**, 1–13.
- Greenberg, R., Bichier, P., Angón, A.C.** 2000. The conservation value for birds of cacao plantations with diverse planted shade in Tabasco, Mexico. *Anim. Conserv. Forum* **3**, 105–112.
- Greenstone, M.H.** 2006. Molecular methods for assessing insect parasitism. *Bull. Entomol. Res.* **96**, 1–13.
- Greenwood, J.M., Ezquerra, A.L., Behrens, S., Branca, A., Mallet, L.** 2016. Current analysis of host–parasite interactions with a focus on next generation sequencing data. *Zoology, SI: Host-Parasite Coevolution* **119**, 298–306.
- Guardiola, M., Uriz, M.J., Taberlet, P., Coissac, E., Wangenstein, O.S., Turon, X.** 2015. Deep-Sea, Deep-Sequencing: Metabarcoding Extracellular DNA from Sediments of Marine Canyons. *Plos One* **10**, e0139633.
- Guevremont, H.** 1983. Recherche sur l'entomofaune du mil (Rapport annuel de recherche pour 1982). CNRA, Maradi, Niger.
- Gurr, G.M., Van Emden, H.F., Wratten, S.D.** 1998. Habitat manipulation and natural enemy efficiency: implications for the control of pests, in: *Conservation Biological Control*. Elsevier, pp. 155–183.
- Gurr, G.M., Wratten, S.D., Barbosa, P.** 2000. Success in conservation biological control of arthropods, in: *Biological Control: Measures of Success*. Springer, Dordrecht, pp. 105–132.

- Gurr, G.M., Wratten, S.D., Luna, J.M.** 2003. Multi-function agricultural biodiversity: pest management and other benefits. *Basic Appl. Ecol.* **4**, 107–116.
- Gurr, G.M., You, M.** 2016. Conservation Biological Control of Pests in the Molecular Era: New Opportunities to Address Old Constraints. *Front. Plant Sci.* **6**.
- Gutierrez, A.P., Neuenschwander, P., Schulthess, F., Herren, H.R., Baumgaertner, J.U., Wermelinger, B., Lohr, B., Ellis, C.K.** 1988. Analysis of biological control of cassava pests in Africa. II. Cassava mealybug *Phenacoccus manihoti*. *J. Appl. Ecol.* 921–940.

## H

---

- Hagvar, E.B.** 1988. Multiparasitism of the green peach aphid, *Myzus persicae*: competition in the egg stage between *Aphidius matricariae* and *Ephedrus cerasicola*. *Entomol. Exp. Appl.* **47**, 275–282.
- Hajek, A.E.** 2004. Natural enemies: an introduction to biological control. Cambridge University Press.
- Hajibabaei, M., Singer, G.A., Hebert, P.D., Hickey, D.A.** 2007. DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *TRENDS Genet.* **23**, 167–172.
- Hall, A.A.G., Steinbauer, M.J., Taylor, G.S., Johnson, S.N., Cook, J.M., Riegler, M.** 2017. Unravelling mummies: cryptic diversity, host specificity, trophic and coevolutionary interactions in psyllid – parasitoid food webs. *BMC Evol. Biol.* **17**, 127.
- Harcourt, D.G.** 1966. Major factors in survival of the immature stages of *Pieris rapae* (L.). *The Canadian Entomologist.* **98**, 653–662
- Harris, D.J.** 2003. Can you bank on GenBank? *Trends Ecol. Evol.* **18**, 317–319.
- Harvey, J.A., Snaas, H., Malcicka, M., Visser, B., Bezemer, T.M.** 2014. Small-scale spatial resource partitioning in a hyperparasitoid community. *Arthropod-Plant Interact.* **8**, 393–401.

- Harwood, J.D., Obrycki, J.J.**, 2005. The role of alternative prey in sustaining predator populations. *Second Int. Symp. Biol. Control Arthropods Davos Switz.* 12-16 Sept. 2005 453–462.
- Harwood, J.D., Desneux, N., Yoo, H.J.S., Rowley, D.L., Greenstone, M.H., Obrycki, J.J., O'Neil, R.J.** 2007. Tracking the role of alternative prey in soybean aphid predation by *Orius insidiosus* : a molecular approach. *Mol. Ecol.* **16**, 4390–4400.
- Hebert, P.D., Cywinska, A., Ball, S.L., DeWaard, J.R.** 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **270**, 313–321.
- Hernandez, L.M., Stonedahl, G.M.** 1999. A review of the economically important species of the genus *Orius* (Heteroptera : Anthocoridae) in East Africa. *J. Nat. Hist.* **33**, 543–568.
- Hladik, M.L., Kolpin, D.W., Kuivila, K.M.** 2014. Widespread occurrence of neonicotinoid insecticides in streams in a high corn and soybean producing region, USA. *Environ. Pollut. Barking Essex 1987* **193**, 189–196.
- Holmes, R.T., Schultz, J.C., Nothnagle, P.** 1979. Bird Predation on Forest Insects: An Exclosure Experiment. *Science* **206**, 462–463.
- Hoy, M.A.** 2000. Transgenic Arthropods for Pest Management Programs: Risks and Realities. *Exp. Appl. Acarol.* **24**, 463–495.
- Hrčěk, J., Godfray, H.C.J.** 2015. What do molecular methods bring to host–parasitoid food webs? *Trends Parasitol.* **31**, 30–35.
- Huddleston, T., Walker, A.K.** 1988. *Cardiochiles* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of lepidopterous larvae, in the Sahel of Africa, with a review of the biology and host relationships of the genus. *Bull. Entomol. Res.* **78**, 435–461.
- Hughes, D., and Rhind, D.** 1988. Control of the millet head worm in northern Sudan. *International Journal of Pest Management* **34**, 346–348.
- Hughes, G.E., Bale, J.S., Sterk, G.** 2009. Thermal biology and establishment potential in temperate climates of the predatory mirid *Nesidiocoris tenuis*. *BioControl* **54**, 785–795.

## I

---

Ings, T.C., Montoya, J.M., Bascompte, J., Blüthgen, N., Brown, L., Dormann, C.F., Edwards, F., Figueroa, D., Jacob, U., Jones, J.I., Lauridsen, R.B., Ledger, M.E., Lewis, H.M., Olesen, J.M., van Veen, F.J.F., Warren, P.H., Woodward, G. 2009. Ecological networks--beyond food webs. *J. Anim. Ecol.* **78**, 253–269.

## J

---

Jannoura, R., Joergensen, R.G., Bruns, C. 2014. Organic fertilizer effects on growth, crop yield, and soil microbial biomass indices in sole and intercropped peas and oats under organic farming conditions. *Eur. J. Agron.* **52**, 259–270.

Janssen, A., Sabelis, M.W., Magalhães, S., Montserrat, M., Hammen, T. van der. 2007. Habitat Structure Affects Intraguild Predation. *Ecology* **88**, 2713–2719.

Javed, H., Iqbal, J., Khan, T.M. 2013. Studies on Population Dynamics of Insect Pest of Safflower, *Carthamus tinctorius* L. *Pak. J. Zool.* **45**, 213–217.

Ji, Y., Ashton, L., Pedley, S.M., Edwards, D.P., Tang, Y., Nakamura, A., Kitching, R., Dolman, P.M., Woodcock, P., Edwards, F.A. 2013. Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding. *Ecol. Lett.* **16**, 1245–1257.

Jonsson, M., Wratten, S.D., Landis, D.A., Gurr, G.M. 2008. Recent advances in conservation biological control of arthropods by arthropods. *Biol. Control, Conservation Biological Control* **45**, 172–175.

Julsirikul, D., Worapong, J., Kitthawee, S. 2014. Analysis of mitochondrial COI sequences of the *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) species complex in Thailand. *Entomol. Sci.* **17**, 231–239.

## K

---

Kabore, A., Ba, N.M., Dabire-Binso, C.L., Sanon, A., 2017. Field persistence of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) following augmentative releases against the millet head miner, *Heliocheilus albipunctella* (de Joannis) (Lepidoptera: Noctuidae), in the Sahel. *Biol. Control.* **108**, 64–69.

- Kajita, H.** 1986. Predation by *Amblyseius* spp. (Acarina : Phytoseiidae) and *Orius* sp. (Hemiptera : Anthocoridae) on Thrips *Palmi karny* (Thysanoptera : Thripidae). *Appl. Entomol. Zool.* **21**, 482–484.
- Kalka, M., Kalko, E.K.V.** 2006. Gleaning bats as underestimated predators of herbivorous insects: diet of *Micronycteris microtis* (Phyllostomidae) in Panama. *J. Trop. Ecol.* **22**, 1–10.
- Kalyanasundaram, M., Kamala, I.M.** 2016. Chapter 4 - Parasitoids, in: Ecofriendly Pest Management for Food Security. Academic Press, San Diego, pp. 109–138.
- Karimoune, L., Ba, M.N., Baoua, I.B., Muniappan, R.** 2018. The parasitoid *Trichogrammatoidea armigera* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae) is a potential candidate for biological control of the millet head miner *Heliocheilus albipunctella* (de Joannis (Lepidoptera: Noctuidae) in the Sahel. *Biol. Control.* **127**, 9–16.
- Karp, D.S., Chaplin-Kramer, R., Meehan, T.D., Martin, E.A., DeClerck, F., Grab, H., Gratton, C., Hunt, L., Larsen, A.E., Martínez-Salinas, A., O'Rourke, M.E., Rusch, A., Poveda, K., Jonsson, M., Rosenheim, J.A., Schellhorn, N.A., Tscharrntke, T., Wratten, S.D., Zhang, W., Iverson, A.L., Adler, L.S., Albrecht, M., Alignier, A., Angelella, G.M., Anjum, M.Z., Avelino, J., Batáry, P., Baveco, J.M., Bianchi, F.J.J.A., et al.** 2018. Crop pests and predators exhibit inconsistent responses to surrounding landscape composition. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 201800042.
- Kartzinel, T.R., Chen, P.A., Coverdale, T.C., Erickson, D.L., Kress, W.J., Kuzmina, M.L., Rubenstein, D.I., Wang, W., Pringle, R.M.** 2015. DNA metabarcoding illuminates dietary niche partitioning by African large herbivores. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 201503283.
- Kernasa, O., Kaewpradit, A., Suasa-ard, W.** 2008. Biology of *Orius maxidentex* Ghauri (Hemiptera: Anthocoridae) and feeding capacity against *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), in: 46. Kasetsart University Annual Conference, Bangkok (Thailand).
- King, R.A., Vaughan, I.P., Bell, J.R., Bohan, D.A., Symondson, W.O.C.** 2010. Prey choice by carabid beetles feeding on an earthworm community analysed using species- and lineage-specific PCR primers. *Mol. Ecol.* **19**, 1721–1732.

- Kingdon, J.** 1974. East African Mammals: An Atlas of Evolution in Africa, Academic Press. Ed. Jonathan Kingdon, Londre. pp. 358.
- Kircher, M., Sawyer, S., Meyer, M.** 2012. Double indexing overcomes inaccuracies in multiplex sequencing on the Illumina platform. *Nucleic Acids Res.* **40**, e3–e3.
- Kirk, D.A., Evenden, M.D., Mineau, P.** 1996. Past and Current Attempts to Evaluate the Role of Birds as Predators of Insect Pests in Temperate Agriculture, in: Ketterson, Jr, V.N., Ed. *Current Ornithology*. Springer US, pp. 175–269.
- Kitson, J.J.N., Hahn, C., Sands, R.J., Straw, N.A., Evans, D.M., Lunt, D.H.** 2018. Detecting host-parasitoid interactions in an invasive Lepidopteran using nested tagging DNA-metabarcoding. *bioRxiv* 035071.
- Kneitel, J.M., Chase, J.M.** 2004. Trade-offs in community ecology: linking spatial scales and species coexistence. *Ecol. Lett.* **7**, 69–80.
- Kobori, H., Primack, R.B.** 2003. Participatory conservation approaches for Satoyama, the traditional forest and agricultural landscape of Japan. *AMBIO J. Hum. Environ.* **32**, 307–311.
- Koss, A.M., Snyder, W.E.,** 2005. Alternative prey disrupt biocontrol by a guild of generalist predators. *Biol. Control* **32**, 243–251.
- Krall, S., Youm, O., Kogo, S.,** 1995. Panicle insect pest damage and yield loss in pearl millet, in: Panicle Insect Pests of Sorghum and Pearl Millet: Proceedings of an International Consultative Workshop. Nwanze et Youm, pp. 135–145.
- Kress, W.J., García-Robledo, C., Uriarte, M., Erickson, D.L.** 2015. DNA barcodes for ecology, evolution, and conservation. *Trends Ecol. Evol.* **30**, 25–35.
- Kromp, B.,** 1999. Carabid beetles in sustainable agriculture: a review on pest control efficacy, cultivation impacts and enhancement. *Agric. Ecosyst. Environ.* **74**, 187–228.
- Kruess, A., Tschardtke, T.,** 1994. Habitat Fragmentation, Species Loss, and Biological Control. *Science* **264**, 1581–1584.

- Kumar, N.S., Ananthakrishnan, T.N.**, 1984. Predatorthrips interactions with reference to *Orius maxidentex* Ghauri and *Carayonocoris indicus* Muraleedharan (Anthocoridae: Heteroptera). *Proc Ind Nat'l Sci Acad B* **50**, 139–145.
- Kunz, T.H., Torrez, E.B. de, Bauer, D., Lobova, T., Fleming, T.H.**, 2011. Ecosystem services provided by bats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1223**, 1–38.
- Kunz, T.H.**, 2013. Ecology of Bats. Springer Science & Business Media.

## L

---

- Lamichhane, J.R., Bischoff-Schaefer, M., Bluemel, S., Dachbrodt-Saaydeh, S., Dreux, L., Jansen, J.-P., Kiss, J., Köhl, J., Kudsk, P., Malausa, T., Messéan, A., Nicot, P.C., Ricci, P., Thibierge, J., Villeneuve, F.** 2017. Identifying obstacles and ranking common biological control research priorities for Europe to manage most economically important pests in arable, vegetable and perennial crops. *Pest Manag. Sci.* **73**, 14–21.
- Landis, D.A., Werf, W.** 1997. Early-season predation impacts the establishment of aphids and spread of beet yellows virus in sugar beet. *Entomophaga* **42**, 499–516.
- Landis, D.A., Wratten, S.D., Gurr, G.M.** 2000. Habitat Management to Conserve Natural Enemies of Arthropod Pests in Agriculture. *Annu. Rev. Entomol.* **45**, 175–201.
- Landis, D.A., Gardiner, M.M., Werf, W. van der, Swinton, S.M.** 2008. Increasing corn for biofuel production reduces biocontrol services in agricultural landscapes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 0804951106.
- LaSall, J., Gauld, I.D.** 1991. Parasitic Hymenoptera and the biodiversity crisis. *Redia* 315–334.
- László, Z., Tóthmérész, B.** 2013. Landscape and local effects on multiparasitoid coexistence. *Insect Conserv. Divers.* **6**, 354–364.
- Le Rü, B., Iziqel, Y.** 1990. Étude expérimentale, à l'aide d'un simulateur de pluies, de l'effet mécanique de la chute des pluies sur les populations de la cochenille du manioc, *Phenacoccus maniltoti*. *Acta Ecol.* **11**, 741–754.
- Lee, J.C., Menalled, F.D., Landis, D.A.** 2001. Refuge habitats modify impact of insecticide disturbance on carabid beetle communities. *J. Appl. Ecol.* **38**, 472–483.

- Lee, Y.-F., McCracken, G.F.** 2002. Foraging activity and food resource use of Brazilian free-tailed bats, *Tadarida brasiliensis* (Molossidae). *Ecoscience* **9**, 306–313.
- Lee, Y.-F., McCracken, G.F.** 2005. Dietary variation of Brazilian free-tailed bats links to migratory populations of pest insects. *J. Mammal.* **86**, 67–76.
- Letourneau, D.K., Jedlicka, J.A., Bothwell, S.G., Moreno, C.R.** 2009. Effects of Natural Enemy Biodiversity on the Suppression of Arthropod Herbivores in Terrestrial Ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **40**, 573–592.
- Liang, G.H., Jang, E.B., Heller, W.P., Chang, C.L., Chen, J.H., Zhang, F.P., Geib, S.M.** 2015. A qPCR-based method for detecting parasitism of *Fopius arisanus* (Sonan) in oriental fruit flies, *Bactrocera dorsalis* (Hendel). *Pest Manag. Sci.* **71**, 1666–1674.
- Liu, B., Yang, L., Yang, F., Wang, Q., Yang, Y., Lu, Y., Gardiner, M.M.** 2016. Landscape diversity enhances parasitism of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) eggs by *Trichogramma chilonis* in cotton. *Biol. Control* **93**, 15–23.
- Lopes, C.M., De Barba, M., Boyer, F., Mercier, C., da Silva Filho, P.J.S., Heidtmann, L.M., Galiano, D., Kubiak, B.B., Langone, P., Garcias, F.M.** 2015. DNA metabarcoding diet analysis for species with parapatric vs sympatric distribution: a case study on subterranean rodents. *Heredity* **114**, 525.
- Losey, J.E., Vaughan, M.** 2008. Conserving the Ecological Services Provided by Insects. *Am. Entomol.* **54**, 113–115.
- Lu, Y., Wu, K., Jiang, Y., Guo, Y., Desneux, N.** 2012. Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services. *Nature* **487**, 362–365.
- Luff, M.L.** 1974. Adult and larval feeding habits of *Pterostichus madidus* (F.) (Coleoptera: Carabidae). *J. Nat. Hist.* **8**, 403–409.
- Luff, M.L.** 1983. The potential of predators for pest control. *Agric. Ecosyst. Environ., Biological control* **10**, 159–181.
- Lundgren, J.G.** 2009. Nutritional aspects of non-prey foods in the life histories of predaceous Coccinellidae. *Biol. Control* **51**, 294–305.

**Lundgren, J.G., Wyckhuys, K.A.G., Desneux, N.** 2009. Population responses by *Orius insidiosus* to vegetational diversity. *BioControl* **54**, 135–142.

## M

---

**Magoc, T., Salzberg, S.L.** 2011. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics* **27**, 2957–2963.

**Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., de Vargas, C., Dunthorn, M.** 2014. Swarm: robust and fast clustering method for amplicon-based studies. *PeerJ* **2**, e593.

**Maine, J.J., Boyles, J.G.** 2015. Bats initiate vital agroecological interactions in corn. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**, 12438–12443.

**Manjunath, T.M.** 1972. Biological studies on *Trichogrammatoidea armigera* Nagaraja a new dimorphic egg parasite of *Heliothis armigera* (Hübner) in India. *Entomophaga* **17**, 131–147.

**Martin, E.A., Reineking, B., Seo, B., Steffan-Dewenter, I.** 2013. Natural enemy interactions constrain pest control in complex agricultural landscapes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 5534–5539.

**Martin, M.** 2011. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMB.net journal* **17**, 10.

**Matthews, M.** 1987. The African species of *Heliocheilus grote* (Lepidoptera: Noctuidae). *Syst. Entomol.* **12**, 459–473.

**Mbaye, D.F.** 1993. Chapitre XV : Contraintes phytosanitaires du mil dans le sahel. In : Etat des connaissances et perspectives. ISRA-CNRA, 173–180.

**Medina, R.F., Barbosa, P.** 2002. Predation of small and large *Orgyia leucostigma* (JE Smith) (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae by vertebrate and invertebrate predators. *Environ. Entomol.* **31**, 1097–1102.

**Mémento de l'agronome**, 2002. Mémento de l'agronome, Quae. Ed. Minitre des Affaires Etrangères, France.

- Menalled, F.D., Marino, P.C., Gage, S.H., Landis, D.A.** 1999. Does Agricultural Landscape Structure Affect Parasitism and Parasitoid Diversity? *Ecol. Appl.* **9**, 634–641.
- Miranda, F., Bylund, H., Gronberg, L., Larsson, L., Bjorkman, C.** 2011. Population Density and Killing Capacity by Predators of Eggs and Larvae of the Diamondback Moth in Nicaragua. *Environ. Entomol.* **40**, 333–341.
- Molot, G., Duyck, P.-F., Lefevre, P., Lescouret, F., Martin, J.-F., Piry, S., Canard, E., Tixier, P.** 2014. Cover Cropping Alters the Diet of Arthropods in a Banana Plantation: A Metabarcoding Approach. *Plos One* **9**, 1–9.
- Monteiro, L.B., Lavigne, C., Ricci, B., Franck, P., Toubon, J.-F., Sauphanor, B.** 2013. Predation of codling moth eggs is affected by pest management practices at orchard and landscape levels. *Agric. Ecosyst. Environ.* **166**, 86–93.
- Morley, C., Rait-Smith, W.** 2009. The hymenopterous parasites of the british lepidoptera. *Trans. R. Entomol. Soc. Lond.* **81**, 133–183.
- Mueller, T.F., Blommers, L.H.M., Mols, P.J.M.** 1988. Earwig (*Forficula auricularia*) predation on the woolly apple aphid, *Eriosoma lanigerum*. *Entomol. Exp. Appl.* **47**, 145–152.

## N

---

- Naranjo, S.E., Ellsworth, P.C.** 2005. Mortality dynamics and population regulation in *Bemisia tabaci*. *Entomol. Exp. Appl.* **116**, 93–108.
- Ndiaye, A., Fofana, A., Ndiaye, M., Mbaye, D.-F., Sène, M., Mbaye, I., Chantereau, J.** 2005. Les céréales: Le mil, in: Bilan de la recherche agricole et agroalimentaire au Sénégal 1964-2004. ISRA, Dakar, pp. 241–256.
- Ndoye, M., Gahukar, R.T., Carson, A.G., Selvaraj, C.J., Mbaye, D.F., Diallo, S.** 1984. Les problèmes phytosanitaires du mil dans le sahel. Presented at the Seminaire internationale de rojet CLSS de lutte intégrer, Niamey, NIGER, pp. 79–95.
- Ndoye, M.** 1992. Biologie et dynamique des populations de *Heliocheilus albipunctella* (de Joannis), ravageur de la chandelle de mil dans le Sahel. *Sahel PV Info* 11–20.

- Nicholls, C.I., Parrella, M., Altieri, M.A.** 2001. The effects of a vegetational corridor on the abundance and dispersal of insect biodiversity within a northern California organic vineyard. *Landsc. Ecol.* **16**, 133–146.
- Nwanze, K.F., Sivakumar, M.V.K.** 1990. Insect pests of pearl millet in Sahelian West Africa—II. *Raghuva albipunctella* De Joannis (Noctuidae, Lepidoptera): Distribution, population dynamics and assessment of crop damage. *Trop. Pest Manag.* **36**, 59–65.
- Nwanze, K.F., Harris, K.M.** 1992. Insect pest of pearl millet in West Africa. *Rev. Agric. Entomol.* **80**, 1135–1155.
- Nwanze, K. F., Klaij, M.C., Markham, R.H.** 1995. Possibilities for integrated management of millet ear head caterpillar, *Heliocheilus albipunctella*, in: Panicle Insect Pests of Sorghum and Pearl Millet: *Proceedings of an International Consultative Workshop*. Nwanze et Youm, Niamey, NIGER, pp. 263–271.
- Nwanze K.F. and Youm, O.** 1995. Panicle insect pests of sorghum and pearl millet: proceedings of an International Consultative Workshop, 4-7 Oct 1993, ICRISAT Sahelian Center, Niamey, Niger, *Andhra Pradesh*, India. pp. 322.
- Nyffeler, M., Benz, G.** 1987. Spiders in natural pest control: a review. *J. Appl. Entomol.* **103**, 321–339.

## O

---

- Oberholzer, F., Frank, T.** 2003. Predation by the Carabid Beetles *Pterostichus melanarius* and *Poecilus cupreus* on Slugs and Slug Eggs. *Biocontrol Sci. Technol.* **13**, 99–110.
- Ode, P.J., Heimpel, G.E.** 2016. Editorial overview: Parasites/parasitoids/biological control: Communities without parasitoids? *Curr. Opin. Insect Sci., Ecology\*Parasites/Parasitoids/Biological control* **14**, viii–x.

## P

---

- Papura, D., Rusch, A., Roux, P., Delbac, L., Thiéry, D.** 2016. Early detection and identification of larval parasitoids in *Lobesia botrana* using PCR-RFLP method. *Biol. Control* **103**, 95–100.

- Parrella, M., Heinz, K., Nunney, L.** 1992. Biological control through augmentative releases of natural enemies: a strategy whose time has come. *Am. Entomol.* **38**, 172–180.
- Passerini, J.** 1992. Field and laboratory trials in Mali to determine the effects of neem extracts on three millet pests *Heliocheilus albipunctella* de Joannis (Lepidoptera: Noctuidae), *Coniesta ignefusalis* Hampson (Lepidoptera: Pyralidae) and *Kraussaria angulifera* Krauss (Orthoptera: Acrididae). (Thesis) *McGill University, Department of Entomology, Montreal, Ottawa*. pp. 180.
- Paula, D.P., Linard, B., Crampton-Platt, A., Srivathsan, A., Timmermans, M.J.T.N., Sujii, E.R., Pires, C.S.S., Souza, L.M., Andow, D.A., Vogler, A.P.,** 2016. Uncovering Trophic Interactions in Arthropod Predators through DNA Shotgun-Sequencing of Gut Contents. *Plos One* **11**, e0161841.
- Pawar, C.S., Bhatnagar, V.S., Jadhav, D.R.** 1986. Heliothis species and their natural enemies, with their potential for biological control. *Proc. Anim. Sci.* **95**, 695–703.
- Payne, W., Tapsoba, H., Baoua, B.I., Ba, N.M., N'diaye, M., Dabire-Binso, C.** 2011. On-farm biological control of the pearl millet head miner: realization of 35 years of unsteady progress in Mali, Burkina Faso and Niger. *Int. J. Agric. Sustain.* **9**, 186–193.
- Persad, A.B., Jeyaprakash, A., Hoy, M.A.** 2004. High-fidelity per assay discriminates between immature *Lipolexis oregmae* and *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphidiidae) within their aphid hosts. *Fla. Entomol.* **87**, 18–24.
- Pfannenstiel, R.S.** 2008. Spider predators of lepidopteran eggs in south Texas field crops. *Biol. Control* **46**, 202–208.
- Pimentel, D., Burgess, M.** 2014. Environmental and Economic Costs of the Application of Pesticides Primarily in the United States, in: Pimentel, D., Peshin, R. (Eds.), *Integrated Pest Management: Pesticide Problems*, Vol. 3. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 47–71.
- Pimm, S.L.** 1982. Food webs, in: *Food Webs, Population and Community Biology*. Springer Netherlands, pp. 1–11.

- Piñol, J., San Andrés, V., Clare, E.L., Mir, G., Symondson, W.O.C.** 2014. A pragmatic approach to the analysis of diets of generalist predators: the use of next-generation sequencing with no blocking probes. *Mol. Ecol. Resour.* **14**, 18–26.
- Pochon, X., Bott, N.J., Smith, K.F., Wood, S.A.** 2013. Evaluating Detection Limits of Next-Generation Sequencing for the Surveillance and Monitoring of International Marine Pests. *Plos One* **8**, e73935.
- Polis, G.A., Myers, C.A., Holt, R.D.** 1989. The Ecology and Evolution of Intraguild Predation: Potential Competitors That Eat Each Other. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **20**, 297–330.
- Pompanon, F., Deagle, B.E., Symondson, W.O.C., Brown, D.S., Jarman, S.N., Taberlet, P.** 2012. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Mol. Ecol.* **21**, 1931–1950.
- Post, D.M.**, 2002. The long and short of food-chain length. *Trends Ecol. Evol.* **17**, 269–277.
- Potvin, N., Bergeron, J. M., Fernet, C.** 1976. Régime alimentaire d'oiseaux fréquentant un agrosystème. *Canadian Journal of Zoology.* **54**, 1992–2000

## Q

---

- Quan, X., Wu, L., Zhou, Q., Yun, Y., Peng, Y., Chen, J.** 2011. Identification of predation by spiders on the diamondback moth *Plutella xylostella*. *Bull. Insectology* **64**, 223–227.
- Quicke, D.L.J.** 2014. The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology, Systematics, Evolution and Ecology. John Wiley & Sons. pp. 752.

## R

---

- Railsback, S.F., Johnson, M.D.** 2014. Effects of land use on bird populations and pest control services on coffee farms. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **111**, 6109–6114.
- Ratcliffe, S.T., Robertson, H.M., Jones, C.J., Bollero, G.A., Weinzierl, R.A.** 2002. Assessment of parasitism of house fly and stable fly (Diptera: Muscidae) pupae by Pteromalid (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitoids using a polymerase chain reaction assay. *J. Med. Entomol.* **39**, 52–60.

- Ratnadass, A., Fernandes, P., Avelino, J., Habib, R.** 2012. Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems. *Agron. Sustain. Dev.* 273–303.
- Ratnasingham, S., Hebert, P.D.** 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Mol. Ecol. Notes* 7, 355–364.
- Raymond, B., Darby, A.C., Douglas, A.E.** 2000. Intraguild predators and the spatial distribution of a parasitoid. *Oecologia* 124, 367–372.
- Reddy, G.V.P., Miller, R.H.** 2014. Biorational versus conventional insecticides – Comparative field study for managing red spider mite and fruit borer on tomato. *Crop Prot.* 64, 88–92.
- Riechert, S.E., Lockley, T.,** 1984. Spiders as biological control agents. *Annu. Rev. Entomol.* 29, 299–320.
- Riley, C.V.,** 1885. Fourth report being a revised edition of Bulletin no. 3, and the final report on the cotton worm, together with a chapter on the boll worm. *Govt. Print. Off.*, Washington. pp. 147.
- Risbec, J.,** 1950. La faune entomologique des cultures au Sénégal et au Soudan Français. Gouvernement Général de l’Afrique Occidentale Française.
- Robasky, K., Lewis, N.E., Church, G.M.** 2014. The role of replicates for error mitigation in next-generation sequencing. *Nat. Rev. Genet.* 15, 56–62.
- Romeu-Dalmau, C., Piñol, J., Espadaler, X.** 2012. Friend or foe? The role of earwigs in a Mediterranean organic citrus orchard. *Biol. Control* 63, 143–149.
- Rougerie, R., Smith, M.A., Fernandez-Triana, J., Lopez-Vaamonde, C., Ratnasingham, S., Hebert, P.D.N.** 2011. Molecular analysis of parasitoid linkages (MAPL): gut contents of adult parasitoid wasps reveal larval host. *Mol. Ecol.* 20, 179–186.
- Roy, M., Brodeur, J., Cloutier, C.** 2003. Effect of temperature on intrinsic rates of natural increase (rm) of a coccinellid and its spider mite prey. *BioControl* 48, 57–72.
- RStudio,** 2012. RStudio, Inc. RStudio, Boston, MA.

**Rusch, A., Valantin-Morison, M., Sarthou, J.-P., Roger-Estrade, J.** 2010. Chapter six - Biological Control of Insect Pests in Agroecosystems: Effects of Crop Management, Farming Systems, and Seminatural Habitats at the Landscape Scale: A Review, in: Sparks, D.L. (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press, pp. 219–259.

**Rusch, A., Valantin-Morison, M., Sarthou, J.P., Roger-Estrade, J.** 2013. Effect of crop management and landscape context on insect pest populations and crop damage. *Agric. Ecosyst. Environ.* **166**, 118–125.

## S

---

**Santos, A.M.C., Quicke, D.L.J.** 2011. Large-scale diversity patterns of parasitoid insects: Parasitoid diversity patterns. *Entomol. Sci.* **14**, 371–382.

**Sanz, J.J.** 2001. Experimentally increased insectivorous bird density results in a reduction of caterpillar density and leaf damage to Pyrenean oak. *Ecol. Res.* **16**, 387–394.

**Sarr, I.** 1997. Détermination de l'imact potentiel des pesticides sur *Heliocheilus albipunctella* (mineuse de l'épi de mil) à partir d'une méthode indirecte : l'étude de la table de survie.

**Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Horn, D.J.V., Weber, C.F.** 2009. Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Desc **S** Comparing Microbial Communities. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 7537–7541.

**Schmidt, P.-A., Bálint, M., Greshake, B., Bandow, C., Römbke, J., Schmitt, I.** 2013. Illumina metabarcoding of a soil fungal community. *Soil Biol. Biochem.* **65**, 128–132.

**Séye, D.** 2018. Régulation naturelle des populations de la mineuse de l'épi de mil, *Heliocheilus albipunctella* dans le bassin arachidier du Sénégal (Mémoire de diplôme de Master 2). Dép. Biologie Animale (UCAD), Dakar, **423**, pp. 30

**Shah, Z.A., Shahzad, M.K.** 2005. Fluctuation patterns of different developmental stages of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera : Noctuidae) on chickpea (*Cicer arietinum*) and their relationship with the environment. *Entomol. Fenn.* **16**, 201–206.

- Shariff, S., Ibrahim, N.J., Md-Zain, B.M., Idris, A.B., Suhana, Y., Roff, M.N., Yaakop, S.** 2014. Multiplex PCR in Determination of Opiinae Parasitoids of Fruit Flies, *Bactrocera* sp., Infesting Star Fruit and Guava. *J. Insect Sci.* **14**, 1–14.
- Sheehan, W.** 1986. Response by Specialist and Generalist Natural Enemies to Agroecosystem Diversification: A Selective Review. *Environ. Entomol.* **15**, 456–461.
- Shokralla, S., Spall, J.L., Gibson, J.F., Hajibabaei, M.** 2012. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol. Ecol.* **21**, 1794–1805.
- Shokralla, S., Gibson, J.F., Nikbakht, H., Janzen, D.H., Hallwachs, W., Hajibabaei, M.** 2014. Next-generation DNA barcoding: using next-generation sequencing to enhance and accelerate DNA barcode capture from single specimens. *Mol. Ecol. Resour.* **14**, 892–901.
- Šigut, M., Kostovčík, M., Šigutová, H., Hulcr, J., Drozd, P., Hrček, J.** 2017. Performance of DNA metabarcoding, standard barcoding, and morphological approach in the identification of host–parasitoid interactions. *Plos One* **12**, e0187803.
- Smith, D.P., Peay, K.G.** 2014. Sequence Depth, Not PCR Replication, Improves Ecological Inference from Next Generation DNA Sequencing. *Plos One* **9**, e90234.
- Smith, M.A., Rodriguez, J.J., Whitfield, J.B., Deans, A.R., Janzen, D.H., Hallwachs, W., Hebert, P.D.** 2008. Extreme diversity of tropical parasitoid wasps exposed by iterative integration of natural history, DNA barcoding, morphology, and collections. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105**, 12359–12364.
- Smith, M.A., Eveleigh, E.S., McCann, K.S., Merilo, M.T., McCarthy, P.C., Rooyen, K.I.V.** 2011. Barcoding a Quantified Food Web: Crypsis, Concepts, Ecology and Hypotheses. *Plos One* **6**, e14424.
- Snyder, W.E., Ives, A.R.** 2001. Generalist Predators Disrupt Biological Control By A Specialist Parasitoid. *Ecology* **82**, 705–7016.
- Snyder, W.E., Ives, A.R.** 2003. Interactions between specialist and generalist natural enemies: parasitoids, predators, and Pea Aphid biocontrol. *Ecology* **84**, 91–107.
- Snyder, W.E., Tylianakis, J.M.** 2012. The Ecology of Biodiversity–Biocontrol Relationships, in: Biodiversity and Insect Pests. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 21–40.

- Soti, V., Thiaw, I., Debaly, Z.M., Sow, A., Diaw, M., Fofana, S., Diakhate, M., Thiaw, C., Brévault, T.** 2019. Effect of landscape diversity and crop management on the control of the millet head miner, *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera: Noctuidae) by natural enemies. *Biol. Control* **129**, 115–122.
- Sow, A.**, 2013. Impact et régulation naturelle de la mineuse de l'épide mil, *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera, Noctuidae): étude de cas dans le bassin arachidier au Sénégal (Bambey) (Mémoire d'étude pour l'obtention du Diplôme de Master II en Biologie Animale, spécialité Entomologie No. 189). UCAD, Dakar. pp. 30
- Sow, A., Brévault, T., Delvare, G., Haran, J., Mbacké, S.** 2017. Régulation naturelle des populations de la mineuse de la chandelle de mil, *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera, Noctuidae), dans le bassin arachidier au Sénégal. AFPP CIRAA 1–9.
- Sow, A., Brévault, T., Delvare, G., Haran, J., Benoit, L., Coeur d'Acier, A., Galan, M., Thiaw, C., Soti, V., Sembène, M.** 2018. DNA sequencing to help identify crop pests and their natural enemies in agro–ecosystems: the case of the millet head miner *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera: Noctuidae) in sub-Saharan Africa. *Biol. Control* **121**, 199–207.
- Strand, M.R., Johnson, J.A., Culin, J.D.** 1990. Intrinsic interspecific competition between the polyembryonic parasitoid *Copidosoma floridanum* and solitary endoparasitoid *Microplitis demolitor* in *Pseudoplusia includens*. *Entomol. Exp. Appl.* **55**, 275–284.
- Suenaga, H., Hamamura, T.** 2001. Occurrence of carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) in cabbage fields and their possible impact on lepidopteran pests. *Appl. Entomol. Zool.* **36**, 151–160.
- Sullivan, D.J.** 1987. Insect Hyperparasitism. *Annu. Rev. Entomol.* **32**, 49–70.
- Sunderland, K.D.** 1988. Quantitative methods for detecting invertebrate predation occurring in the field. *Ann. Appl. Biol.* **112**, 201–224.
- Symondson, W.O.C.** 2002. Molecular identification of prey in predator diets. *Mol. Ecol.* **11**, 627–641.
- Symondson, W.O.C., K. D. Sunderland, Greenstone, M.H.** 2002. Can Generalist Predators Be Effective Biocontrol Agents? *Annu. Rev. Entomol.* **47**, 561–594.

- Szendrei, Z., Bryant, A., Rowley, D., Furlong, M.J., Schmidt, J.M., Greenstone, M.H.** 2014. Linking habitat complexity with predation of pests through molecular gut-content analyses. *Biocontrol Sci. Technol.* **24**, 1425–1438.

## T

---

- Taberlet, P., Coissac, E., Pompanon, F., Brochmann, C., Willerslev, E.** 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.* **21**, 2045–2050.
- Tamura, K., Stecker, G., Peterson, D., Filipowski, A., Tamur, S.** 2013. MEGA 6.0. Molecular Evolutionary Genetics Analysis - Phylogenetic Analysis - Biology Software Net.
- Tanhuanpää, M., Ruohomäki, K., Uusipaikka, E.** 2001. High Larval Predation Rate in Non-Outbreking Populations of a Geometrid Moth. *Ecology* **82**, 281–289.
- Thiam, A., Valk, H. van der.** 1996. Impact potentiel des insecticides sur la mortalité naturelle de la chenille mineuse de l'épi de mil (*Heliocheilus albipunctella*): une étude de la table de survie. FAO, Dakar.
- Thiaw, C., Brevault, T., Diallo, N.F., Sow, A., Ngom, D., Soti, V., Sarr, I., Dorego, G.S., Diop, M., Cisse, N., Sembene, M.** 2017. Incidence et regulation naturelle de la chenille mineuse de l'épi de mil, *Heliocheilus albipunctella* de joannis (Lepidoptera, Noctuidae) a bambey dans le bassin arachidier au Senegal. *Agron. Afr.* **29**, 83–95.
- Thiaw, I., Soti, V., Goebel, F-R., Sow, A., Brévault, T., Diakhate, M.** 2017. Effect of landscape diversity on biocontrol of the millet head miner, *Heliocheilus albipunctella* (Lepidoptera: Noctuidae), in Senegal. *Landsc. Manag. Funct. Biodivers.* IOBC-WPRS Bull. **122**, 38–42.
- Thomsen, P.F., Kielgast, J., Iversen, L.L., Møller, P.R., Rasmussen, M., Willerslev, E.** 2012. Detection of a diverse marine fish fauna using environmental DNA from seawater samples. *Plos One* **7**, e41732.
- Thomson, L.J., Macfadyen, S., Hoffmann, A.A.** 2010. Predicting the effects of climate change on natural enemies of agricultural pests. *Biol. Control, Australia and New Zealand Biocontrol Conference* **52**, 296–306.

- Thontadarya, T.S., Rao, K.J.** 1987. Biology of *Orius maxidentex* Ghauri (Hemiptera: Anthocoridae), a predator of the sorghum earhead midge, *Contarinia sorghicola* (Coquillet). *Mysore J. Agric. Sci.* **21**, 27–31.
- Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R., Polasky, S.** 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* **418**, 671–677.
- Toure, K., Yehouénou, A.**, 1995. Les insectes de l'épi de mil en Afrique de l'Ouest, in: Panicle Insect Pests of Sorghum and Pearl Millet: Proceedings of an International Consultative Workshop. Nwanze et Youm, Niamey, NIGER, pp. 39–47.
- Traugott, M., Bell, J.R., Broad, G.R., Powell, W., Van Veen, J.F., Vollhardt, I.M.G., Symondson, W.O.C.** 2008. Endoparasitism in cereal aphids : molecular analysis of a whole parasitoid community. *Mol. Ecol.* **17**, 3928–3938.
- Tscharntke, T., Sekercioglu, C.H., Dietsch, T.V., Sodhi, N.S., Hoehn, P., Tylianakis, J.M.** 2008. Landscape Constraints on Functional Diversity of Birds and Insects in Tropical Agroecosystems. *Ecology* **89**, 944–951.
- Tscharntke, T., Karp, D.S., Chaplin-Kramer, R., Batáry, P., DeClerck, F., Gratton, C., Hunt, L., Ives, A., Jonsson, M., Larsen, A., Martin, E.A., Martínez-Salinas, A., Meehan, T.D., O'Rourke, M., Poveda, K., Rosenheim, J.A., Rusch, A., Schellhorn, N., Wanger, T.C., Wratten, S., Zhang, W.** 2016. When natural habitat fails to enhance biological pest control – Five hypotheses. *Biol. Conserv.* **204**, 449–458.

## U

---

- Ueese, A., Ridland, P.M., Stouthamer, R., He, Y., Ang, G., Zalucki, M.P., Furlong, M.J.** 2014. *Trichogramma chilonis* Ishii: A potential biological control agent of *Crocidolomia pavonana* in Samoa. *Biol. Control* **73**, 31–38.

## V

---

- Valentini, A., Pompanon, F., Taberlet, P.** 2009. DNA barcoding for ecologists. *Trends Ecol. Evol.* **24**, 110–117.
- Van Lenteren, J.C.** 2000. Success in biological control of arthropods by augmentation of natural enemies, in: Biological Control: Measures of Success. Springer, pp. 77–103.

- Vercambre, B.**, 1978. *Raghuva* spp. et *Masalia* sp., chenilles des chandelles du mil en zone sahelienne. *Agron. Trop.* **33**, 62–79.
- Veres, A., Petit, S., Conord, C., Lavigne, C.** 2013. Does landscape composition affect pest abundance and their control by natural enemies? A review. *Agric. Ecosyst. Environ.* **166**, 110–117.

## W

---

- Waage, J.K., Hassell, M.P.** 1982. Parasitoids as biological control agents – a fundamental approach. *Parasitology* **84**, 241–268.
- Wäckers, F.L., van Rijn, P.C.J., Bruin, J.** 2005. Plant-provided food for carnivorous insects: a protective mutualism and its applications. Cambridge University Press.
- Wharton, R., Marsh, P., Sharkey, M.** 1997. Manual of the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera), The International Society of Hymenopterists. Ed. Washington. pp. 439.
- Way, M.J., Khoo, K.C.** 1992. Role of ants in pest management. *Annu. Rev. Entomol.* **37**, 479–503.
- Wenny, D.G., DeVault, T.L., Johnson, M.D., Kelly, D., H. Sekercioglu, C., Tomback, D.F., Whelan, C.J.** 2011. The Need to Quantify Ecosystem Services Provided by Birds. *The Auk* **128**, 1–14.
- Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.-F., Ferrer, A., Peigné, J.** 2014. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **34**, 1–20
- Whelan, C.J., Wenny, D.G., Marquis, R.J.** 2008. Ecosystem Services Provided by Birds. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1134**, 25–60.
- Whitaker Jr, J.O., Neefus, C., Kunz, T.H.** 1996. Dietary variation in the Mexican free-tailed bat (*Tadarida brasiliensis mexicana*). *J. Mammal.* **77**, 716–724.
- Wilby, A., Thomas, M.B.** 2002. Natural enemy diversity and pest control: patterns of pest emergence with agricultural intensification. *Ecol. Lett.* **5**, 353–360.

- Williams-Guillén, K., Perfecto, I., Vandermeer, J.** 2008. Bats Limit Insects in a Neotropical Agroforestry System. *Science* **320**, 70–70.
- Wirta, H.K., Hebert, P.D.N., Kaartinen, R., Prosser, S.W., Várkonyi, G., Roslin, T.** 2014. Complementary molecular information changes our perception of food web structure. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **111**, 1885–1890.
- Woltz, J.M., Isaacs, R., Landis, D.A.** 2012. Landscape structure and habitat management differentially influence insect natural enemies in an agricultural landscape. *Agric. Ecosyst. Environ.* **152**, 40–49.

## Y

---

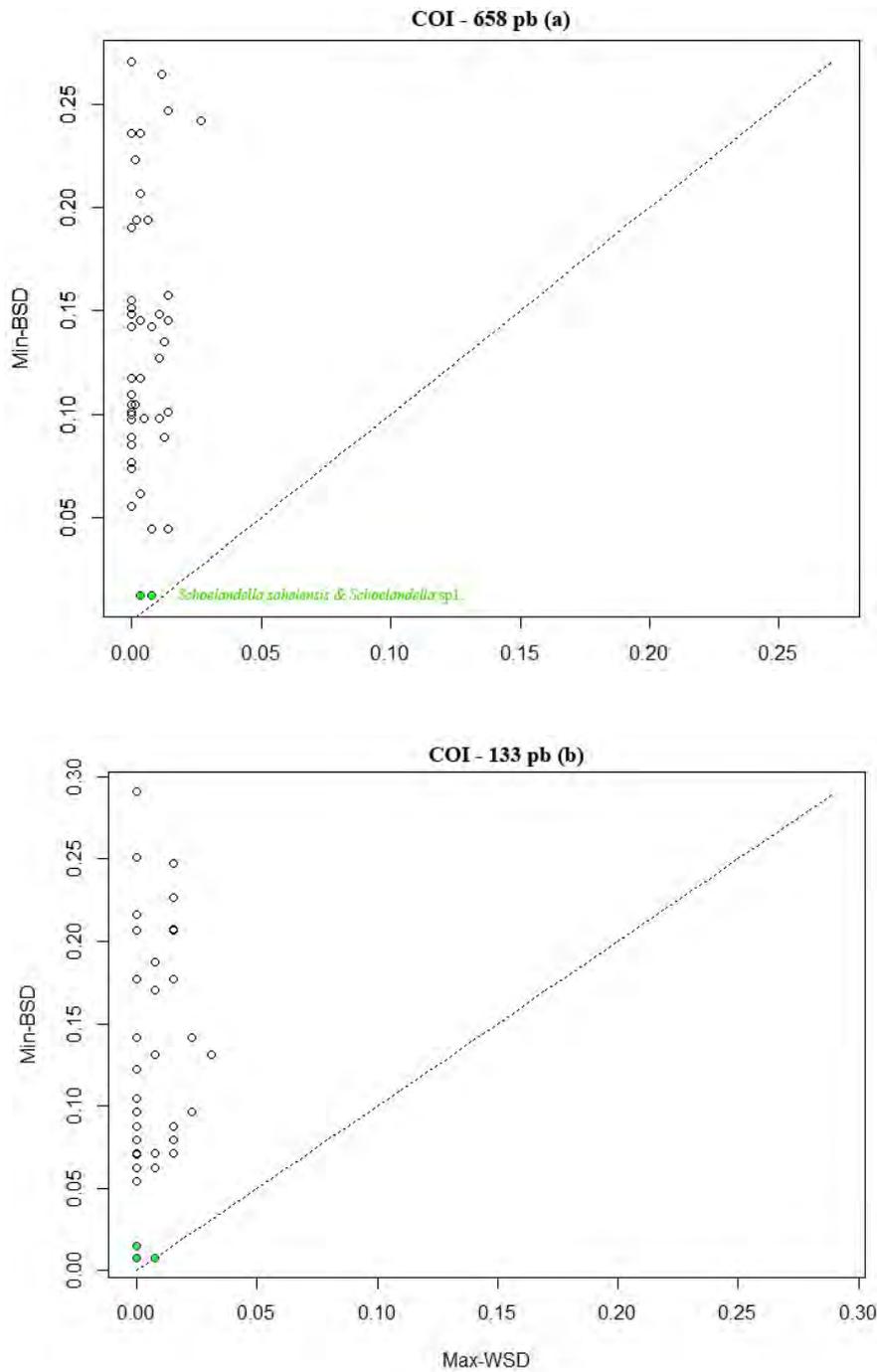
- Yang, S., Duan, J.J., Lelito, J., Van Driesche, R.** 2013. Multiparasitism by *Tetrastichus planipennis* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Spathius agrili* (Hymenoptera: Braconidae): Implication for biological control of the emerald ash borer (Coleoptera: Buprestidae). *Biol. Control* **65**, 118–123.
- Youm, O.** 1995. Bioecology of scarab beetle *Rhinyptia infusata* and millet head miner *Heliocheilus albipunctella*, in: Panicle Insect Pests of Sorghum and Pearl Millet: *Proceedings of an International Consultative Workshop*. Nwanze et Youm, Niger, pp. 135–145.
- Youm, O.** 2000. Approche participative d'évaluation des techniques pour l'augmentation de la production du mil et du sorgho au sahel. (Rapport d'activité). ICRISAT/FIDA, Mali, pp. 46.
- Youm, O.** 2001. An improved infestation technique using eggs of the millet head miner (*Heliocheilus albipunctella*) (Lepidoptera: Noctuidae) in millet resistance screening. *Int. J. Pest Manag.* **47**, 289–292.
- Youm, O., Gilstrap, F.E.** 1993. Population dynamics and parasitism of *Coniesta* (= *Haimbachia*) *ignefusalis*, *Sesamia calamistis*, and *Heliocheilus albipunctella* in millet monoculture. *Insect Sci. Its Appl.* **14**, 419–426.
- Young, J.M., Austin, J.J., Weyrich, L.S.** 2017. Soil DNA metabarcoding and high-throughput sequencing as a forensic tool: considerations, potential limitations and recommendations. *FEMS Microbiol. Ecol.* **93**.

**Z**

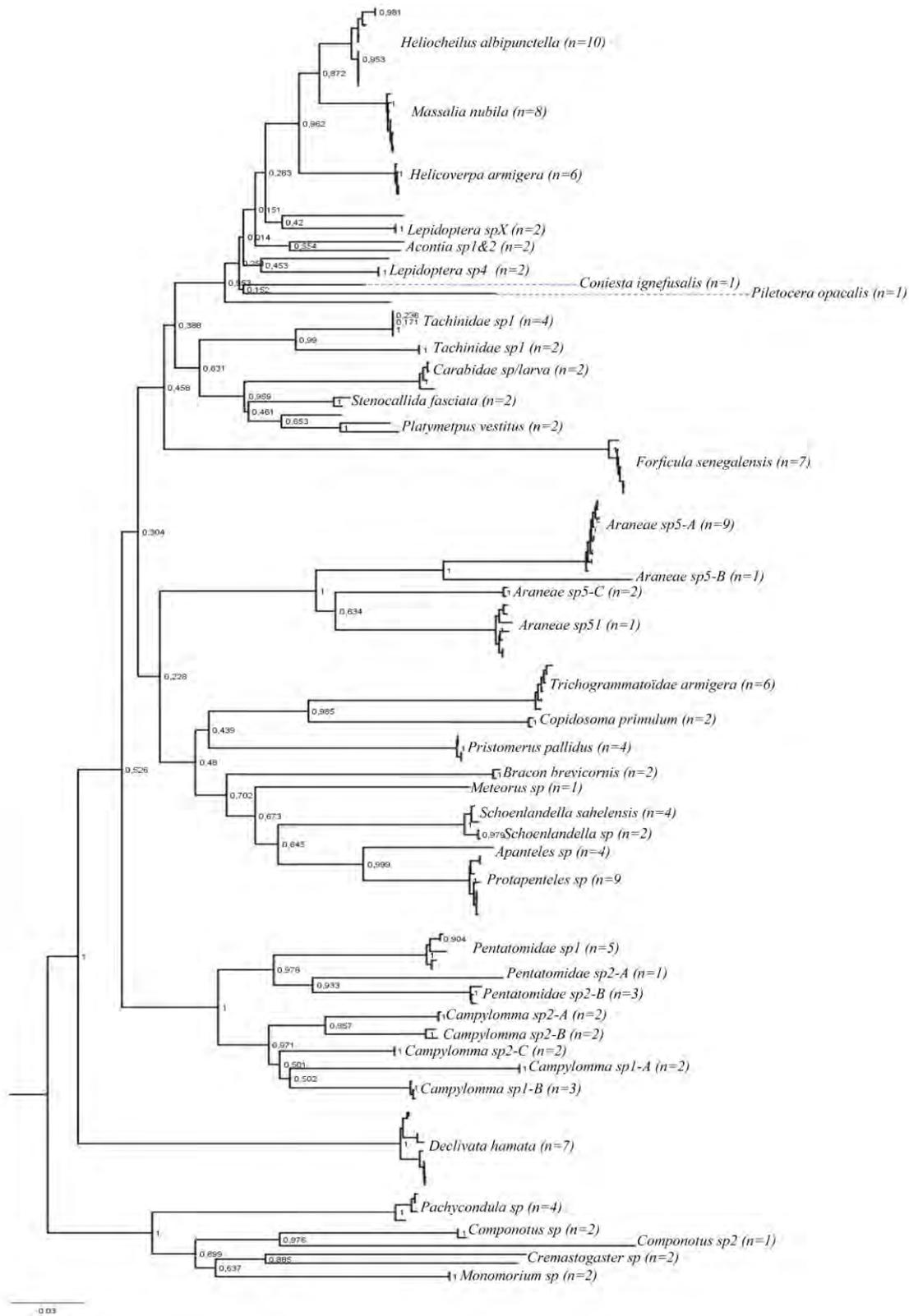
---

- Zaller, J.G., Moser, D., Drapela, T., Schmöger, C., Frank, T.** 2009. Parasitism of stem weevils and pollen beetles in winter oilseed rape is differentially affected by crop management and landscape characteristics. *BioControl* **54**, 505–514.
- Zalucki, M.P., Furlong, M.J., Schellhorn, N.A., Macfadyen, S., Davies, A.P.** 2015. Assessing the impact of natural enemies in agroecosystems: toward “real” IPM or in quest of the Holy Grail? *Insect Sci.* **22**, 1–5.
- Zaroso-Lacoste, D., Jan, P.-L., Lehnen, L., Girard, T., Besnard, A.-L., Puechmaille, S.J., Petit, E.J.** 2018. Combining noninvasive genetics and a new mammalian sex-linked marker provides new tools to investigate population size, structure and individual behaviour: An application to bats. *Mol. Ecol. Resour.* **18**, 217–228.
- Ziska, L.H., Blumenthal, D.M., Runion, G.B., Hunt, E.R., Diaz-Soltero, H.** 2011. Invasive species and climate change: an agronomic perspective. *Clim. Change* **105**, 13–42.
- Zoromy, S.** 1989. Contribution à la mise en place d’un système efficace de capture et à la détermination du cycle de développement de la chenille mineuse des épis de mil (*Heliocheilus albipunctella* De Joannis) (Mémoire d’étude pour l’obtention du Diplôme d’ingénieur du développement rural). Université d’Ouagadougou. pp. 32.

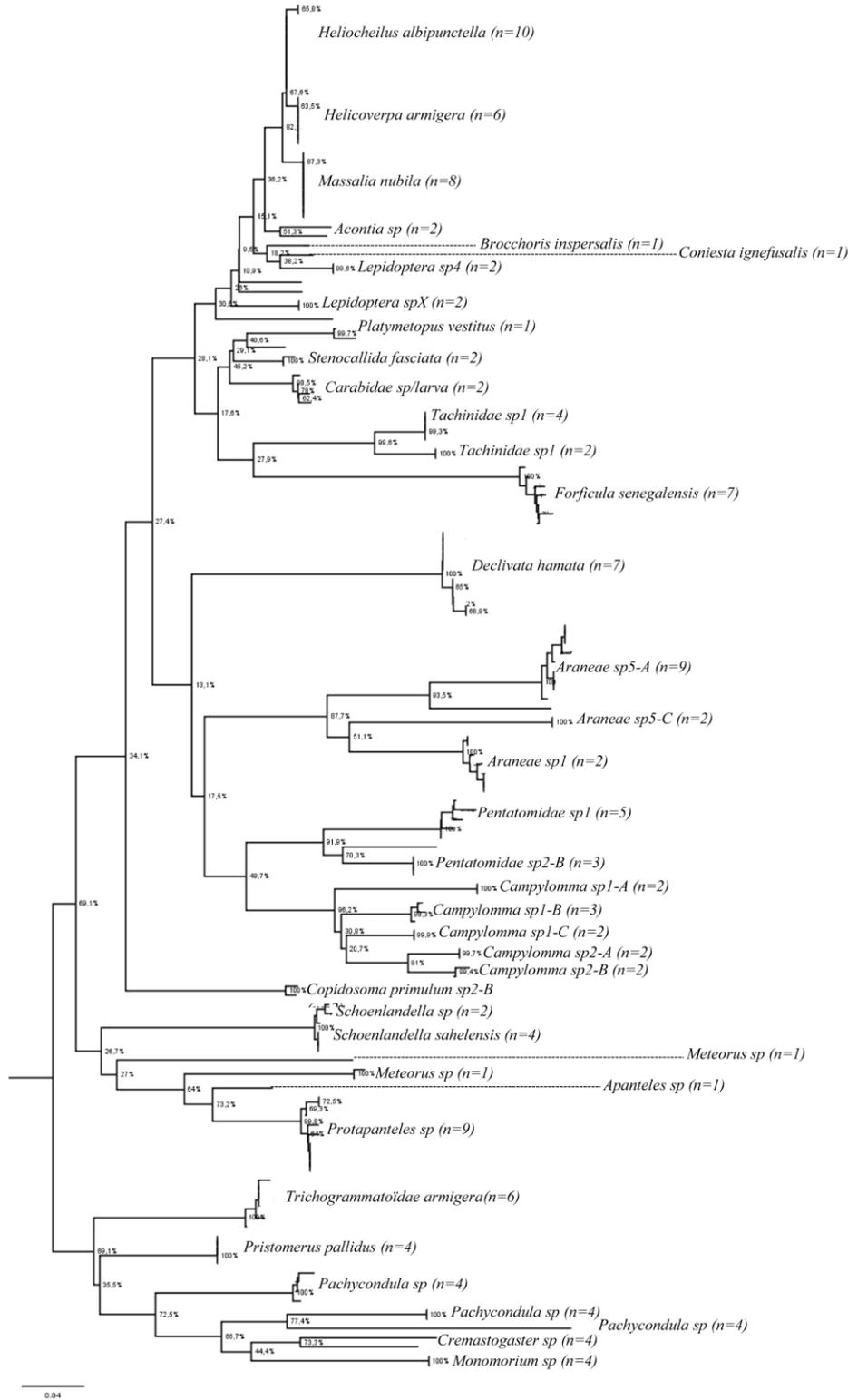
## Annexes



**Annexe 1** : Modèles de divergence des COI pour 38 espèces d'intérêt d'arthropodes représentées par au moins deux individus. Pour chaque espèce, nous avons représenté la divergence interspécifique minimale (Min-BSD) et la divergence intraspécifique maximale (Max-WSD). Les points situés au-dessus de la diagonale représentent les espèces identifiées sans ambiguïté sur les fragments de 658 (a) et de 133 pb (b). Les points gris correspondent aux espèces *Schoelandella sahelensis* / *Schoelandella* sp., *Heliocheilus albipunctella* / *Massalia nubila* et *H. albipunctella* / *Helicoverpa armigera* à faible Max-WSD.



**Annexe 2 :** Arbre phylogénique Neiborjoining avec bootstraps (N = 1 000) pour le long fragment de COI (658 pb) des principaux ravageurs du mil et de leurs ennemis naturels de *H. albipunctella*.



**Annexe 3:** Arbre phylogénique Neiborjoining avec bootstraps (N = 1 000) pour le court fragment de COI (133 pb) des principaux ravageurs du mil et de leurs ennemis naturels de *H. albipunctella*.

**Annexe 4 :** Script Bash pour l'analyse des séquences issues du run avant le traitement de FROGS.

## Annexes

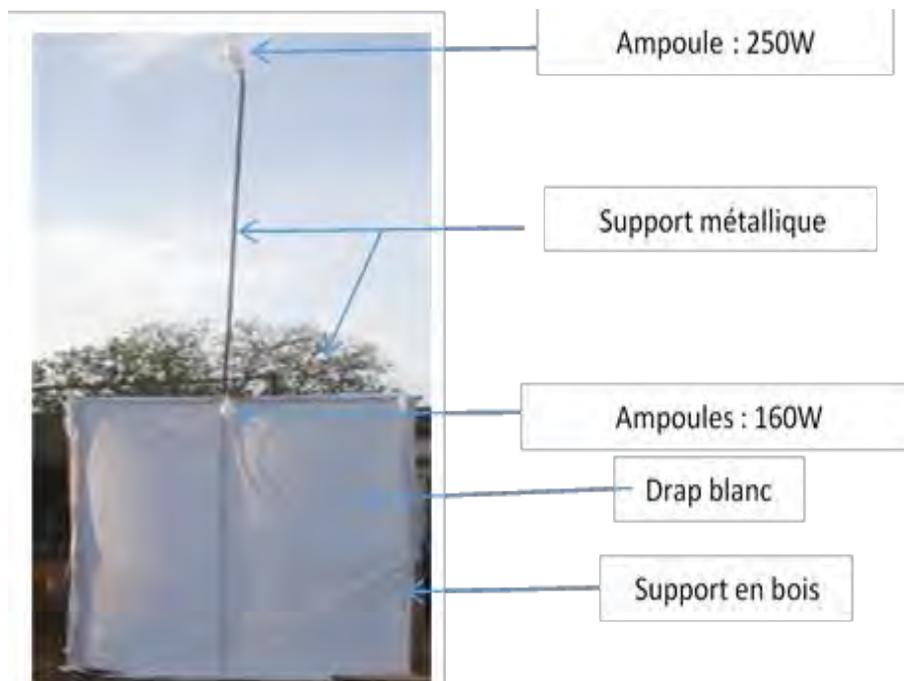
```
# FUNCTIONS
usage(){
echo -e "$SCRIPT_NAME script:"
echo -e "\t\tPreprocess of Illumina 2 steps PCR amplicon data.\t\tMerging, primer removal and filtering on seq number."
echo -e "\t\tPlease read full information in the script first part.\n"
echo -e "$SCRIPT_NAME usage:"
echo -e "\t\t$SCRIPT_NAME <parameter file>"
echo -e "\t\t(parameter file must be in the bin directory)\n"
echo -e "\t\t#1 parameter = input directory where the fastq.gz files are stored"
echo -e "\t\t#2 parameter = output file name without extension"
echo -e "\t\t#3 parameter = forward target-specific primer"
echo -e "\t\t#4 parameter = reverse target-specific primer"
echo -e "\t\t#5 parameter = minimum length of expected overlap in flash"
echo -e "\t\t#6 parameter = maximum length of expected overlap in flash"
echo -e "\t\t#7 parameter = minimum number of sequences to keep the file"
}
#
#####
# SCRIPT PARAMETERS
SCRIPT_NAME=$(basename "$0")
PARAMETER_FILE="$1"
#
#####
# PARAMETERS TESTS
chmod +x "$PARAMETER_FILE"
dos2unix "$PARAMETER_FILE" 2>/dev/null
source "$PARAMETER_FILE"
#
# testing the first parameter : the directory
[ -e "$DIR" ] || { (usage ; echo -e "ERROR : directory $DIR does not exist!"); }>&2; exit 2;}
[ -r "$DIR" ] || { (usage ; echo -e "ERROR : read permission error in directory $DIR\n"); }>&2; exit 2;}
[ -w "$DIR" ] || { (usage ; echo -e "ERROR : write permission error in directory $DIR\n"); }>&2; exit 2;}
#
# testing the second parameter : the output file name
[ -n "$OUTPUT_FILE" ] || { (usage ; echo -e "ERROR : output file name not informed\n"); }>&2 ; exit 2;}
#
# testing the 3rd and 4th parameter : primer sequences
[ -z "$(echo "$PRIMER_F" | grep [^ATGCUatgcuNnYyRrSsWwKkMmBbDdHhVv])" ] || { (usage ; echo -e "ERROR : #3
parameter should be a DNA sequence (degenerated bases tolerated), '$PRIMER_F' provided\n"); }>&2; exit 2;}
[ -z "$(echo "$PRIMER_R" | grep [^ATGCUatgcuNnYyRrSsWwKkMmBbDdHhVv])" ] || { (usage ; echo -e "ERROR : #4
parameter should be a DNA sequence (degenerated bases tolerated), '$PRIMER_R' provided\n"); }>&2; exit 2;}
#
# testing the 5th and 6th parameter : overlaps for flash (positive numbers)
echo "$MIN_FLASH" | grep -w -e "[1-9]+$" && { (usage ; echo -e "ERROR : #5 parameter should be a positive integer,
'$MIN_FLASH' provided\n"); }>&2; exit 2;}
echo "$MAX_FLASH" | grep -w -e "[1-9]+$" && { (usage ; echo -e "ERROR : #6 parameter should be a positive integer,
'$MAX_FLASH' provided\n"); }>&2; exit 2;}
#
# testing the 7th parameter : the threshold (positive or null number)
echo "$THRESHOLD" | grep -w -e "[0-9]+$" && { (usage ; echo -e "ERROR : #7 parameter should be a null or positive
integer, '$THRESHOLD' provided\n"); }>&2; exit 2;}
#
#####
# SCRIPT VARIABLES
PRIMER_R_rev=$(echo "$PRIMER_R" | tr "[ATGCUatgcuNnYyRrSsWwKkMmBbDdHhVv]"
"[TACGAtacgaNnRrYySsWwMmKkVvHhDdBb]" | rev)
let "OVERLAP_F=$(echo "$PRIMER_F" | tr -d '[:space:]' | wc -m | tr -d '[:space:]')-1"
let "OVERLAP_R=$(echo "$PRIMER_R" | tr -d '[:space:]' | wc -m | tr -d '[:space:]')-1"
#
#####
# CORE CODE
cd ${DIR}
log=$OUTPUT_FILE".general.log"
[ -e "$log" ] && rm "$log"
```

## Annexes

```
usage > "$log"
echo -e "\n$SCRIPT_NAME parameters:" | tee -a "$log"
echo -e "\t\t#parameter file:\t$PARAMETER_FILE" | tee -a "$log"
echo -e "\t\t#input directory:\t$DIR" | tee -a "$log"
echo -e "\t\t#output file name:\t$OUTPUT_FILE" | tee -a "$log"
echo -e "\t\t#forward target-specific primer:\t$PRIMER_F" | tee -a "$log"
echo -e "\t\t#reverse target-specific primer:\t$PRIMER_R" | tee -a "$log"
echo -e "\t\t#minimum length of expected overlap:\t$MIN_FLASH" | tee -a "$log"
echo -e "\t\t#maximum length of expected overlap:\t$MAX_FLASH" | tee -a "$log"
echo -e "\t\t#minimum number of sequences to keep the file:\t$THRESHOLD" | tee -a "$log"
echo -e "\n$(ls *R1_001.fastq.gz | wc -l) files to analyse:" | tee -a "$log"
#
for i in *R1_001.fastq.gz
do
# r1="$(basename $i)"
#read1 file name
r2="$(echo $r1|bin/sed 's/R1/R2/g')
#read2 file name
s="$(echo $r1|bin/sed 's/_.*//')
#core sample name
echo -e "\t\t#processing file $s"
f="$s".flash.fastq.gz"
#flash output file name
c3="$s".cut3.flash.fastq"
#cutadapt 3adapter output file name
c35="$s".cut35.flash.fastq"
#cutadapt 5adapter output file name
e="$s".log.txt"
#error file name
[ -e "$e" ] && rm "$e"
# echo -e "#1 analysis = flash analysis:\n" > "$e"
[ -s "$r1" ] && /home/bin/FLASH/1.2.11/x64/flash --threads 4 --min-overlap "$MIN_FLASH" --max-overlap
"$MAX_FLASH" --max-mismatch-density 0.1 --compress "$r1" "$r2" --to-stdout > "$f" 2>> "$e" || { echo -e "$s is
empty\n" >> "$e";}
[ -s "$f" ] && (echo -e "\n#2 analysis = cutadapt analysis with reverse primer:\n" >>
"$e";/home/bin/Cutadapt/1.9.1/x64/bin/cutadapt -a "$PRIMER_R_rev" "$f" --error-rate 0.1 --discard-untrimmed --match-
read-wildcards --overlap "$OVERLAP_R" > "$c3" 2>> "$e");)
[ -e "$f" ] && rm "$f"
[ -s "$c3" ] && (echo -e "\n#3 analysis = cutadapt analysis with forward primer:\n" >>
"$e";/home/bin/Cutadapt/1.9.1/x64/bin/cutadapt -g "$PRIMER_F" "$c3" --error-rate 0.1 --discard-untrimmed --match-read-
wildcards --overlap "$OVERLAP_F" > "$c35" 2>> "$e" && gzip -f "$c35");)
[ -e "$c3" ] && rm "$c3"
[ "$THRESHOLD" -ne 0 -a -e "$c35.gz" ] && { echo -e "#4 analysis = removal of denoised files with less than
$THRESHOLD sequences:\n" >> "$e"; a=$(echo "$(zcat "$c35.gz" | wc -l)/4" | bc); [ "$a" -lt "$THRESHOLD" ] && { echo
-e "file removed: $a sequences only\n" >> "$e" ;rm "$c35.gz";} || { echo -e "file kept: $a sequences\n" >> "$e";};}
[ "$THRESHOLD" -eq 0 -a -s "$c35.gz" ] && { echo -e "\n#4 analysis = removal of denoised files with less than
$THRESHOLD sequences:\n\nNA" >> "$e"; }
done
[ -e $OUTPUT_FILE.preprocess.gz.tar ] && rm $OUTPUT_FILE.preprocess.gz.tar
nf=$(ls *cut35.flash.fastq.gz 2>/dev/null | wc -l)
echo -e "\n$nf files passed all steps with success!\n" | tee -a "$log"
[ "$nf" -eq 0 ] || (echo -e "list of files processed with success:" >> "$log"; tar -cvf $OUTPUT_FILE.preprocess.gz.tar"
*cut35.flash.fastq.gz >> "$log";chmod a+r $OUTPUT_FILE.preprocess.gz.tar";rm *cut35.flash.fastq.gz;)
tar -cvf $OUTPUT_FILE.preprocess.log.tar" *log.txt >/dev/null; rm *log.txt #use tar -xf if you want to check a log file
#
#####
# END
exit 0
```

**Annexe 5** : Moyenne de nombre d'adulte de la MEM capturé par heure de piégeage

Num semaine	Site	
	Bambey	Nioro
32	0,0	0,0
33	0,0	0,0
34	0,1	0,3
35	2,6	8,8
36	14,6	28,7
37	46,8	45,8
38	22,4	87,5
39	14,4	86,3
40	4,7	9,3
41	0,0	0,8
42	0,0	0,3
43	0,0	0,2
44	0,0	0,0
Moyenne générale	8,3	21,1



*Piège lumineux.*

**Annexe 6 : Infestation des épis en œufs selon le site et le type de parcelle**

N=20 parcelles	Végétation			Type de parcelle			Présence d'oiseaux	
	HV	BV	P	Fermée	Ouverte	P	E	P
Epis infestés en œufs (%)	55,6	51,2	<0,001 ***	50,0	56,8	0,031 *	-1,311	<0,001 ***
Nombre d'œufs par épi	2,0	1,8	0,043 *	1,7	2,1	0,017 *	-1,709	0,007 **

P: p-value; \*:  $P < 0,05$  ; \*\* :  $P < 0,01$  ; \*\*\*:  $P < 0,001$ ; HV : haute densité de végétation semi naturelle ; BV : faible densité de végétation semi-naturelle ; Fermée : présence de nombreux arbres, en général près du village ; Ouvert : peu d'arbres ; Présence d'oiseaux : abondance ou non d'oiseaux insectivores ; E : Estimation des paramètres du modèle.



Cage exclusion des oiseaux

Vue de dessus du dispositif d'exclusion des oiseaux insectivore

**Annexe 7** : Etude des stades baladeurs de la mineuse de l'épi de mil

**Protocole**

Le dispositif comprend un poquet avec un épi central (Ec) infesté et des épis satellites non infestés (Es), et un poquet témoin avec un épi infesté et protégé (Ep) avec un manchon de tulle. Au stade floraison femelle, un transfert de 3, 6 et 12 larves néonatales d'âges de moins de 24h de la mineuse a été effectué. Un comptage des larves sur l'ensemble des modalités a été effectué 15 jours après le transfert. Chaque modalité sera répétée cinq fois.

**Résultats**

Nb de larves de départ sur Ec	Nb larves fin Ec	Nb de larves fin sur Es	%mortalité brute	%mortalité corrigée (chenilles tombées)
3	0,71	0,29	66,67	0,00
6	1,71	0,29	66,67	12,66
12	3,00	0,71	69,05	10,39

**Annexe 8** : Evaluer l'effet de la pluie sur la mortalité des œufs et des larves de la MEM.

Date comptage	Num_pe	Num_rep	Modalite	Nb larves_14jr	Nb_galerias_vides_14jr	nb de larve totale	BSI
07/09/2017	14	1	Protégé	1		1	0,00
07/09/2017	14	1	Non protégé	1		1	0,00
07/09/2017	14	2	Protégé	10	2	12	0,42
07/09/2017	14	2	Non protégé	5	2	7	0,00
07/09/2017	14	3	Protégé	6	1	7	0,00
07/09/2017	14	3	Non protégé	6	1	7	0,00
07/09/2017	14	4	Protégé	8	2	10	0,00
07/09/2017	14	4	Non protégé	9	1	10	0,00
07/09/2017	14	5	Protégé	6	1	7	0,00
07/09/2017	14	5	Non protégé	33	6	39	0,00
07/09/2017	14	6	Protégé	12		12	0,58
07/09/2017	14	6	Non protégé	5		5	0,00
07/09/2017	14	7	Protégé	1	1	2	0,00
07/09/2017	14	7	Non protégé	4		4	0,00
07/09/2017	14	8	Protégé	4	1	5	0,00
07/09/2017	14	8	Non protégé	5	1	6	0,00
07/09/2017	14	9	Protégé	3	1	4	0,25
07/09/2017	14	9	Non protégé	3		3	0,00
07/09/2017	14	10	Protégé	0		0	0,00
07/09/2017	14	10	Non protégé	1	1	2	0,00
13/09/2017	14	11	Protégé	5		5	0,00
13/09/2017	14	11	Non protégé	5	1	6	0,00
13/09/2017	14	12	Protégé	1	2	3	0,00
13/09/2017	14	12	Non protégé	3		3	0,00
13/09/2017	14	13	Protégé	2		2	0,00
13/09/2017	14	13	Non protégé	5	3	8	0,00
13/09/2017	14	14	Protégé	6		6	0,00
13/09/2017	14	14	Non protégé	6	1	7	0,00
13/09/2017	14	15	Protégé	2	1	3	0,33
13/09/2017	14	15	Non protégé	1	1	2	0,00
13/09/2017	14	16	Protégé	2	1	3	0,67
13/09/2017	14	16	Non protégé	1		1	0,00
13/09/2017	14	17	Protégé	0		0	0,00
13/09/2017	14	17	Non protégé	7		7	0,00
13/09/2017	14	18	Protégé	4	1	5	0,20
13/09/2017	14	18	Non protégé	4		4	0,00
13/09/2017	14	19	Protégé	5	2	7	0,00
13/09/2017	14	19	Non protégé	7	1	8	0,00
13/09/2017	14	20	Protégé	1	2	3	0,33
13/09/2017	14	20	Non protégé	1	1	2	0,00

THESE DE DOCTORAT  
Spécialité : Génétique des Populations  
Présentée par : M. Ahmadou SOW

Approche moléculaire et écologique pour évaluer les processus de régulation naturelle de la mineuse de l'épi de mil, *Heliocheilus albipunctella* De Joannis, dans le bassin arachidier au Sénégal

Soutenue le 03 juillet 2019 devant le jury composé de :

Président : M. Karamako Diarra, Professeur titulaire (UCAD)  
Rapporteurs : Mme. Constance AGBOGBA, Professeur assimilé (UCAD)  
Rapporteurs : M. Amadou Bocar BAL, Professeur assimilé (UGB)  
Rapporteurs : Mme. Nathalie CHARBONNEL, chargé de recherche INRA)  
Examineurs : M. Thierry BREVAULT, chargé de recherche (CIRAD)  
Directeurs de thèse : M. Mbacké SEMBENE, Professeur titulaire (UCAD)

## RESUME

Le mil est l'une des céréales les plus cultivées en Afrique sub-saharienne, contribuant significativement à la réduction du risque d'insécurité alimentaire dans les zones les plus arides. Pourtant, la mineuse de l'épi de mil, *Heliocheilus albipunctella* de Joannis (Lepidoptera, Noctuidae), représente une contrainte majeure à l'intensification de sa production. L'objectif principal de cette thèse est de définir des modalités de pilotage du réseau trophique pour favoriser la régulation des populations de la mineuse de l'épi de mil dans les paysages agricoles à base de céréales sèches au Sénégal. Plus spécifiquement, elle vise à caractériser la biodiversité de l'entomofaune associée au mil, d'identifier les ennemis naturels associés à la mineuse de l'épi de mil, et d'évaluer l'effet de certains facteurs environnementaux sur l'action de régulation biologique des ennemis naturels.

Un réseau de parcelles a été suivi dans les régions de Bambey et Niore du Rip au Sénégal, pour évaluer l'incidence de la mineuse et la régulation de ses populations par les ennemis naturels. L'incidence de la mineuse de l'épi de miest élevée dans les deux territoires explorés, avec en moyenne 79% d'épis infestés. Cependant, une importante régulation des populations d'œufs et de larves par les ennemis naturels (68%), permet de limiter les pertes de rendement en grain (1 à 20%). Des outils moléculaires de séquençage à haut débit (High-Troughput Sequencing) combinés à une identification morphologique ont été utilisés pour construire une librairie de référence de l'entomofaune associée au mil. Au total, 13 espèces de parasitoïdes primaires dont cinq nouvelles espèces, et 19 prédateurs potentiels ont été inventoriés. Le diagnostic du parasitisme et de la prédation à partir d'individus collectés aux champs puis séquencés ont permis d'identifier les espèces d'ennemis naturels clés impliquées dans la régulation des populations de la MEM. Le parasitisme a été dominé par trois espèces, à savoir, *Trichogrammatoidea armigera* (l'unique parasitoïdes des œufs), *Copidosoma primulum*, et *Schoelandella sahelensis* (parasitoïdes larvaire). Deux prédateurs arthropodes (*Bradybeanus scalaris*, araneae sp.1), et deux prédateurs vertébrés (*Ploceus cucullatus*, *Taphozous mauritanus*) ont été identifiés. L'approche moléculaire est pertinente pour identifier et mesurer l'impact de la biodiversité (espèces cryptiques) et des interactions (multiparasitisme, concurrence intraguild) des ennemis naturels sur la régulation des populations de MEM. L'effet du paysage sur l'incidence et la régulation naturelle de la MEM, a été évalué par un suivi d'un réseau de 60 parcelles à Bambey et Niore en 2015 et 2016, sélectionné suivant deux gradients paysagers (distance au village et densité de végétation naturel). Nos résultats ont montré que les parcelles proches des villages ainsi que les parcelles à forte densité de végétation semi-naturelle (arbres et parcours) dans le paysage environnement, bénéficient plus des services écosystémiques fournis par les ennemis naturels.

Les résultats obtenus à issue de cette thèse, nous ont permis de comprendre l'importance des processus écologiques dans les agroécosystèmes, afin d'améliorer les stratégies de lutte biologique de la MEM au Sénégal.

**Mots clés** : Contrôle biologique, parasitisme, prédation, mineuse de l'épi de mil, *Heliocheilus albipunctella*, ennemis naturels, paysage, interactions.