

DISCUSSION GENERALE



Rappelons ici que cette discussion a pour but non pas de reprendre les discussions déjà conduites dans les différents articles et manuscrits, mais bien d'approfondir des points de réflexions, des suggestions de recherches et de projets dans la continuité de ces travaux, dans un cadre plus global.

Discussion Générale et suggestions de pistes de recherches ultérieures.

Depuis son arrivée en France vers 2004, *V. velutina* a étendu son aire de répartition, jusqu'à être présent aujourd'hui dans une grande partie de l'Europe occidentale, et est devenu de par sa consommation privilégiée d'abeilles une menace majeure pour l'apiculture mais également pour la biodiversité (Monceau *et al.* 2014a, Monceau & Thiéry 2017). Hyménoptère social, ce prédateur fait des colonies de grande taille, et seule la destruction directe ou indirecte de ces dernières a su montrer des résultats intéressants pour contrôler son expansion. Les données concernant la biologie et l'écologie des colonies de *V. velutina* étant lacunaires à plusieurs moments clés de son développement, l'objectif de ces travaux de thèse était d'apporter de nouveaux éléments permettant d'évaluer et de proposer des stratégies de contrôle durables pour cet insecte.

Sujet peu abordé chez les frelons en général, nous avons dans un **premier Axe** exploré plusieurs aspects de la **biologie des reproducteurs** de *V. velutina* potentiellement intéressants pour en envisager le contrôle ou la perturbation, afin de diminuer en amont le nombre de colonies. Nous avons ainsi pu montrer en étudiant la **maturation sexuelle des mâles** de *V. velutina* (Article 1, publié), que ces derniers avaient une spermatogenèse synchrone et qu'ils constituaient leur stock de spermatozoïdes 10 jours après leur émergence. Ces travaux nous ont également permis de montrer que la fertilité des mâles était plus faible en fin de printemps qu'elle ne l'était en automne, mais que les mâles possédaient un stock de spermatozoïdes largement excédentaire, quelles que soient leur période d'émergence. En comparaison à la contenance de la spermathèque des femelles, un seul accouplement serait en théorie suffisant pour les remplir, sans compter le fait que les gynes de *V. velutina* peuvent s'accoupler plusieurs fois. Dans un second temps nous avons voulu **évaluer et comparer certains traits liés à la fertilité des fondatrices** chez le frelon asiatique invasif *V. velutina* et le frelon européen natif *V. crabro* (Manuscrit 2, soumis, travaux présentés en congrès IUSSE-EU). Nous avons

ainsi mis en évidence de grosses différences dans le timing de maturation ovarienne entre ces deux espèces, les fondatrices de *V. velutina* démarrant leur maturation ovarienne et étant prêtes à pondre un mois avant celles de *V. Crabro*. Ces travaux ont également permis de mettre en évidence un stockage de deux fois plus de spermatozoïdes, plus courts, dans la spermathèque plus petite des fondatrices de *V. velutina* comparées à celles de *V. crabro*. Dans un troisième temps nous avons commencé à **tester l'existence d'une sélection spatiale de certains critères dispersifs dans les populations de marge de l'invasion**, dans une première expérimentation présentée en [Annexe 1.1](#), et avons lancé un projet collaboratif de science participative pour collecter des échantillons à travers l'Europe et tester nos hypothèses, EUROFRELON ([Annexe 1.2](#)). Le **comportement de reproduction de *V. velutina*** reste encore très peu décrit, et nous avons voulu commencer à explorer certains points de cette étape clé du cycle chez *V. velutina* ([Annexe 1.3](#)), en testant certains aspects inconnus comme le choix du partenaire par origine coloniale ou par âge, ou encore tenter de comprendre la part « sociale » de ce comportement chez les mâles, qui semblent préférer faire des tentatives d'accouplements alors qu'ils sont en groupe.

Dans le **deuxième Axe** nous nous sommes intéressés à la **biologie des colonies, de la récolte à l'utilisation des ressources dans la colonie**. Dans un premier article ([Manuscrit 3, soumis, travaux présentés en congrès Coloss Velutina 2017](#)), nous avons mesuré grâce à un marquage électronique (RFID) **les capacités de retour à la colonie de 320 ouvrières** de *V. velutina* jusqu'à 5km, et évalué **leur rayon d'action** classique entre 500 et 1000m autour de leur nid. Ces travaux nous ont également permis de décrire de manière plus précise l'activité des ouvrières, majoritairement constituée de vols courts entre 7h et 20h. Dans un deuxième article ([Manuscrit 4, en préparation](#)), l'évolution de la **distribution de sucre et de protéines** marqués par des métaux lourds a pu être observée dans des colonies à différents stades, permettant ainsi de visualiser de manière plus précise les réseaux de trophallaxie, mais également d'évaluer l'intérêt de ces ressources comme potentiels vecteurs dans la mise en place de technique de lutte de type Cheval de Troie. Ainsi, à l'inverse des larves, les ouvrières reçoivent plus de sucre que de protéines, qui semblent être réservées pour les plus grosses d'entre elles.

Dans l'introduction nous avons passé en revue les diverses méthodes actuellement mises en place dans la lutte contre *V. velutina*, et avons conclu qu'une méthode de biocontrôle des colonies serait la solution la plus intéressante à développer. C'est pourquoi, après avoir exploré dans les deux premiers axes différents aspects théoriques sur la reproduction, l'initiation et le fonctionnement des colonies, nous avons dans un **troisième Axe** décrit une piste possible de **biocontrôle de *V. velutina***. Dans cette partie nous avons commencé à décrire morphologiquement et génétiquement une souche d'entomopathogène *B. bassiana* isolée dans une reine de *V. velutina* au printemps 2016 ([Manuscrit 5, en préparation](#)). Nous avons ensuite évalué dans nos travaux, l'efficacité de différents isolats de champignons entomopathogènes ainsi que différentes méthodes d'application de ces parasites ([Manuscrit 6, soumis, travaux présentés en congrès SIP 2017](#)). Il en est ressorti que certains isolats sélectionnés permettaient de contrôler *V. velutina* dans des proportions très intéressantes, que l'inoculation par immersion était la plus létale, et que les surfaces et partenaires infectés pouvaient dans certains cas suffire pour infecter les frelons.

Dans la section suivante, nous remettrons en perspective les résultats trouvés dans les travaux présentés précédemment dans un contexte plus général, et pour plus d'originalité en comparaison avec les discussions déjà présentes dans les axes, nous nous attacherons à proposer ici des réflexions, pistes de recherche et protocoles précis et innovants.

1. Biologie des reproducteurs

1.1. Biologie des mâles de *V. velutina*

Dans un premier temps, il serait intéressant de répondre à certaines questions soulevées dans l'étude sur la maturation sexuelle des mâles ([Article 1](#)). Nous avons montré dans l'étude en question que les mâles précoces chez *V. velutina* étaient peu fertiles, mais nous n'avons pu qu'émettre l'hypothèse que ces mâles étaient diploïdes. En effet, chez de nombreux hyménoptères, ces deux paramètres se révèlent être connectés ([Stouthamer et al. 1992](#), [Agoze et al. 1994](#)). Il serait donc utile de **relier le caryotype des mâles de frelons avec leur fertilité** pour valider ou infirmer cette hypothèse explicative. L'étude de la diploïdie des mâles présents dans les colonies de *V. velutina* au cours du temps effectuée par [Darrouzet et al. 2015](#) a permis de mettre en évidence le fait qu'une grande majorité des mâles de *V. velutina* étaient diploïdes dans les colonies tout au long de l'année. Il semblerait donc probable que l'alimentation larvaire des futurs mâles ou les conditions climatiques différentes entre les deux périodes observées, aient également un rôle à jouer dans la fertilité des individus. Afin **d'évaluer la part des facteurs génétiques, climatiques et nutritionnels** dans la fertilité des mâles de *V. velutina*, il pourrait être envisagé de mesurer l'évolution de la fertilité de différents mâles issus de colonies maintenues à différentes températures, et de contrôler la quantité et la qualité de la nourriture disponible pour les colonies ainsi que la diploïdie de ces mâles.

Le devenir des mâles une fois qu'ils ont quitté leur colonie est encore inconnu : cherchent-ils d'autres colonies pour se reproduire ? Ou bien patrouillent-ils sur des sites potentiellement intéressants pour rencontrer des gynes (passage, nourriture)? Afin d'avancer sur ces observations *in natura*, il pourrait être utile de **se focaliser sur le déplacement des mâles** après émergence avec des émetteurs actifs ([pour plus de détails techniques voir le point 2.2 de cette discussion](#)). En associant ces observations avec des données de biologie (dissections à postériori) il serait ainsi possible de quantifier les proportions de reproductions à divers endroits chez cette espèce (au nid, sous le nid, dans des sites de nutrition etc...). Il serait également possible de cette manière de détecter si les mâles ont un comportement de défense des colonies comme décrit par [Perveen & Shah 2013](#).

Enfin, il semblerait important de tester la **capacité reproductrice de mâles diploïdes de *V. velutina*** : sont-ils évités par les femelles ou agressés comme décrit dans l'Annexe 1.3 ? Peuvent-ils s'accoupler comme décrit chez d'autres mâles diploïdes dans d'autres espèces d'hyménoptères (Cowan & Stahlhut 2004)? Krieger *et al.* 1999 ont mis en évidence une proportion importante (12%) de femelles triploïdes chez la fourmi invasive *Solenopsis invicta* ; on pourrait se demander quelle proportion des femelles produites dans les colonies de *V. velutina* est triploïde ? Si elles existent, ces femelles ont-elles un comportement social et reproductif différent ?

1.2. Biologie des femelles de *V. velutina*

Dans le Manuscrit 2, nous avons montré que les fondatrices de *V. velutina* avaient une date de maturation ovarienne au printemps bien plus précoce que celui de *V. crabro*, et il serait intéressant de savoir si ce phénomène est purement lié à une sortie d'hivernation plus précoce, ou bien connecté à une vitesse de maturation plus élevée.

Nous avons supposé qu'une compétition pour les ressources et les sites de nidification entre ces deux espèces pouvait être probable, la compétition interspécifique étant classique chez les vespides (Spradbery 1973, Edward 1980, Matsuura & Yamane 1990, Cervo *et al.* 2004), et un remplacement des communautés de frelons par *V. velutina* ayant eu lieu en Corée suite à son invasion (Choi *et al.* 2012). Il semble très important ici d'aller plus loin sur des observations de terrain de nids primaires, pour évaluer la compétition inter et intra-spécifique chez les reines de frelon *V. crabro* et *V. velutina*, en effectuant de nombreuses observations et comptage d'attaques et d'usurpation. Une expérimentation préliminaire, non présentée dans ces travaux, conduite en partenariat avec un apiculteur a permis par exemple de compter 12 tentatives d'usurpation de reines de *V. velutina* pour un seul nid de la même espèce en Bretagne (D. Jaffré pers. com.).

Dans son étude de l'évolution des communautés de frelons en Corée suite à l'invasion de *V. velutina*, Choi *et al.* 2012 ont mis en évidence que *V. velutina* était devenue l'espèce ultra majoritaire en zones urbanisées, alors qu'il était anecdotique en zones forestières, sa répartition suivant un gradient proportionnel au degré d'urbanisme de l'aire observée. Nadolski 2012 a de plus montré que certaines

caractéristiques coloniales (taille, population) pouvaient évoluer au sein d'une même espèce de frelon suivant si elle était située en zone urbaine ou rurale. Dans le [Manuscrit 2](#) nous avons capturé des reines urbaines et rurales, et il pourrait être intéressant dans une expérimentation à plus large échelle de quantifier la présence de *V. crabro* et *V. velutina* et de mesurer les caractéristiques reproductives dans différents scénarios climatiques mais surtout paysagers de ces deux espèces. De plus, on peut supposer que les frelons des zones rurales aient une alimentation riche en insectes, et par conséquent soient plus sensibles aux pesticides que les frelons des zones urbaines, dont le bol alimentaire est complété par les étals, déchets et autres sources d'alimentation humaine. L'exposition aux pesticides agricoles et l'incidence sur les comportements de chasse des frelons fera par exemple l'objet d'un projet soumis par mon unité de recherche.

1.3. Spatial sorting chez *V. velutina*

En [Annexe 1.1](#) nous avons observé de grosses différences morphologiques entre les reines italiennes et françaises, mais n'avons pas pu conclure quant à la part respective du génotype et du climat sur ces différences de phénotype. Dans un premier temps, le projet de science participative EUROFRELOON ([Annexe 1.2](#)), lancé au printemps 2017, permettra de décrire précisément les potentielles différences morphologiques et génétiques observable chez les reines de *V. velutina* provenant de diverses zones climatiques et de régions envahies en fonction de l'ancienneté de l'invasion. Afin de **différencier au mieux adaptation et adaptabilité**, des essais sur plus d'une génération en conditions contrôlées pourraient être envisagés.

Le « spatial sorting » englobe beaucoup d'évolutions différentes chez les populations d'organismes invasifs : dans la littérature on parle d'**évolution morphologique** (capacité de dispersion optimisées sur les fronts) (démonstré récemment chez un vespidé dans [Barachi et al. 2017](#)), ainsi que d'**évolution comportementale**, avec par exemple en Australie un comportement dispersif bien plus développé chez les individus de front d'invasion du crapaud buffle comparé à la zone d'introduction de ce batracien ([Brown et al. 2014](#)). L'évaluation du **comportement dispersif de fondatrices de V.**

velutina pourrait être envisagée, avec un protocole basé sur l'observation des capacités exploratoires de reines dans une cage d'exploration similaire à celle présentée dans [Monceau et al. 2015b](#), avec des reines provenant de différents sites proches ou non des fronts d'invasion.

L'exploration va de pair avec des **capacités neurologiques** liées à la détection, à l'orientation : il pourrait également être intéressant de creuser des possibles évolutions neurologiques chez les populations de front de *V. velutina*, apportant ainsi un nouvel angle d'étude de cette question évolutive.

1.4. Biologie de la reproduction chez *V. velutina*

Lors de nos essais sur la reproduction de *V. velutina* ([Annexe 1.3](#)), nous avons observé que les mâles semblaient attirés par les femelles en laboratoire, mais aucun signal chimique ou visuel n'a pu être mis en évidence qui permettrait une attraction à longue distance ([Cini & Capa et al. com pers. Coloss Turin & Coloss Majorca](#)). Une phéromone d'attraction sexuelle telle que celle existant chez *V. crabro* ou *V. mandarinia* a très récemment été décrite chez *V. velutina* par [Wen et al. 2017](#), et les structures macroglomérulaires responsables du traitement de l'information phéromonale ont été identifiées ([Couto et al. 2016](#)). En tout état de cause, il semblerait qu'elle n'agisse qu'à très faible distance ([Cini & Capa 2017, Coloss Majorca](#)), contrairement aux phéromones sexuelles de papillons ([Ioratti et al. 2011](#)). Il est alors difficile d'espérer que de telles phéromones puissent permettre une forte attraction à distance, et donc d'envisager l'usage de pièges à phéromones (capture de mâles) ou des diffuseurs de phéromones éloignés des nids (confusion sexuelle). Peut-être qu'*in natura* les mâles se reproduisent soit dans les nids, qui possèderaient alors une odeur qui attireraient les mâles, soit dans des sites de ressources de nourriture par lesquels ils seraient alors attirés. Des **essais d'attractivité** par ce genre de signaux olfactifs assistés par exemple par des approches neurobiologiques dans la continuité des travaux d'Antoine Couto ([Couto et al. 2014, 2016](#)) sembleraient, en tous cas, appropriés pour éclaircir ce point. Des odeurs de différentes colonies, ayant ou non commencé à produire des

reines pourraient par exemple être présentées, ainsi que différentes odeurs de ressources alimentaires « classiques » rencontrées par les mâles *in natura* (lierres, saules, plantes à miellat d'automne).

De nombreuses questions quant à la reproduction chez *V. velutina* persistent : nous n'avons pas encore pu observer d'accouplements en laboratoire où des spermatozoïdes ont pu être retrouvés dans le tractus femelle. Il nous reste donc à déterminer les conditions requises pour un accouplement réussi. Dans ces conditions, nous pourrions étudier comment les femelles choisissent le mâle pour l'accouplement et évaluer le poids de certains paramètres sur ce choix (origine, caractéristiques morphologiques, fertilité et haplo/diploïdie du mâle ; présence d'autres mâles autour).

1.5. Hivernation

Des groupes de trois ou quatre fondatrices hivernantes dans des souches d'arbres ont été observés en 2015 et 2016, lors des campagnes de captures pour le [Manuscrit 2](#) et les [Annexes 1.1](#) et [1.2](#). Il pourrait être intéressant de savoir si, comme chez certaines guêpes polistes, des reines de *V. velutina* de différentes colonies se regroupent pour hiverner ([Dapporto et al. 2004](#)), ou bien s'il s'agit d'un phénomène uniquement intra colonial. Ce point nous paraît capital à traiter, si l'on veut pouvoir lutter contre les fondatrices avant l'initiation des colonies de printemps. Des tests sur les signatures en hydrocarbures cuticulaires, partagées par des individus d'une même colonie ([Gévar et al. 2017](#)), pourraient sûrement permettre de répondre à cette question. De même ces tests pourraient être réalisés sur des **colonies initiées très proches** les unes des autres, observées de temps en temps. Dans le cas d'une très proche parenté permettant l'initiation de nids très rapprochés, cela soulèverait des problématiques proches de celles observées chez la fourmi argentine, *Linepithema humile*, où les différences génétiques entre colonies sont tellement faibles suite à son introduction en Amérique et en Europe, que les colonies agissent comme des « super colonies », supportant beaucoup mieux la concurrence de leurs congénères dans leur environnement ([Hölldobler & Wilson 1990](#), [Holway et al. 1998](#)). Des reines d'une même colonie cherchent-elles un site d'hivernation et un site d'initiation en

petit groupe ? Cette solution pouvant permettre en collaborant de mieux résister aux agressions hivernales ? Une acceptabilité élevée des ouvrières introduites dans les colonies étrangères a été observée en laboratoire : qu'en est-il *in natura* ? Et entre reines ? Dans un premier temps avec une méthode RFID il pourrait être possible d'évaluer la dérive et la survie d'ouvrières entre diverses colonies. La dérive est un phénomène classique chez les abeilles domestiques, sans pour autant être lié à des proximités génétiques, mais nous manquons encore d'informations sur la fréquence de ce genre de comportements chez les guêpes.

2. De la collecte de ressources à leur utilisation dans les colonies de *V. velutina*

2.1. Spécialisation alimentaire

L'expérimentation présentée sur le choix des ressources alimentaires chez *V. velutina* (présentée en [Annexe 2.1](#)) se heurte à différentes problématiques liées au dispositif expérimental choisi lors de nos essais: la période d'adaptation, les différents sites de capture, le confinement en espace restreint... Autant de contraintes et de biais qui ont pu interférer avec l'observation du comportement potentiellement spécialisé dans la collecte de certaines ressources des ouvrières de *V. velutina*. L'usage de la technique RFID pourrait ici nous permettre de répondre à cette question de manière plus précise et rigoureuse. En plaçant des portails à l'entrée de différents bacs à appâts, et en suivant passivement l'activité des ouvrières pour leur collecte, il serait possible de **détecter des formes de spécialisation**, mais également des **évolutions dans le temps du type de collecte chez les individus**. On pourra envisager de déplacer les sources de nourriture, ou bien d'en supprimer, et d'observer ainsi l'évolution des comportements individuels de collecte. La [Figure 28](#) schématise l'installation expérimentale pouvant être mise en place pour étudier cette question. Ce type de dispositif n'a toutefois pas pu être testé durant cette thèse, faute de temps.

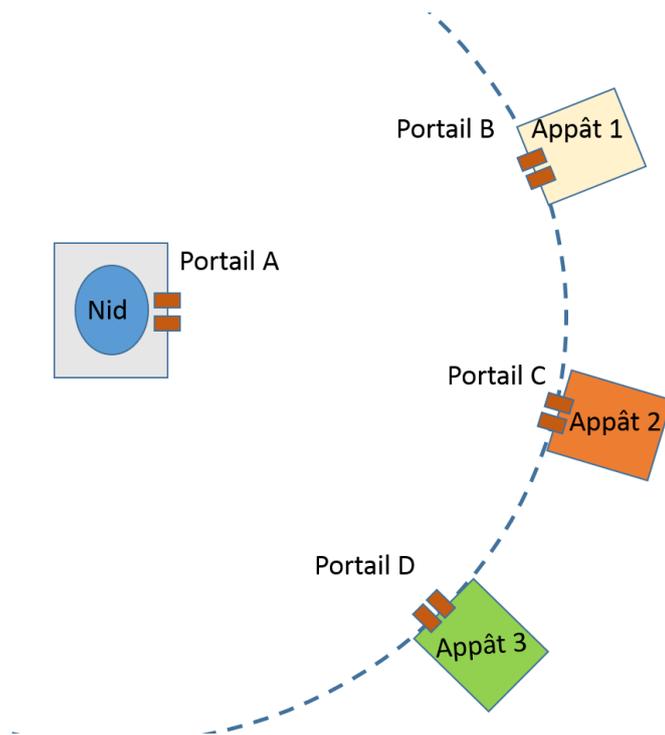


Figure 28 : Design expérimental pour tester le degré de spécialisation pour la collection de différentes ressources chez *V. velutina*, en utilisant des portails RFID placés au nid et à l'entrée de nourrisseurs contenant des ressources variées (portails B, C, D).

2.2. Rayon d'action des ouvrières et détection des colonies

Dans notre article sur la capacité de retour au nid du frelon asiatique (Manuscrit 4), nous avons pu obtenir une estimation du rayon d'action maximum de *V. velutina* (5km) et classique (<1km) de cette espèce autour de son nid, de manière indirecte, grâce à l'usage de la technique du RFID. Il pourrait cependant être intéressant d'aller plus loin, et **d'évaluer les paramètres ayant un rôle à jouer dans l'évolution de ce rayon d'action et des densités de nids**. Ces informations seraient importantes pour modéliser et estimer l'impact potentiel des colonies de *V. velutina* dans leur environnement. La quantité et la qualité des ressources alimentaires et la composition du paysage pourraient par exemple être structurantes comme chez les bourdons (Osborne *et al.* 2008).

Des expérimentations visant à **détecter les nids à l'aide de radio émetteurs** portés par des ouvrières de *V. velutina* ont été démarrées, en collaboration avec Dr. Peter Kennedy (Figure 29.A) et Juliet

Osborne de l'Université d'Exeter. La problématique repose ici sur notre capacité à trouver un compromis optimal entre le poids d'un tag à placer sur le dos du frelon, et au rayon de détection des appareils. Ici le fait d'influer par une grande charge la « qualité » du vol des frelons n'est pas important, il ne faut cependant pas les empêcher de retourner à leur nid. Certains outils de tracking comme le système Recco® (Figure 29.B) ne nécessitent pas d'émission d'onde par la puce (donc sans batterie), et sont donc très légers, mais avec un rayon de détection très faible (60m). Un autre système de tag, actif cette fois-ci car un signal est émis par la puce (reliée à une batterie), est bien plus lourd (Figure 29.C), mais a un rayon de détection plus important (>150m). Tous ces systèmes ont une pénétration suffisamment importante pour détecter un frelon à travers des feuillages, contrairement au radar harmonique.

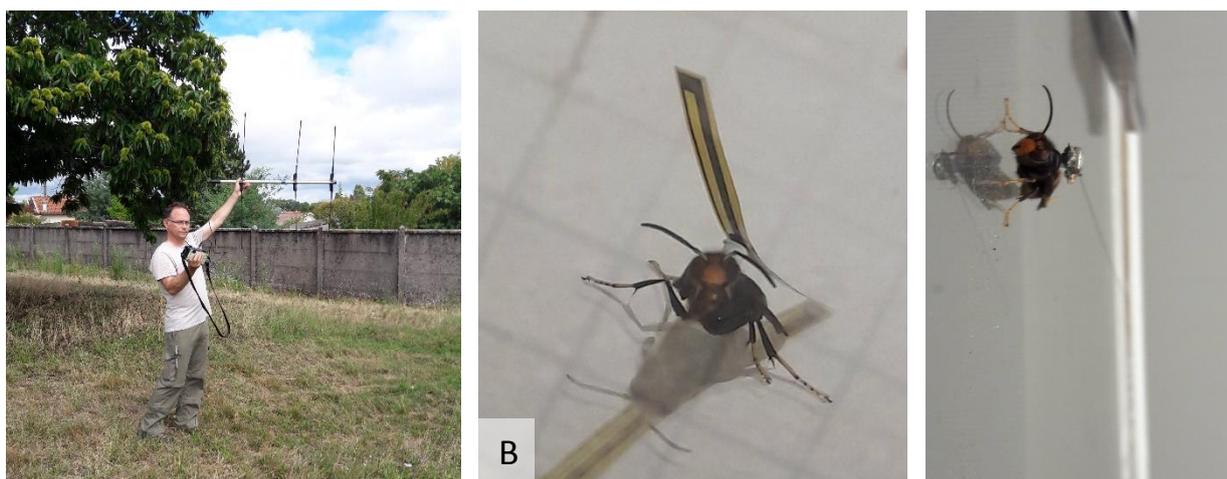


Figure 29 : A. Scientifique (Dr P. Kennedy) en train d'utiliser un système de télémétrie radar pour détecter un signal provenant d'une puce active transportée par un frelon (expérimentations conduites à l'UMR INRA Save). B. Frelon équipé d'une puce Recco® (puce passive donc non émettrice) fixée sur son thorax. C. Frelon équipé d'une puce active associée à une batterie sur son thorax.

2.3. Distribution de la nourriture dans les colonies de *V. velutina*

Dans le [Manuscrit 4](#) présenté dans ces travaux, nous avons exploré la manière dont évoluait la distribution de nourriture par une ouvrière dans les colonies de *V. velutina* avec leur structure, en marquant de la nourriture protéique et sucrée avec des métaux lourds, Rubidium et Césium, et en regardant comment ces traceurs étaient distribués parmi les membres de la colonie après 24h. Notre approche a été de « fixer » des paramètres connus pour pouvoir influencer la distribution de nourriture dans des colonies d'hyménoptères sociaux, *e.g.* la température, le degré de satiété des colonies et le nombre d'ouvrières distributrices ([Markin et al. 1970](#)), de manière à se concentrer essentiellement sur l'impact que pouvait avoir la taille et la structure des colonies (castes et stades présents et leurs proportions) sur ce comportement.

Nous avons observé que les différentes castes et stades ne recevaient pas les mêmes types de nourriture, les larves recevant plus de protéines que de sucres quand l'inverse est observé chez les ouvrières, ce qui était un résultat attendu ([Montagner 1963](#)). Mais nous n'avions pas envisagé la possibilité d'une adaptation de l'apport nutritif en fonction du statut des membres de la colonie. Ainsi, les larves les plus légères reçoivent plus de sucre et les ouvrières les plus grosses plus de protéines. Nous avons également pu observer que dans les colonies où ils étaient présents, les mâles n'ont reçu de la nourriture (du sucre) que lorsqu'il n'y avait pas de larves dans la colonie, ce qui laisserait supposer que les larves soient prioritaires pour cette ressource vis-à-vis des mâles. Le vecteur le plus intéressant ressortant de notre étude semble être la solution protéique, qui vise à la fois le couvain et les ouvrières les plus grosses, plus enclines à chasser. Par contre les mâles et les gynes n'ont été que très peu marqués dans cette expérimentation, et un effet cumulatif serait intéressant à estimer pour évaluer à partir de combien d'ouvrières vectrices ces cibles commencent à être impactées.

Dans la continuité des travaux de [Markin et al. 1970](#), il serait intéressant d'observer dans des colonies de structures et tailles « calibrées », comment la distribution de nourriture évolue avec la température, par exemple en maintenant des nids dans des chambres climatiques à plusieurs températures. De plus, au lieu de travailler à l'échelle d'une seule ouvrière, il pourrait être envisagé de regarder les effets

cumulatifs d'une distribution continue de nourriture marquée pendant un temps plus court, en laissant les appâts à disposition des ouvrières *ad libidum* le temps de l'expérimentation.

Nous manquons encore d'informations basiques sur la biologie de *V. velutina*, comme par exemple l'impact de la température ou du type de nourriture reçue sur sa vitesse de développement larvaire, nymphale et sa survie et fertilité à l'âge adulte... Ces aspects seraient pourtant également très importants à étudier.

3. Biocontrôle de *V. velutina*

3.1. Amélioration des formulations et choix des souches de champignons entomopathogènes

Dans l'**Axe 3** de ces travaux de thèse, nous avons mis en évidence le potentiel prometteur de l'usage de certains isolats de champignons entomopathogènes généralistes *Beauveria bassiana* et *Metarhizium robertsii* pour le biocontrôle de *V. velutina*. De manière générale, le goulot génétique subit par *V. velutina* lors de son invasion va dans le sens du développement d'une méthode de lutte biologique basée sur un ou plusieurs organismes parasites : le peu de diversité dans les populations cibles devrait limiter la variabilité potentielle d'efficacité des agents choisis liée à la génétique des cibles (Lacey *et al.* 2015). Plusieurs pistes restent encore à explorer dans cette continuité. Un **screening plus exhaustif de souches de collection de champignons entomopathogènes spécialisées en vespides ou commercialisées** en Europe pourrait être dans un premier temps effectué. Des essais testant différentes concentrations, formulations, mélanges de souches pourraient également être envisagés. La toxicité potentielle et les risques liés à l'utilisation de ces agents biologiques devront également être rigoureusement évalués.

L'efficacité de ces souches devra également être ré-évaluée sur des larves, en prenant en compte les travaux de Harris *et al.* 2000, où pour empêcher l'émergence d'adultes pendant les essais, les cellules des nymphes sont percées à l'aide d'une épingle avant de lancer l'expérience.

L'odeur des champignons entomopathogènes peut parfois être répulsive dans des appâts, comme montré par exemple dans [Mburu *et al.* 2009, 2010, 2013](#). Dans ces études les auteurs ont mis en évidence un lien entre la virulence des pathogènes et leur effet répulsif pour des termites, et isolé les molécules impliquées dans ce comportement. Cet aspect devra être pris en compte dans le choix de souches dans un objectif de traitement de type Cheval de Troie pour *V. velutina*. La formulation des traitements à base de spores pourrait également jouer un rôle dans l'appétence de l'appât, afin de le rendre plus attractif.

3.2. Evaluation de l'impact de champignons entomopathogènes sur des colonies entières

Afin d'évaluer de manière plus réaliste l'impact de traitements avec des entomopathogènes sur *V. velutina*, des expérimentations devront être réalisées sur des colonies entières, de différentes tailles, soit en injectant la solution de spores dans le nid à la manière des traitements chimiques actuellement appliqués, soit à l'aide d'appâts les contenant, que les ouvrières iront collecter et distribueront dans leur colonie (Cheval de Troie). Une attention toute particulière devra dans ce dernier cas être portée à la sélectivité de l'appât attractif. La contamination « active » de frelons capturés devant les ruches pourrait également être envisagée : il semblerait intéressant de fabriquer une « enceinte de contamination », par exemple un shaker contenant les spores en poudre, dans lequel on forcera le contact entre le frelon et les spores avant de le relâcher.

Dans l'**Axe 2.3** nous avons pu développer la technique d'encagement de nids de frelons et d'équipement en RFID, et dans l'**Axe 3.2** nous avons testé différents isolats de champignons entomopathogènes capables d'infecter les adultes de frelons asiatiques en laboratoire. Nous présentons ci-dessous un protocole pour évaluer l'impact en semi-field d'un traitement par ces parasites sur un nid de frelon entier ([Figure 30](#)).

Pour cela, nous allons encager 2 nids et les équiper :

- à la fois d'un **système RFID** afin de suivre le niveau d'activité des ouvrières et leur évolution après traitement (durée des vols, timing, nombre de vols, survie)
- ainsi que d'une **balance électronique** pour surveiller l'accroissement de population et détecter une potentielle délocalisation de la colonie. La balance fait une mesure toutes les 10min à la fois du poids, mais également de la température, et envoie les données directement en ligne.

Les deux cages sont isolées à la fois par une coque de carton mais également par un « paravent » pour éviter une potentielle dérive lors du traitement. Les cages n'étant grillagées que sur trois faces, les risques de contamination « directe » sont somme toute limités. Mais grâce au marquage électronique des frelons des colonies et à la présence de portails à leur entrée, la dérive et du coup l'impact d'une contamination indirecte liée à ce phénomène pourront être évalués

Design expérimental

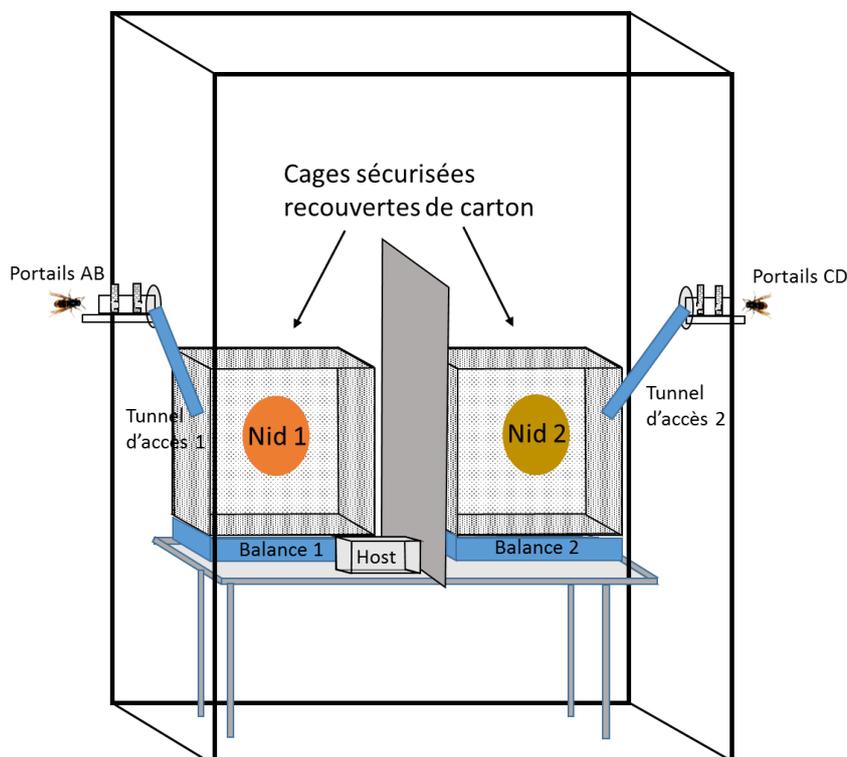


Figure 30 : Schéma de l'installation expérimentale à développer pour l'évaluation de l'efficacité de traitements avec des entomopathogènes sur une colonie entière de frelon. Un des deux nids sera traité, l'autre sera un témoin (il ne recevra que de l'eau à la place de la

solution de spores). Le suivi automatisé des individus sera permis par le marquage électronique des individus des deux colonies et leur détections par les portails placés à la sortie des colonies (AB et CD respectivement). (Schéma J. Poidatz).

Ces expérimentations sont envisagées en fin d'année 2017.

Conclusion générale

Outre leur nuisance pour l'environnement colonisé, les invasions biologiques proposent souvent un modèle d'étude de choix. Elles permettent l'étude de processus populationnels d'adaptation et d'évolution très particuliers avec leur nouvel environnement. Dans mes travaux de thèse présentés ici, j'ai tenté d'apporter des éléments de compréhension sur la biologie du frelon asiatique invasif *V. velutina* à des étapes clés du développement de ses colonies afin d'apporter des éléments utiles pour développer des stratégies de contrôle durable de ses colonies.

Nous avons tout d'abord travaillé sur la période reproductive chez *V. velutina*, en décrivant la maturation sexuelle des mâles et le comportement de reproduction. Puis nous nous sommes intéressés à la période d'initiation de la colonie, en analysant les capacités reproductrices des fondatrices de *V. velutina* en regard avec celles des fondatrices du frelon européen *V. crabro*, mais également en observant une potentielle évolution des capacités de dispersion de ces fondatrices à travers son aire de répartition via une sélection spatiale de traits pionniers sur les marges de sa zone d'invasion.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés au fonctionnement des colonies de frelons, via l'étude de la capacité de retour à leur nid, de l'évaluation des limites de leur rayon d'action et de l'activité journalière des ouvrières en lien avec le climat. Nous avons également observé dans quelle mesure la distribution de sucre et de protéines pouvait évoluer dans les colonies suivant leur taille et leur structure, mettant ainsi en évidence l'intérêt de l'usage de protéines comme vecteurs pour une potentielle stratégie de type Cheval de Troie.

Enfin, nous nous sommes penchés sur des méthodes potentielles de contrôle des colonies de frelons, via la description et l'évaluation de souches de champignons parasites, ce qui a pu mettre en exergue leur possible intérêt dans la lutte contre *V. velutina*.

Bien que cette thèse ne soit qu'une première étape dans la compréhension de la biologie du frelon invasif *V. velutina*, elle aura permis de confirmer l'intérêt d'une orientation des recherches vers une stratégie bien précise de perturbation biologique des colonies. De nombreuses questions restent bien sûr encore à explorer, en particulier dans la compréhension de la reproduction de cette espèce, de son comportement de fourragement ainsi que dans le choix, la formulation des agents de biocontrôle et leur application dans les colonies. A la fin de ces travaux, nous avons donc proposé différentes pistes de recherche à envisager. Ces travaux ont pu à la fois apporter des éléments nouveaux sur la compréhension de la biologie des frelons, mais également sur des pistes de contrôle de ce prédateur invasif.

Dans le cadre de cette thèse CIFRE, j'ai été amenée à réaliser un travail transversal reposant sur de nombreuses techniques pour collecter ou analyser mes échantillons: dissections, microscopie, science participative, marquage chimique, ICPMS, radio-tracking, analyses de vidéos, biologie moléculaire, entomopathologie... J'ai eu la chance de travailler avec des apiculteurs (amateurs ou professionnels), des associations, des scientifiques, des journalistes, des particuliers ; mais également d'aller présenter mes travaux à de nombreuses conférences en France et à l'étranger, ce qui a participé au développement de mon réseau professionnel et a facilité mon insertion dans la vie professionnelle.

Le « retour vers le futur » (Lacey *et al.* 2015) observé depuis les années 2000 sur l'usage d'entomopathogènes en tant qu'agents de lutte biologique est encourageant pour la suite de ce champ de recherche prometteur, qui devient de plus en plus attractif pour les industries. Il est vrai que le biocontrôle est un domaine plus complexe à envisager comparé à la plupart des molécules chimiques, car une attention particulière doit être portée à la biologie et l'écologie à la fois des agents et des cibles pour optimiser leur efficacité, et ce principe a d'ailleurs été le fil directeur de ces travaux de thèse : aller de la compréhension de la biologie vers le contrôle. Malgré tout, la prise de conscience de la dégradation des écosystèmes et de l'importance de la mise en place de techniques de gestion durable

des nuisibles font que les agents de biocontrôle occupent maintenant une part non négligeable du marché des produits de contrôle d'invertébrés (10 à 15% en 2017, [Robert D. International Symposium of the Society of Invertebrate Pathology 2017, San Diego](#)). Le biocontrôle devenant une des solutions de gestion des nuisibles du futur, l'intensification des progrès scientifiques et techniques devrait permettre son usage durable et généralisé.

