



**HAL**  
open science

**Du laboratoire au terrain, du mouvement à la dispersion : étude de la propagation des parasitoïdes du genre *Trichogramma* à différentes échelles spatiales et temporelles**

Mélina Cointe

► **To cite this version:**

Mélina Cointe. Du laboratoire au terrain, du mouvement à la dispersion : étude de la propagation des parasitoïdes du genre *Trichogramma* à différentes échelles spatiales et temporelles. Ecologie, Environnement. Université Côte d'Azur, 2023. Français. NNT : 2023COAZ6026 . tel-04390275

**HAL Id: tel-04390275**

**<https://theses.hal.science/tel-04390275>**

Submitted on 12 Jan 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THÈSE DE DOCTORAT

Du laboratoire au terrain, du mouvement à la dispersion : étude de la propagation des parasitoïdes du genre *Trichogramma* à différentes échelles spatiales et temporelles

**Méline COINTE**

Institut Sophia Agrobiotech

**Présentée en vue de l'obtention  
du grade de docteur en** Biologie des  
interactions et écologie

**d'Université Côte d'Azur**

**Dirigée par :** Vincent Calcagno et Ludovic  
Mailleret

**Soutenue le :** 11/10/2023

Devant le jury, composé de :

Anne Le Ralec, Professeure, Institut Agro  
Rennes, Présidente du jury

Delphine Legrand, Chargée de recherche,  
Station d'Ecologie Théorique Expérimentale  
(SETE) UMR 5321 (CNRS, Université Paul  
Sabatier Toulouse)

Emanuel Fronhofer, Chargé de recherche,  
Institut des Sciences de l'évolution  
Montpellier (CNRS)

Ludovic Mailleret, Directeur de recherche,  
Institut Sophia Agrobiotech

Sara Magalhães, Professeure associée,  
Faculté des Sciences de Lisbonne

Vincent Calcagno, Directeur de recherche,  
Institut Sophia Agrobiotech



Du laboratoire au terrain, du mouvement à la  
dispersion : étude de la propagation des  
parasitoïdes du genre *Trichogramma* à différentes  
échelles spatiales et temporelles

Jury :

Rapporteurs

Anne Le Ralec, Professeure, Institut Agro Rennes

Sara Magalhães, Professeure associée, Faculté des Sciences de  
Lisbonne

Examineurs

Delphine Legrand, Chargée de recherche, Station d'Ecologie Théorique  
Expérimentale (SETE) UMR 5321 (CNRS, Université Paul Sabatier  
Toulouse)

Emanuel Fronhofer, Chargé de recherche, Institut des Sciences de  
l'évolution Montpellier (CNRS)

Direction de thèse

Vincent Calcagno, Directeur de recherche, Institut Sophia Agrobiotech  
(Directeur)

Ludovic Mailleret, Directeur de recherche, Institut Sophia Agrobiotech  
(Co-Directeur)



## Résumé

La dispersion revêt une importance capitale en écologie, déterminant non seulement la fitness des individus, mais aussi la génétique et la dynamique des populations, et la répartition des espèces. Elle est également reconnue comme un élément clé de la qualité des auxiliaires de biocontrôle. Pourtant, elle reste difficile à mesurer, notamment parce que les auxiliaires utilisés sont souvent de très petite taille. C'est notamment le cas de l'un des plus utilisés dans le monde, le trichogramme : une micro-guêpe parasitoïde mesurant moins de 0,5 mm, qui est mon organisme d'étude. Classiquement, la dispersion des auxiliaires est étudiée à l'aide de lâchers sur le terrain, mais ces derniers sont chronophages, coûteux, et les résultats sont très variables. Elle peut également être évaluée à l'aide d'expériences à petite échelle. Toutefois, ces dernières négligent d'importants processus à plus grande échelle, tels que les dynamiques de groupe. Par conséquent, l'évaluation correcte des paramètres de dispersion est souvent problématique et insuffisante dans les programmes de sélection pour le biocontrôle. Dans le cadre de cette thèse, j'ai étudié le mouvement et la dispersion de 17 souches de *Trichogramma cacoeciae*, espèce asexuée, à trois échelles spatio-temporelles. Mon travail a eu pour premier objectif la qualification et la quantification de proxys liés à la dispersion de ces souches à ces trois échelles. Le deuxième objectif de ma thèse a été d'évaluer s'il existait des corrélations entre les proxys évalués aux différentes échelles, dans le but de déterminer s'il est possible d'utiliser des mesures relatives à la propagation spatiale des individus au laboratoire pour approcher la dispersion exprimée sur le terrain. Afin de satisfaire à ces deux objectifs, j'ai tout d'abord, à partir d'expériences dans de petites arènes expérimentales d'une dizaine de centimètres, déterminé la vitesse moyenne des individus, leur taux d'activité et la sinuosité de leurs trajectoires sur quelques minutes. Dans des arènes en double spirale offrant un chemin de plusieurs mètres, j'ai obtenu une mesure directe du taux de dispersion spatiale (déplacements quadratiques moyens et coefficients de diffusion) des différentes souches de Trichogrammes sur plusieurs heures. Enfin, j'ai mesuré la dispersion à l'aide d'œufs sentinelles dans des conditions de terrain en effectuant des lâchers de Trichogrammes dans des rangées de poivrons cultivés en serres. Les expériences menées dans les petites arènes m'ont permis de mettre en évidence une variabilité intraspécifique exprimée sur les proxys calculés et leur variabilité selon des paramètres abiotiques comme la période de la journée ou la température. J'ai ensuite déterminé, avec l'arène en double spirale, l'existence de quatre profils de dispersion se distinguant suivant des phases d'accélération ou de ralentissement au cours de la journée. Les lâchers en serres m'ont permis d'identifier d'intéressantes corrélations entre dispersion et parasitisme à différentes hauteurs. Un objectif parallèle constituant l'ouverture de mon manuscrit, a été l'étude de traits d'histoire de vie classiquement utilisés pour la sélection des agents de biocontrôle, la fécondité et la longévité, et de discuter leur lien avec la dispersion. J'ai pour cela mesuré la longévité et la fécondité de chacune des 17 souches étudiées. Ces expériences montrent une influence positive de la présence d'œufs hôtes sur la longévité des femelles trichogrammes. Dans ce cadre expérimental, aucun trade-off n'est mis en avant entre longévité et fécondité. A l'aide des variables mesurées aux trois échelles étudiées, j'ai pu étudier la question du transfert d'échelle. J'en conclus qu'il est difficile d'établir des corrélations claires entre les échelles. J'en discute les raisons ainsi que les implications dans le domaine du biocontrôle. Le compromis avec la dispersion est abordé sous la forme d'une discussion.

Mots-clés : Comportement, Biocontrôle, *Trichogramma*, Dispersion, Etude expérimentale, mouvement

## Abstract

Dispersal is of paramount importance in ecology, determining not only the fitness of individuals, but also the genetics and dynamics of populations, and the distribution of species. It is also recognized as a key factor in the quality of biocontrol agents. However, it remains difficult to measure, particularly when the insects used are very small. This is particularly true for one of the most used worldwide, the *Trichogramma*: a parasitoid micro-wasp measuring less than 0.5 mm, which I used as a study organism. Classically, dispersal of natural enemies is studied using field releases. But these are time-consuming and costly, and the results are highly variable. Dispersal can also be assessed using small-scale experiments. However, these neglect important larger-scale processes, such as group dynamics. As a result, the correct assessment of dispersal parameters is often complicated and insufficient in breeding programs for biocontrol. In my thesis, I studied the movement and dispersal of 17 strains of *Trichogramma cacoeciae*, an asexual species, at three spatio-temporal scales. The first objective of my work was to qualify and quantify proxies linked to the dispersal of these strains at these three scales. The second objective of my thesis was to assess whether correlations existed between the proxies evaluated at the different scales, with the aim of determining whether it is possible to use measures relating to the spatial spread of individuals in the laboratory to approximate the dispersal expressed in the field. In order to meet these two objectives, I first used experiments in small experimental arenas of around ten centimetres to determine the average speed of individuals, their activity rate and the sinuosity of their trajectories over a few minutes. In double-spiral arenas offering a path of several meters, I obtained a direct measurement of the rate of spatial dispersal (Mean Squared Displacement and diffusion coefficients) of different *Trichogramma* strains over several hours. Finally, I measured dispersal using sentinel eggs under field conditions by releasing *Trichogramma* individuals in rows of greenhouse-grown bell peppers. Experiments carried out in small arenas enabled me to highlight intraspecific variability expressed on calculated proxies and their variability according to abiotic parameters such as time of day or temperature. Using the double-spiral arenas, I then determined the existence of four dispersal profiles, distinguished by phases of acceleration or deceleration during the day. Greenhouse releases enabled me to identify interesting correlations between dispersal and parasitism at different heights. A parallel objective, constituting the opening of my manuscript, was to study life-history traits classically used for the selection of biocontrol agents, fecundity and longevity, and to discuss their link with dispersal. To this end, I measured the longevity and fecundity of each of the 17 strains studied. These experiments show a positive influence of the presence of host eggs on the longevity of female *Trichogramma*. In this experimental setting, no trade-off between longevity and fecundity was observed. Using the variables measured at the three scales studied, I was able to investigate the question of scale transfer. I conclude that it is difficult to establish clear correlations between the scales. I discuss the reasons for this, as well as the implications for biocontrol. The trade-off with dispersal is addressed in the form of a discussion.

Key words: Behaviour, Biocontrol, *Trichogramma*, Dispersal, Experimental study, Movement



## Remerciements

*« Vous êtes-vous déjà demandé combien de fois par jour vous disiez merci ? Merci pour le sel, pour la porte, pour le renseignement.*

*Merci pour la monnaie, pour la baguette, pour le paquet de cigarettes.*

*Des merci de politesse, de convenance sociale, automatiques, mécaniques. Presque vides.*

*Parfois omis.*

*Parfois exagérément soulignés : Merci à toi.*

*Merci pour tout. Merci infiniment.*

*Grand merci.*

*Des merci de profession : Merci pour votre réponse, votre attention, votre collaboration.*

*Vous êtes-vous déjà demandé combien de fois dans votre vie vous aviez réellement dit merci ? Un vrai merci. L'expression de votre gratitude, de votre reconnaissance, de votre dette.*

*A qui ?*

*Au professeur qui vous a guidé vers les livres ?*

*Au jeune homme qui est intervenu le jour où vous avez été agressé dans la rue ? Au médecin qui vous a sauvé la vie ?*

*A la vie elle-même ?*

*Compter, devoir, est-ce ainsi que se mesure la gratitude ?*

*Ai-je suffisamment montré ma reconnaissance ?*

*On croit toujours qu'on a le temps de dire les choses, et puis soudain c'est trop tard. »*

### **Les gratitudes, Delphine de Vigan**

C'est avec ces mots que j'emprunte à Delphine de Vigan que je veux commencer à noircir ces pages. Je me suis moi-même interrogée sur toutes les gratitudes que j'ai si souvent pensées, mais si rarement exprimées. Alors, je saisis cette partie aujourd'hui, que l'on appelle d'usage « Remerciements », pour dire toutes les gratitudes qui ont rempli mon cœur et qui m'ont, avec douceur, guidée jusqu'à la thèse, puis pendant, et qui me guideront, encore, après.

Aussi, je tiens à prévenir par avance, mes lectrices et lecteurs, de l'apparente prolixité des pages qui vont suivre. J'emploie, avec grande volonté, « apparente », car, j'en suis certaine,

je ne pourrai, jamais, aligner suffisamment de mots telle que la longueur de mon propos, soit à la hauteur des gratitudes que mon cœur crie.

### **Mes gratitudes vont d'abord aux membres de mon jury.**

Merci. Merci **Anne Le Ralec** pour la professeure que vous avez été pendant mes trois années à l'Institut Agro de Rennes. C'est avec vous que j'ai appris pour la première fois, la définition de « lutte biologique ». C'est avec vous que j'ai appris pour la première fois, l'existence des trichogrammes, ces petites guêpes qui m'ont accompagnée pendant 3 ans et demi ! Merci pour l'humilité dont vous avez toujours fait preuve et qui m'a ainsi permis de me sentir à l'aise avec mon travail, mes questions, ma progression. Vous m'avez accompagnée pendant mes stages de première et deuxième année à l'école d'agronomie, et merci, parce qu'avec vous, je ne me suis jamais sentie jugée, si ce n'est positivement, sinon j'étais accompagnée mais jamais dévalorisée. Pour cela, merci. J'ai ainsi pu ressentir toute votre passion, tout le soin que vous mettez dans votre enseignement et vos recherches. J'ai ainsi pu aller en cours, à vos cours, avec le sourire car je savais que j'allais forcément rire à quelques, ou nombreux instants, et qu'il était, par conséquent, inévitable, que je m'imprègne de vos enseignements, avec plaisir, et sans grands efforts. Pour cela encore, merci. Pour tout cela, depuis que j'ai commencé ma thèse, je savais que le moment viendrait, je savais que j'allais vous écrire pour vous demander, en croisant les doigts de tout mon cœur, pour que vous acceptiez, de faire partie de mon jury de thèse. Et mon vœu a été exaucé. J'ai reçu votre réponse qui a posé un sourire sur mon visage, et une motivation supplémentaire pour mener, au mieux, la dernière ligne droite de mon parcours, avec l'envie de ne certainement pas vous décevoir. Pour cela, MERCI.

Merci. Merci **Delphine Legrand**, merci **Sara Magalhães**, merci **Emanuel Fronhofer** d'avoir accepté mon invitation pour faire partie de mon jury. Merci, car malgré le fait que nous ne nous connaissions pas, vous m'avez répondu chaleureusement, me témoignant une vraie envie de m'accompagner dans les derniers moments de ma thèse. Je tiens à adresser des gratitudes toutes particulières à Sara Magalhães qui m'a avoué dans sa réponse, avoir décidé cette année, qu'elle allait refuser toute proposition, mais qu'elle avait envie de déroger à son choix. J'ai été très touchée par ce geste, merci.

### **À Vincent**

Merci Vincent pour m'avoir proposé ce sujet de thèse il y a maintenant plus de trois ans. Merci d'avoir vu en moi les capacités de mener jusqu'au bout un tel projet. Merci d'avoir remis en question mon travail si souvent, faisant ainsi trembler ma confiance en moi, mais ne m'offrant pas d'autres choix que d'apprendre à m'affirmer et à défendre mes idées avec conviction. Merci vraiment, c'est une compétence indispensable dans le domaine de la recherche. Merci également pour toutes tes remarques pertinentes et même les plus improbables, relevant d'un détail inattendu comme la largeur d'une légende de gradient de couleurs, qui faisait 1cm de large et tu préférerais qu'elle fasse 0,8mm. Comment ne pas avoir l'impression de faire de la haute couture à chaque mot écrit dans une publication scientifique ? L'art et la science ne feraient-ils qu'un ?

### **À Ludo**

Merci Ludo pour m'avoir offert la possibilité de passer trois, et même trois ans et demi avec mon stage de M2 dans ton équipe. Merci d'avoir bien voulu participer à l'encadrement de ma thèse. Merci de t'être très tôt intéressé aux raisons pour lesquelles je faisais cette thèse et comment elle s'inscrivait dans mon parcours académique, et plus largement professionnel. Merci également pour la qualité de tes retours sur l'ensemble de mes écrits et sur mon travail de façon plus général. Tu as toujours laissé la place à mes idées, me laissant ainsi l'espace pour faire grandir mon positionnement scientifique et ma confiance en moi.

**Je voudrais également adresser de chaleureuses gratitudeux aux membres de mon comité de suivi de thèse.**

**Merci d'abord à Cécile Le Lann.** Merci pour les riches discussions dont tu as été un moteur important lors des deux comités. Tu as apporté des interrogations et une vision différente de celles auxquelles je pouvais être confrontée habituellement. Je suis ainsi sortie de mes comités, toujours plus éclairée et enrichie. Merci également d'avoir, à chaque fois, mené l'échange, plus informel, concernant mes ressentis sur mon travail, mon quotidien, mes activités « extra-thèse » etc. Je me sentais considérée, au-delà, de la casquette de « thésarde ». Je devenais une humaine, avec toutes ses passions, qui avait choisi d'exprimer l'une d'entre elles à travers une thèse. Merci.

Merci également à **Emmanuel Desouhant, Thomas Delattre**, pour m'avoir orientée sur des pistes de réflexion riches et nouvelles, sans forcément me les imposer. Merci pour votre bienveillance.

Merci à **Thibaut Malausa**

Merci Thibaut, d'abord d'avoir accepté les invitations à participer à mes comités de thèse malgré ton emploi du temps de ministre !!! Merci d'avoir toujours fait preuve de bienveillance dans tes remarques et d'avoir toujours pris le soin d'exprimer de la reconnaissance concernant mon travail. Merci aussi de t'être soucié de mon futur professionnel après la thèse, d'avoir été force de proposition et de m'avoir encouragée dans mes démarches. Merci d'avoir accueilli mes inquiétudes, mes réflexions, mes questionnements avec patience et d'y avoir répondu, toujours. Merci aussi pour l'humilité dont tu fais preuve, aussi bien sur le plan scientifique que sur le plan humain. Cela m'a permis d'échanger librement avec toi, sans appréhension et ainsi d'en tirer un maximum et surtout le meilleur. Un grand merci également pour ton implication concernant mon plan de carrière post thèse. Merci de m'avoir aidée à élargir mon réseau, de m'avoir sollicitée pour participer au Consortium Biocontrôle, à la journée avec l'institut Carnot Plant2Pro. Tu t'étais engagé à t'investir dans cette dimension lors de mon premier comité de suivi de thèse, et tu as effectivement répondu présent. Merci 1000 fois.

Merci à **Corinne Fresnoy**, qui a fait partie de mes comités de thèse mais qui m'a aussi suivie tout au long de mon parcours. Merci pour l'oreille attentive que tu m'as toujours tendue, aussi bien concernant mon travail, ou mon travail et son cadre humain, plus largement. Merci, du fond du cœur, pour tout le soutien que tu m'as apporté, merci de m'avoir rassurée quand je me posais mille questions et que je ne savais plus si j'avais travaillé assez et si ce que je

produisais relevait d'une bonne solidité scientifique. Merci de m'avoir prêté deux épaules supplémentaires sur lesquelles me reposer un peu.

### L'équipe

#### **À Guy**

Merci Guy d'avoir été, à la fois, un collègue, un ami, un quasi-psy. Merci pour tout le soutien que tu m'as toujours accordé, et pas seulement en lien avec les trichogrammes. Merci pour tous tes encouragements. Merci d'avoir sué toute ton eau avec moi pour mettre en place toutes les structures et le matériel nécessaire pour les expérimentations sous serres. On se souviendra de notre semaine de couture avec la machine à coudre de Paulette, pour joindre les énormes pans de mousseline les uns avec les autres. Merci pour les viennoiseries le matin afin de ramener un peu de convivialité dans nos journées, et de baume au cœur. Et enfin, merci pour les quatre accords toltèques : j'y travaille encore !!

#### **À Lydia**

Merci Lydia, je dirais même « Mimi » pour toute ta douceur et ton soutien. Merci pour ta bonne humeur et ton excellente répartie qui m'ont fait assister en direct à des échanges dignes de Raymond et Huguette, entre Guy et toi. Merci d'avoir été là pour moi dans des moments très délicats que la vie a mis sur mon chemin mais que tu m'as aidée à traverser avec plus de sérénité. Et quelle chance que tu ne sois pas partie à la retraite avant la fin de ma thèse !!!

#### **À Cécile Bresh**

Cécile, merci pour ton ouverture d'esprit, ta bienveillance et ta gentillesse à toute épreuve. Mais voilà que ces mots sont bien trop euphémiques à mon sens. Merci pour ta SAGESSE inspirante. Merci pour nos discussions scientifiques, nourries de questionnements, de bienveillance, d'humilité et surtout de « je fais de mon mieux » et c'est le plus important. Merci pour tous tes partages culturels : les livres, les concepts, les pratiques gastronomiques, sportives, touristiques. Merci d'avoir été une source d'apaisement et de sécurité, qu'importe les sujets abordés. Merci pour ta confiance et ta considération. Tu es une excellente ingénieure !! Et bien évidemment que tes réflexions scientifiques sont tout aussi intéressantes et légitimes que celles, de celles et ceux qui ont la qualification de chercheurs ou chercheuses. L'important c'est la passion qui est en nous, la curiosité qui nous fait avancer, l'envie de bien faire dans le respect des exigences scientifiques et surtout dans le respect des autres. Et tout cela, tu l'as. Alors continue de douter pour demeurer, mais pas trop non plus pour ne pas t'effacer.

#### **À Louise**

Louise, merci pour ta bonne humeur et ta douceur, pour ton humilité, qui m'ont encouragée à venir te voir dès que j'en avais besoin, sans appréhension. Tu es une chercheuse avec qui j'ai toujours apprécié échanger car je savais que tu allais être prête à recevoir mes opinions, mes points de vue, sans jugement et que nous allions en discuter en prenant le temps et le respect qu'il faut. Je suis ainsi toujours repartie de ton bureau enrichie et heureuse de progresser encore un petit peu grâce à tes conseils. Et puis merci aussi pour le grain de folie,

les apéros, et nos aventures en tant que « colleuses ». J'ai été contente de porter la cause féministe au sein de l'institut à tes côtés, à dessiner nos stickers, et à aller les faire imprimer au FabLab avec un peu, beaucoup d'huile de coude. Ils nous auront bien fait suer !

### **À Suzanne et à Valentina**

Merci pour votre bonne humeur à la croisée de nos chemins dans les couloirs ou à quelques arrêts bureau, ou même autour de quelques partages de gourmandises. Merci aussi Suzanne d'avoir toujours démontré une préoccupation quant à mes conditions de travail mais plus largement à celle de l'équipe. C'est agréable de pouvoir compter sur un tel soutien. Merci.

### Famill-ami·e·s

### **À ma douce, folle, drôle, aimante, attentionnée, piquante, forte, intelligente, perspicace Maman**

Maman, je veux remercier tes larmes. Je veux remercier tes larmes tristes, qui ont coulé comme des torrents quand je suis partie à l'autre bout du monde, au pays des kangourous pour mon stage de M1. Je veux remercier tes larmes qui ont coulé quand je suis partie à l'autre bout de la France, ici, pour mon stage de M2 et ma thèse que je soutiens devant toi aujourd'hui. Oui, je remercie ces larmes tristes qui m'ont toujours peint la profondeur de ton amour. Ensuite, je veux remercier les larmes joyeuses, celles que tu as versées dans le bureau de Mme Soudani, quand j'étais en classe de troisième, et que tu apprenais alors que j'étais première de l'école, malgré toutes les difficultés que nous traversions alors. Merci, pour celles que tu as versées le 7 juillet 2015 quand j'ai eu mon bac, celles que tu as versées devant mes bulletins, de joie toujours, et de fierté. Oui, je remercie tes larmes de joie, qui m'ont toujours noyée d'amour pour que je continue à faire de mon mieux, parce que ne pouvant t'offrir une autre vie, ne pouvant résoudre certains des problèmes que tu affrontais, je voyais que ma réussite t'offrait des instants de bonheur. Alors Maman, merci pour tout ton amour. Et Maman, merci d'avoir accueillie mes colères, mes joies, mes peines, pendant ces trois ans de thèse. Merci de m'avoir toujours si bien comprise et rassurée. Merci d'avoir, depuis le 11 Octobre 1997, tenu ma main, et merci de ne l'avoir jamais lâchée, pour me mener vers le meilleur de moi-même et de ce que je peux en faire. Merci de m'avoir répété, encore et encore, inlassablement, « bravo », « tu es capable », « tu vas y arriver ». Merci de n'avoir jamais jugé mes échecs. Merci de les avoir accueillis avec bienveillance et de m'avoir montré qu'ils n'étaient que la preuve de mes efforts, et qu'ils n'étaient que de belles leçons qui allaient me rendre plus forte. D'ailleurs le mot échec n'a jamais existé entre nous. Merci Maman de m'avoir fait rire aux larmes quand je pleurais de tristesse. Merci Maman d'avoir toujours accueilli les bras grands ouverts, mes émotions, et parfois même de les avoir partagées instantanément. Merci Maman pour toutes les valeurs que tu m'as inculquées, cette thèse aujourd'hui, elle est pour moi, mais comme je suis heureuse de la partager avec toi et de te la dédier du fond du cœur.

### **À ma Mamie**

Mamie, merci pour tout l'amour et la protection que tu m'as toujours apportés. Tu vois Mamie, il y a 16 ans, tu me disais avant de t'en aller au Portugal pour profiter de ta retraite, bien méritée, « Il faut que tu travailles bien à l'école pour faire ta place, pour te faire entendre,



ta voix et nos voix. Il faut que tu travailles bien pour toi d'abord, pour moi un peu et pour nous. Je t'aime beaucoup ma petite, tu es capable.» Tu vois Mamie, j'étais tout ouïe il y a 16 ans. Ces mots ont couru dans mon esprit chaque fois que le doute s'est emparé de moi. Et des moments comme ça, je peux en compter beaucoup. Mais je les ai traversés avec tes mots, toujours. Merci Mamie.

### **À mon Papa**

Papa, merci pour ton soutien, même quand tu n'étais plus là. Alors que pendant des années, j'ai ignoré ce que tu devenais, toi, tu savais comment je grandissais, comment l'école se passait. Tu as même réussi à avoir des copies de mes bulletins scolaires ! Tu me suivais de loin, tout près, moi, qui te pensais absent. Merci. Merci de faire à nouveau partie de mon existence aujourd'hui et de te montrer disponible pour partager des nouveaux moments avec moi et veiller sur moi.

### **À Cécile AKA mon écureuil**

Merci Cécile d'avoir été une oreille attentive, assise là sur ces marches, en 2017. Depuis, tout a changé. Je sais que j'aurai toujours quelqu'un sur qui compter. D'ailleurs cela a bien été le cas avant cette thèse, et pendant, et ça a plutôt intérêt à l'être après. A nous les plans de voyage ! Merci d'avoir suivi toutes mes aventures de près ou de loin, en direct ou en différé. Merci d'être venue me voir dans cette contrée du sud qui est bien loin d'être la nôtre. Merci pour ta bienveillance, ton empathie, ta générosité, ta loyauté, à toute épreuve. Merci p'tit écureuil de garder toujours quelques noisettes prêtes à être partagées. Merci pour nos fous rires, nos parties de tennis, nos larmes entre rires et pleurs, on le sait « ri-pleurer » c'est une base fondamentale chez nous. Cela me conduit donc à te remercier pour toute ta grande sensibilité qui fait que je peux me passer de bien des explications concernant mes états d'âme. MERCI MILLE FOIS !!

### **À Margaux**

Margaux, j'espère que tu en as la certitude, tu es et seras, jusqu'au stade déambulateur, condamnée à me supporter. Désolée. Margaux, merci d'avoir transformé mes années à l'Agro ! Merci d'avoir été mon meilleur binôme, merci de t'être confinée avec moi en stage de M2, merci d'avoir toujours été sincère au point que nous avons traversé des tempêtes. Mais ces tempêtes m'ont montré que notre amitié était, vraie. Merci pour la personne que tu es, les valeurs que tu portes, qui viennent rencontrer les miennes, qui me rassurent. Merci de tout le soutien que tu m'as toujours envoyé, dans les épreuves personnelles et professionnelles. Merci pour toutes les vidéos que tu m'as envoyées pendant mes derniers mois de thèse pour me faire prendre des pauses et rire. Oui parce que tu sais comment me faire rire. Tu sais quel sarcasme me dire pour que je me moque de moi-même, avec bienveillance, et donc que je ris, encore. Merci de m'avoir retrouvée après plus de deux ans, ce lundi 12 décembre 2022. MERCI.

### **À Géraldine, AKA Guérraldine, AKA GG**

Géraldine, tu étais une collègue, tu es devenue une amie. D'abord, merci pour toutes les connaissances que tu as partagées avec moi concernant les trichogrammes. Merci d'avoir répondu à mes vocaux, complètement aléatoires, dans lesquels je t'exposais mes

questionnements et mes réflexions scientifiques, et auxquels tu as toujours pris le temps de répondre, avec patience, implication, intérêt et bienveillance. Merci de t'être assise à côté de moi, au bureau, un samedi, alors que je collais les petits œufs d'*Ephestia* sur des calques pour mes arènes en double spirale. Merci également de m'avoir si bien comprise, humainement et scientifiquement. Merci d'avoir saisi en un battement de cils, les valeurs qui brûlent en moi. Merci de m'avoir permise de rencontrer Kika, de rencontrer Nico, de rencontrer une partie de moi que je craignais encore de montrer ou que du moins je taisais, un peu. J'ai pu, ainsi, prendre ma place, gagner confiance en moi, m'affirmer, et pour gérer un projet comme une thèse et d'autres projets à venir, il vaut mieux en être capable. Merci. Et toutes mes gratitudes pour ce qui nous reste encore à partager. Merci aussi pour toutes les occasions que tu m'as données de penser à autre chose : ballades, pâte fimo, raclette, lectures, mon corps et mon esprit apaisés et rassasiés !

### **À Laurent K, ou plutôt sergent**

Laurent, merci pour ta bonne humeur indémontable. Le sourire a toujours répondu présent sur ton visage, quelles que soient les imbécilités du quotidien... Merci également pour tous nos échanges de qualité, aussi bien scientifiques, ou plus largement humains. Merci aussi pour ton esprit critique aiguisé, qui m'a rassurée dans cet univers de la recherche, si particulier... Enfin, je ne te dis pas merci pour m'avoir fait sursauter en frappant trop fort à la porte de mon bureau ou en criant sans prévenir, sans aucune raison !! Merci aussi d'avoir créé un « où est Charlie ? » grandeur nature, à partir d'un simple ventilateur !! Je ne t'ai jamais dénoncé. Sauf ici finalement...

### **Au club rando, à Pierre, à Renaud**

Merci pour votre accueil au sein de ce club. Merci pour votre bonne humeur, pour votre sincérité, votre humilité. Merci pour ces bouffées d'oxygène qui m'ont permis de reprendre le quotidien de la thèse avec motivation. Renaud, je te remercie aussi pour toute l'attention que tu m'as toujours portée à côté de la photocopieuse ou entre deux couloirs. Tu ne te contentais pas de prendre des nouvelles de mon travail, tu prenais de mes nouvelles, et ça, c'est précieux. Merci. Merci d'avoir accueilli mes passions, la photographie, l'écriture, avec grand intérêt. Je n'oublierai jamais nos échanges engagés à ces sujets. Merci d'avoir été mon premier fan. J'espère qu'un jour je pourrai te dédicacer un livre de poésie, un livre de photos, voir même un livre alliant les deux, tu en as déjà les prémices.

### **À Gaëlle, à sa Maman aussi,**

Gaëlle, merci. Merci pour TOUT. Merci de m'avoir enseigné la physique-chimie avec autant de passion, de bienveillance, d'écoute, de bonne humeur, même quand Martin, qui était encore dans ton ventre te faisait perdre ton sang-froid... On se souviendra de cette fameuse règle volante dis ? Merci de m'avoir regardée un jour en me disant « Et bien, c'était un petit bonjour ça. Tout va bien ? » Je te répondais que oui alors que mon cœur criait non. Tu répondais « tu le sais mieux que moi, mais sache que tu peux venir me parler quand tu veux. » Merci, merci, merci, merci pour ces mots, salvateurs. Tu m'as donné du courage, des bras dans lesquels pleurer, un visage auquel sourire, vraiment, pleinement, des heures de cours que j'attendais avec impatience, parce que tes cours étaient juste géniaux. Qui d'autre pour expliquer le titrage

d'une solution avec du pain de mie et du jambon, qui ? Merci d'être, depuis, comme une marraine pour moi. Merci de t'émouvoir à l'annonce de chacun de mes petits pas réussis sur mon parcours de vie, personnel ou professionnel. Merci de t'être émue à l'annonce de ma première publication. Cette émotion m'a ainsi témoigné ta fierté et ton affection. Cette émotion a fait naître des larmes de joie chez moi. Merci. Si on m'avait dit, il y a 11 ans, alors que j'entrais en classe de seconde, que tu allais marquer ma vie et mon cœur comme ça, je n'y aurais pas cru. Et pourtant nous voilà, 11 ans après, un 11 Octobre. Et encore, merci à toi et à ta Maman pour m'avoir aidée à sonder mon cœur quand je devais choisir de faire cette thèse ou non. Merci de m'avoir fait comprendre qu'au fond, j'avais déjà pris ma décision mais qu'elle me faisait peur. Merci de m'avoir rassurée et m'avoir fait réaliser que j'avais les compétences pour embrasser un tel projet. Alors merci Gaëlle et merci à ta Maman, du fond du cœur. Et je rajoute ici, une seule phrase, merci d'avoir fait d'un de mes rêves, une réalité, en venant à ma soutenance de thèse. Je suis gaie comme un pinçon à cette idée !! Merci d'être pour moi une « professeure pour la vie », et bien plus encore. Je crois que dans le podcast de France Inter, un élève dit de son professeur qu'il a été une figure paternelle. Je suis convaincue que mon cœur ne viendra pas me donner tort si je m'autorise les derniers mots suivants, au-delà d'une professeure pour la vie, tu représentes pour moi, une figure maternelle, toi aussi.

### **À Mathias et à Morgane,**

Mathias, tu as été ma toute première expérience de management. J'espère sincèrement que tu as apprécié les six mois que tu as passés avec moi, au sein de l'équipe M2P2. Je te remercie pour tout ton investissement sur mes manip's et ton envie de bien faire, toujours. Merci d'être venu au labo tous les jours, enthousiaste et disponible pour travailler au mieux ensemble.

Morgane, merci pour l'énorme curiosité dont tu as fait preuve. Merci pour tous les échanges passionnés que nous avons eus, aussi bien concernant l'agronomie, qu'à propos de nos passions plus largement, de la photographie et de l'écriture notamment. Merci d'avoir lu mes textes avec autant de bienveillance et de cœur. Merci pour cette page recto verso que tu m'as offerte en fin de stage pour me remercier de l'encadrante que j'avais été pour toi. Tes mots résonnent encore et me rassurent. Je n'en reviens toujours pas d'être, pour toi, « une héroïne ».

Vraiment, un très, très grand merci à tous les deux. Sans vous, je n'aurais pas pu abattre la même quantité de travail. Je n'aurais pas passé autant d'heures dans les serres, tout en ayant le sourire, même desséchée. Merci pour la qualité de vos manuscrits. Je vous souhaite tout le meilleur pour les belles années qui vous attendent. Bravo à vous, vraiment, et encore, merci. Vous avez été, pour moi, pas seulement des petites mains, mais de vrais collaborateurs, vous avez été d'abord deux êtres humains, motivés et intéressés par un sujet que j'ai couvé pendant trois ans. Et vous, à vous deux, vous m'avez accompagnée pendant UN TIERS de ma gestation !!!! INCROYABLE !

### **À Anaïs, ma cousine, ma cousine-sœur**

Anaïs, merci vraiment pour toute la fierté que tu m'as toujours donnée avec tant d'amour. Merci de m'avoir soutenue quand la tristesse me gagnait. Merci d'avoir crié avec moi. Merci d'avoir ri avec moi quand les jours n'étaient que Soleil. Merci d'avoir imité les accents marseillais, québécois, bourgeois, les plus moyens, certes, mais très drôles, pour me faire rire

jusqu'à en avoir mal au ventre quand mes jours se faisaient gris. Merci d'avoir toujours su lire en moi mes qualités comme mes défauts et de m'avoir aidée à les sublimer ou les améliorer. Merci d'avoir entretenu les plus belles questions philosophiques avec moi, pendant plusieurs heures au téléphone pour me remotiver et surtout me rappeler les valeurs que je porte et que tant de fois j'ai remis en question pendant ces trois ans. Merci de tout mon cœur pour tout ton amour, inconditionnel.

### **À Florence, Flo AKA Michelle**

Ma Florence, ma chère Michelle, que dire, par où commencer ???? MERCI de m'avoir offert des premiers mois de thèse d'une intensité que je ne saurais nommer. Merci d'avoir eu la patience de discuter de la naissance de mes protocoles avec moi. Merci d'avoir fait les pauses les plus drôles avec moi. Merci d'avoir ri et pleuré de rire souvent avec moi. Merci pour la musique techno et la naissance de la playlist « Une pierre deux souches » qui nous a clairement électrisées et revigorées pour tenir nos journées de travail. Merci pour l'épisode du tiroir hanté, pour le café parfumé. Merci d'exister encore dans cette folle aventure. Portons fièrement les couleurs d'Agrocampus Ouest Rennes, aujourd'hui dit Institut Agro, bien avant dit l'ENSAR.

### **À Silène**

Silène, merci pour ton oreille attentive, ta bienveillance et ta bonne humeur. Merci pour le réconfor-thé, et le réconfort au goût de loukoums. Merci pour les partages d'anecdotes drôles ou moins drôles mais drôles quand même A POSTERIORI. Et merci de m'avoir si bien comprise au sujet de mes ressentis, de mes positions dans le domaine de l'encadrement et de la recherche. Une force pour avancer encore un peu plus loin.

### **À Nathalie**

Merci ! Merci pour la licorne (déjà elle a vraiment de l'allure, en plus elle fait office de crayon et d'anti-stress !), merci pour ton mariage avec *Deepl* (un fidèle compagnon de route), merci pour le raccourci claver Emoji (Incroyable, un outil plein de magie avec lequel on peut disséminer licornes, paillettes, arc-en-ciel, dans ce monde d'échange de mails en noir et blanc) merci pour ton empathie, ta bonne humeur, ton manque de patience, ta bienveillance, ton côté Maman prêt à ressortir à la moindre menace 😊. Et surtout, surtout, merci pour ta franchise, ton regard critique mais juste de la recherche. Et puis de façon plus pragmatique, merci pour la gestion incroyablement efficace des ordres de mission, des remboursements et tout le toutim qui va avec !

### **À Elodie**

Merci beaucoup Elodie pour ta bonne humeur et ton humour de qualité ! Je regretterai nos pauses café/cantine que nous avons eu temps de mal à caser dans nos emplois du temps ! L'avantage c'est qu'au moins c'était un vrai événement quand on y parvenait !! Merci aussi pour ta sensibilité et l'importance que tu donnes à l'humain dans le domaine du travail. Ça m'a fait beaucoup de bien de me sentir comprise sans avoir à argumenter de ce qui me semblait pourtant naturel et qui m'a tant souvent manqué dans le quotidien au travail. Mais heureusement, nos blagues étaient toujours prêtes pour en rire et ne pas en pleurer ou rire après avoir pleuré dans mon cas ! Alors encore une fois, merci Elodie !

## **À Catherine**

Catherine, merci pour ton énergie débordante (j'espère faire preuve de la même tout au long de ma carrière !), pour ta bonne humeur et tes autres humeurs fracassantes qui n'ont été, à mes yeux, que les preuves de tout l'investissement que tu t'échines à mettre dans tout ce que tu fais au sein de l'institut. Merci aussi pour le soucis que tu m'as toujours témoigné. Et plus largement, pour ta considération pour les doctorant·e·s de notre institut. Merci d'être passée à mon bureau juste pour prendre des nouvelles et vérifier que j'allais bien et que je n'avais besoin de rien. Merci pour les citrons tout droit sortis de ton jardin pour me remonter le moral. Je me suis dit qu'ils étaient les bienvenus et qu'ils me faisaient penser à cette phrase que j'ai entendue un jour « Parfois la vie se résume à prendre les citrons les plus amers et à en faire quelque chose qui ressemble à de la limonade ». Je ne dis pas que tes citrons étaient amers, loin de là, mais si tu lis ces quelques lignes, tu te souviendras de ce moment amer et tu sauras. Merci à la meilleure des administratrices et bien au-delà ! Je ne compte plus le nombre de casquettes que tu parviens à faire tenir sur ta tête.

## **À Gaëlle et Fred**

Waaaouh !! Un très très grand merci pour m'avoir offert des paires d'oreilles attentives, des mouchoirs, du café, de l'affection, de la bienveillance, du soutien, des invitations à la fête, de la bonne humeur, de la sensibilité, de l'empathie, des rires aussi parce qu'on n'oublie jamais de rire finalement ! Ici ce ne sont que des mots, mais c'est promis, je les ai pesés et franchement on est sur un beau cachalot !! Vraiment merci, c'est génial de vous avoir et je suis bien heureuse que vous puissiez, avec toutes ces qualités, faire vivre la passion pour la recherche dans le cœur de celles et ceux qui ont croisé et qui croiseront votre chemin ! Quel chanceux ce Dries alors !

## **À Salomé**

Salomé, merci de m'avoir motivée, il y a un peu plus de trois ans maintenant à faire cette thèse. Merci de m'avoir dit que j'étais capable et que l'aventure allait en valoir la peine. Merci d'avoir été attentive à mon rythme de travail, d'avoir pris soin de ma santé mentale ! Merci de m'avoir rassurée sur le fait que j'avais le droit d'arrêter de travailler une fois rentrée à la maison. Merci de m'avoir boudée quand je répondais à des mails à des heures beaucoup trop tardives ou, quand même en vacances, je restais aussi disponible qu'en présentiel. Merci de m'avoir fait prendre des vacances aussi, on a pu manger des pastéis de nata et découvrir les décorations de Noël incroyables et les flammekueches inimitables d'Alsace ! Merci d'avoir été là dans les bons comme dans les mauvais moments. Merci de m'avoir écoutée en boucle réciter mon texte pour ma Thèse en 180s ! Et merci d'être encore prête à me soutenir, jusqu'au bout !

## **À Dries AKA Dr Drrrrrrriiiii**

Mon cher Dries, par où commencer ! Merci le hasard d'abord ? Le hasard qui a fait que tu étais encore en thèse quand je commençais la mienne ? Je suis très heureuse d'avoir croisé ton chemin. Tu es un spécimen rare. Merci pour toute ta gentillesse, ta bienveillance, ta sagesse (franchement digne de maître Yoda), ta bonne humeur, ton savoir être, ton goût pour ce que la vie a à offrir. Merci pour tes conseils concernant la thèse. Merci pour ta précieuse amitié surtout,

pour nos sorties, nos repas d'œnologues en herbe, nos soirées Seigneur des Anneaux avec burgers maison, nos soirées avec tes délicieuses pizzas maison, nos sortie vélo pour se retrouver devant le grand écran d'Antibes. Merci pour notre bivouac incroyable dans la vallée des Merveilles, des souvenirs inoubliables qui se sont écrits pour n'être jamais oubliés (sauf si un cas de vieillesse valétudinaire se déclarait un jour, mais j'espère bien que non !). Merci aussi pour ta philosophie et ton appréciation de la littérature que nous avons pu partager. D'ailleurs « Même les anges » de Christèle Wurmser, propriété d'un certain Dries Amezian, est toujours dans ma bibliothèque. Merci pour ce prêt de longue durée et ce conseil lecture de qualité. Je l'ai lu deux fois. Une fois quand mon cœur était en un morceau, une autre fois alors qu'il venait d'éclater en mille petits bouts. Dans les deux cas, je me suis retrouvée entre ces pages, ces lignes, pleines de poésie, ça c'est le signe d'un livre de qualité. Il a été la source de quelques bouffées d'oxygène au milieu des tumultes de la thèse et au-delà. Finalement Dries, merci pour ce que tu es. J'espère que tu ne changeras jamais, si ce n'est pour devenir encore meilleur, mais je ne me fais pas trop de soucis !!!

### **À Fanny**

Merci Fanny pour avoir croisé mon chemin il y a trois ans, un soir d'été, entre deux phrases sur le Petit Prince. Nous comprenions alors, dans nos silences plein de mots, que notre rencontre faisait partie de ce genre d'épisodes rares. Depuis, les moments partagés ne peuvent se compter qu'au nombre de quelques-uns. Mais leur qualité n'a pas de prix. Merci pour ta grande ouverture d'esprit, merci pour ta sensibilité toujours à son paroxysme. Merci pour toute ta bienveillance et ton soutien. Merci de me voir. C'est un privilège. Merci d'être une personne sur qui je peux compter sans en douter ne serait-ce qu'un court instant.

### **À Marine**

Marine AKA Sweetie Pie, merci d'avoir amenée un peu de vie dans mon bureau pour ma dernière année de thèse. Merci d'avoir été un public excellent, prêt à réagir à toutes mes blagues, même les plus nulles. Merci d'avoir fait preuve des mêmes « désordres » mentaux, des mêmes valeurs qui m'avaient bien manquées (la loyauté, l'humilité, le respect du bien-être, la bienveillance dans le monde du travail, la lutte contre le passif-agressif à outrance et j'en passe ! D'ailleurs j'espère que tu te souviens que si la clim' ne fonctionne pas « c'est parce qu'il faut appuyer sur le bouton on », Mais non, sans blague ?!!!). Merci d'avoir dessiné des chatons avec moi AKA la thérapie qualité premium pour répondre aux inepties, aux angoisses, aux colères, aux tristesses, bref, à tout sentiment qui noircit un peu le tableau (parce que trop de noir ça finit par faire tache). Merci d'avoir chanté la Socca Dance tous les matins dans les quatre derniers mois pour garder le moral au beau fixe et la motivation à toute épreuve. Merci pour ta compatibilité avec mes horaires de repas et mon humeur qui peut devenir borderline si la faim est trop grande : on adore manger à 11h50 et à 18h (et vive l'abonnement au 32, dommage qu'ils ne fassent pas une carte annuelle), un point c'est tout. Merci d'avoir relu mon introduction de thèse et d'avoir pris le temps de me faire tes retours. Merci pour toutes les petites gourmandises venues de tous tes lieux de conférence. Et puis évidemment, merci pour tout le soutien du cœur brisé. M2C2, la sous-équipe d'M2P2, toujours au taquet !! Je ne serai plus là

pour tes deux autres années à venir, mais compte sur moi pour la maîtrise des outils ZOOM, Skype, Facetime, pigeons voyageurs, bouteilles à la mer (d'accord je pousse, là la communication risque d'être noyée... Oh le mauvais jeu de mots !!). Je serai là pour te féliciter ou bien être ton Sullivan quand tu auras tes épisodes « Bob Razowski » ! Comme la hâte est grande de te voir soutenir en 2025 !!! D'ici là, n'oublie pas d'entretenir le « cahier d'or » (Hauts les cœurs, les majorettes, les castagnettes et autres objets « cirque compatible » !). La blague est vaste mais on rit beaucoup finalement. Et surtout n'oublions pas de remercier Antoine. Et Marine, n'oublie jamais, si tu ne sais pas, « ça n'est pas grave », et tu peux te permettre une attitude « très plouc » avec un grand peigne jaune. Et je veux finir par ça : s'il te plaît si certains jours tu doutes de toi à cause de tout ce que tu pourrais entendre, rappelle-toi moi qui te crie : Tu gères la fougère Marinette !!! Tu es douée, tu n'as pas atterri là par hasard (même si on en connaît qui adore la stochasticité), GO GO GO et chante Mufasa et Georges Alain !!

### **À Guénola Perez AKA la reine des vers de terre**

Guénola, merci pour toute la bienveillance et la passion que tu as insufflées dans chacun de tes cours, de tes commentaires, des sorties terrain que nous avons eu la chance de partager avec toi, la team Agroecology et moi. Tu m'as confortée dans mon choix de spécialité : plus les semaines passaient et plus je savais que cette spé était la meilleure (oui, on peut dire que cela manque un peu d'objectivité, mais quand même c'est un peu vrai, beaucoup). Merci pour tous tes retours constructifs que tu as toujours su amener avec respect et humilité. Merci de m'avoir fait découvrir les rois du sol AKA les vers de terre. Je n'oublie pas leurs rôles et qui sait, après avoir passé trois ans à m'intéresser à de la poussière volante, je reviendrai peut-être à la terre. Merci aussi pour les larmes que tu as versées lors de ma soutenance de M2. J n'oublierai pas ce moment très fort en émotions et qui me rend heureuse d'être ingénieure agronome. Je n'ai pas oublié les derniers mots que tu m'as dits : « s'il te plaît Mélina, même si tu fais une thèse, n'oublie jamais l'ingénieure agro que tu es ». J'ai tout fait pour ne jamais l'oublier. Et je crois que c'est tellement acquis et évident, que je ne l'oublierai jamais. D'ailleurs, j'envisage de retrouver la richesse des échanges avec les actrices et les acteurs plus proches du terrain pour la suite de ma carrière professionnelle, c'est plutôt pas mal de garder un pied dans la botte !

# Table des matières

<b>CHAPITRE I : Introduction générale.....</b>	<b>5</b>
I- L'agronomie, au cœur des enjeux environnementaux et sociétaux, rétrospectives et actualités.....	7
II- La lutte biologique.....	11
III- Les trichogrammes .....	19
IV- La dispersion, son intérêt pour la lutte biologique .....	25
V- Objectifs et plan de thèse.....	36
<b>CHAPITRE II : Approche classique, étude de la longévité et de la fécondité de 17 souches de <i>Trichogramma cacoeciae</i> .....</b>	<b>51</b>
<b>Chapitre III : Estimer la dispersion, du laboratoire aux serres .....</b>	<b>77</b>
I- Une caractérisation de proxys de la dispersion à micro-échelle.....	80
II- Une caractérisation de la dispersion des trichogrammes dans une arène en double spirale .....	112
III- Caractérisation de la dispersion des trichogrammes en serres .....	161
<b>Annexes du chapitre III</b> .....	<b>196</b>
<b>Chapitre IV :.....</b>	<b>205</b>
<b>Choix des variables à transférer et réalisation du transfert d'échelle .....</b>	<b>205</b>
I- Détermination de la variable à transférer pour l'étude du mouvement des trichogrammes à petite échelle.....	208
II- Détermination de la variable à transférer pour l'étude de la dispersion des trichogrammes à moyenne échelle.....	210
III- Détermination de la variable à transférer pour l'étude de la dispersion des trichogrammes à grande échelle.....	213
IV- Transfert d'échelle : étude de l'association entre les variables sélectionnées à chaque échelle	216
<b>Chapitre V : .....</b>	<b>229</b>
<b>Discussion et perspectives générales .....</b>	<b>229</b>
I- Discussion générale.....	231
II- Perspectives générales.....	239
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>253</b>
<b>hors articles.....</b>	<b>253</b>





**[Le temps d'un sonnet]**

*Incipit*

*Allons, que dites-vous de voyager ensemble ?*

*J'ai une expédition à vous proposer*

*Du labo aux plants, dans la terre bien plantés.*

*Construire et traverser un pont sans qu'il ne tremble.*

*Un équipement est nécessaire il me semble*

*Je saisis l'occasion de vous le donner*

*Boussole avec carte pour nous orienter*

*Ainsi faire que les pas du chemin s'assemblent*

*Je commencerai donc par dessiner la carte*

*Une introduction, des mots tels qu'ils s'épartent*

*Formant une mer sur laquelle, le bateau*

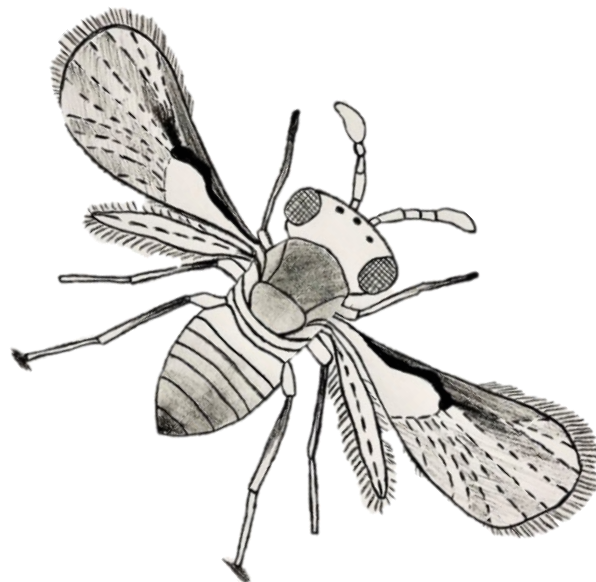
*Navigue, bien accompagné de sa boussole*

*Atteignant le plan de la croisière bientôt*

*La trame qui le conduira, sa lignerole*



# CHAPITRE I : Introduction générale





## I- L'agronomie, au cœur des enjeux environnementaux et sociétaux, rétrospectives et actualités

Je voudrais commencer mon propos en me permettant de reprendre les mots prononcés par un paysan lançonnais, et soigneusement retranscrits par Alain Kalt en 2017 : « Le sol est le théâtre d'activités et d'interactions croisées multiples, soyons humbles face à cette complexité et ce génie du vivant en employant des méthodes respectueuses de l'environnement. Connaître le milieu avant de le gérer nous procurera les clefs du sol, base d'une alimentation saine. » (Kalt, 2017). Ce manuscrit ne sera pas l'expression de la pièce de théâtre qui se joue sous nos pieds, mais sera le miroir de l'air qui, lui aussi, peut, il me semble, être considéré comme le théâtre d'activités et d'interactions croisées multiples. Je proposerai une approche humble mais néanmoins novatrice pour mieux connaître certaines des scènes et certains des actes qui s'y jouent, dans l'espoir de motiver, encore, le déploiement de méthodes de protection des cultures de plus en plus efficaces, respectueuses de l'environnement. Alors, avant donc que de penser, d'interpréter, de juger, replongeons ensemble dans quelques fragments d'histoire, briques de l'agriculture et de l'agronomie que nous connaissons aujourd'hui, afin d'en comprendre les tenants et les aboutissants.

### I.1 L'agriculture intensive, une réponse efficace aux besoins historiques

Pendant des décennies, surtout depuis la Seconde Guerre mondiale, l'agriculture a été basée sur le réductionnisme (van Lenteren *et al.*, 2018). Il consiste à expliquer des faits complexes par une de leurs composantes qui suffirait à rendre compte des autres (Lyons et Lawrence, 1999). En effet, il fallait atteindre des rendements élevés en peu de temps : c'était alors la course à la rentabilité. Ce changement dans l'agriculture a notamment vu le jour avec la « Révolution verte », dont l'un des points de départ fut la création du International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT) en 1942 par Raymond B. Fosdick, sur recommandation du vice-président des USA, Henry A. Wallace pour répondre notamment aux problèmes nutritionnels du Mexique, en s'appuyant sur la sélection variétale (Genevois, 1972). Cette méthode semble être assez efficace et fait partie d'un ensemble de bouleversements plus larges. En effet, en plus des changements techniques, l'augmentation des connaissances scientifiques ainsi que la croissance démographique et urbaine sont au cœur d'une révolution agricole intense, bouleversant un système ayant évolué jusqu'alors plutôt lentement. Elle est différenciée selon les territoires et les filières et très liée à l'essor de l'industrie et du commerce (Vanderpooten, 2001). Un changement technique majeur dans l'agriculture européenne est

ainsi l'abandon de la jachère, remplacée par des cultures de fourrages et de légumineuses, ce qui permet de diminuer les besoins en terres cultivables, au regard des besoins alimentaires à satisfaire (Griffon, 2014). Les changements concernent aussi de nombreux autres domaines : outillage (charrues, faux...), chaulage et engrais (Tilman *et al.*, 2002), drainage et irrigation, sélection du cheptel, nouvelles cultures et rotations, mécanisation puis motorisation. L'ensemble de ces transformations a abouti à un système agricole dit intensif (Butet *et al.*, 2004). En France, par exemple, l'efficacité de cette grande transformation agricole peut se constater avec les chiffres suivants : en 1950, la France comptait 8 millions d'agriculteurs qui ne parvenaient pas à nourrir 40 millions d'habitants, soit environ 5 bouches à nourrir par agriculteur. Au début des années 2000, la France compte dix fois moins d'agriculteurs qui parviennent à nourrir pour chacun d'entre eux, environ 100 personnes (Parmentier, 2014). Et depuis 1950, le nombre d'exploitations agricoles a chuté de 65 %, mais la productivité a, quant à elle, été multipliée par quatre sur la même période. C'est ici le résultat d'exploitations qui deviennent plus grandes, plus performantes, tout en nécessitant moins de main d'œuvre (Bonnamour *et al.*, 1969).

C'est ainsi que l'agriculture intensive a permis de nourrir une population augmentant sans précédent après la Seconde Guerre mondiale. Cela a donc activement participé à la reconstruction économique de la France et à son essor (Lasbleiz, 2015). Mais ces performances sans précédents ne sont pas sans coût (Robinson et Sutherland, 2002). Ces effets qui sont restés méconnus pendant longtemps sont mis sur le devant de la scène dans le Printemps silencieux de Rachel Carson en 1962 (Carson, 1962). En effet, au fil du temps, l'agriculture dite conventionnelle, tant sollicitée dans les années 1980, est également apparue comme une source d'impacts négatifs. Reposant sur la monoculture, la mécanisation et l'emploi d'énergies fossiles et d'intrants chimiques, elle a effectivement engendré la réduction du nombre d'espèces et de variétés cultivées, et a simplifié considérablement les paysages agricoles de la planète (Malézieux *et al.*, 2022). Elle a aussi participé à l'augmentation de l'effet de serre en émettant des gaz à effet de serre via le labour, les pertes d'engrais azotés engendrant une eutrophisation anthropique (Cordell *et al.*, 2009), la destruction du bocage, ou encore la digestion des bovins (Bianchi *et al.*, 2006 ; Griffon, 2014). De plus, les terres qui présentaient les plus grands rendements à l'hectare sont aussi celles qui tendent à saturer leur espace de production et leur potentiel d'augmentation de rendement, et cela alors que la population mondiale ne cesse de croître. Par conséquent, l'Homme a pendant très longtemps fait simple, en produisant beaucoup avec beaucoup. Mais désormais les systèmes de production simplifiés à l'extrême et très

énergivores atteignent leurs limites de durabilité, à tel point qu'ils sont considérés comme l'une des premières causes du dépassement des « limites planétaires » (Campbell *et al.*, 2017): aujourd'hui, nous devons réussir à produire plus avec moins, moins d'eau, moins d'énergie, moins de chimie etc... (Parmentier, 2014). Ces constats alarmants ont conduit à placer au centre des préoccupations l'usage des pesticides et leur compatibilité avec le développement durable lors du Grenelle de l'environnement en 2007 (Boy, 2010). À la suite de l'ensemble des réflexions menées au cours des ateliers de ce Grenelle, la France a adopté en 2008 le plan Ecophyto, puis Ecophyto II et Ecophyto II+ en 2018 dont le principal objectif est de réduire l'usage des produits phytopharmaceutiques de 50% d'ici 2025 (Jeanneaux, 2014).

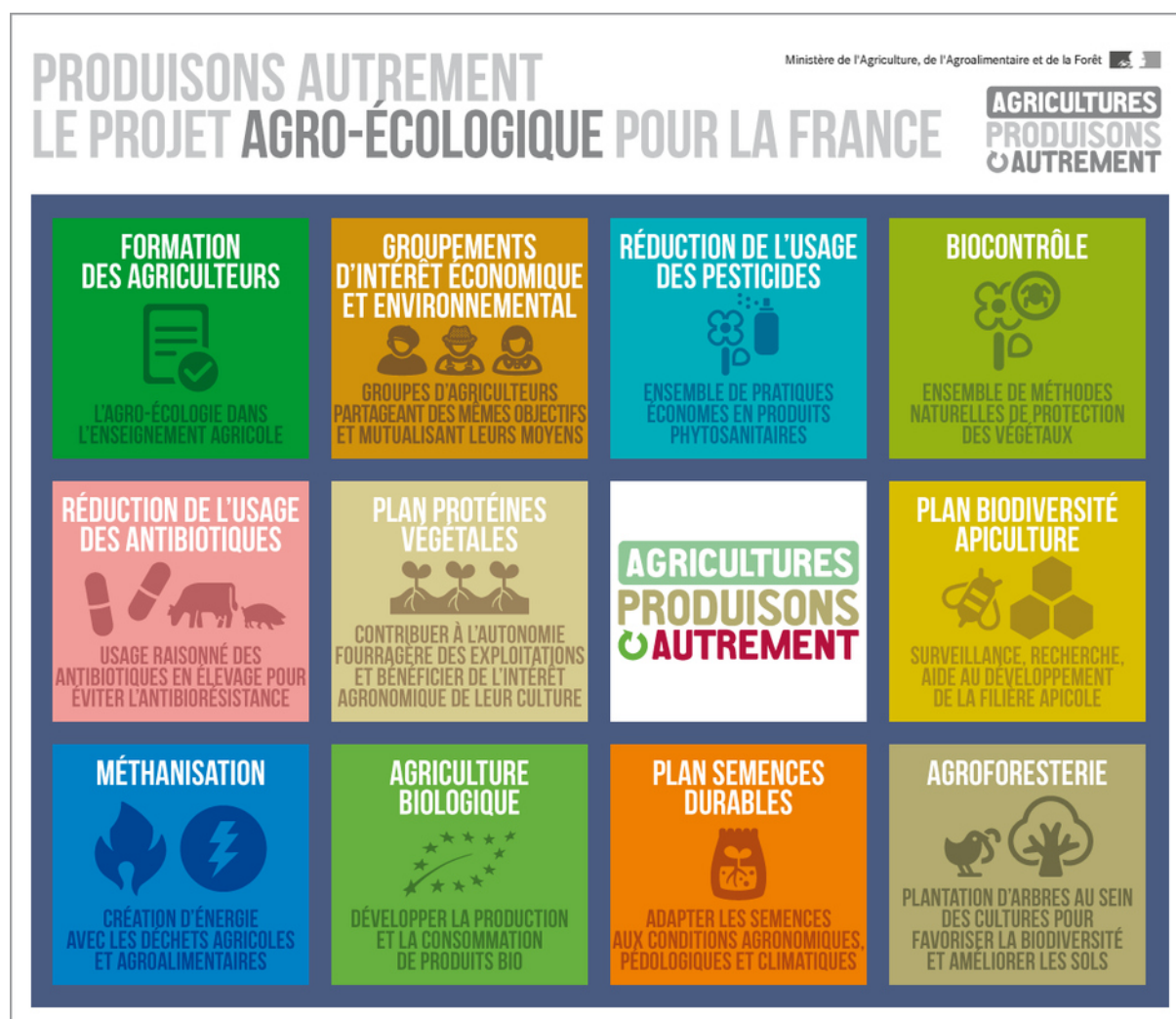
## I.2 Cheminer vers un système agricole durable, la voie de l'agroécologie

C'est pourquoi, depuis plusieurs décennies, la durabilité est devenue l'un des principaux objectifs de l'agronomie (Jeuffroy, 2014). Mais cet objectif doit être compatible avec la productivité nécessaire pour parvenir à nourrir le Monde. Alors comment concilier performance productive et performance environnementale ? Deux solutions ont émergé : l'agriculture de précision et l'agroécologie (Huyghe, 2020). La première se base sur l'apport d'intrants au plus proche des besoins des plantes et des animaux et relève également de l'adaptation des interventions en fonction des contraintes des parcelles et de leur hétérogénéité (topographie, compaction etc...). Même si cette forme d'agriculture permet une meilleure gestion des intrants et des parcelles selon leurs caractéristiques physico-chimiques, elle reste insuffisante car elle demeure basée, tout comme l'agriculture conventionnelle, sur une économie d'échelle c'est-à-dire parvenir à faire baisser le coût moyen de production d'un produit ou service via l'augmentation des quantités produites (Mauguet, 2021). Cela a pour conséquence une spécialisation des exploitations et des territoires, un processus ayant été à l'origine des dégâts et des limites auxquels nous sommes actuellement confrontés.

L'agroécologie peut être considérée comme l'étude intégrée de l'approvisionnement alimentaire dans son ensemble, y compris ses dimensions écologiques, économiques et sociales, ou plus simplement comme "l'écologie des systèmes alimentaires" (Francis *et al.*, 2003). Elle propose un modèle bien différent, basé sur l'exploitation des services écosystémiques i.e. les biens et les services provenant des écosystèmes dont les Hommes peuvent bénéficier directement ou indirectement pour assurer leur bien-être (Sirami *et al.*, 2016). Une telle exploitation implique de considérer les parcelles cultivées comme des communautés biologiques où s'exercent des régulations naturelles comme le contrôle des bio agresseurs. En



effet, les agroécosystèmes sont des écosystèmes modifiés par l'Homme, mais qui demeurent sujets à des mécanismes biologiques généraux, identiques à ceux régissant les écosystèmes naturels et dont dépend leur durabilité (Calame, 2016). L'agroécologie est d'autant plus intéressante qu'elle est susceptible de ne pas être confrontée aux mêmes problèmes que l'agriculture de précision précédemment citée. En effet, envisager une agriculture agroécologique, ce n'est pas seulement changer les pratiques agricoles, c'est aussi repenser l'ensemble du système économique (Duru, 2021). L'agroécologie, pour bien fonctionner, doit être basée sur un système de chaînes de valorisation plus courtes, avec de plus petites antennes, c'est-à-dire revenir à de vraies coopératives et non plus des coopératives si grandes que certaines d'entre elles sont maintenant des multinationales (Chouin, 2019). C'est bien avec la promesse d'un bouleversement en profondeur de l'entièreté du système que l'agroécologie représente une solution prometteuse pour les enjeux mondiaux, et qu'elle peut permettre d'échapper aux limites du modèle actuel. Le modèle agroécologique est maintenant largement soutenu en France. En effet, en 2012, le gouvernement lance le projet « projet agroécologique pour la France », une initiative portée par Stéphane Le Foll, ministre de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, de 2012 à 2017 (Compagnone *et al.*, 2018). Ce projet propose une nouvelle façon de penser notre système agricole de sorte que ce dernier soit triplement performant : productivement, environnementalement et socialement (Remongin, 2016). Afin d'y parvenir ce projet s'axe autour de différentes stratégies ambitieuses récapitulées en Fig.1. Depuis, l'agroécologie colore les discours politiques dans le domaine de l'agriculture et de l'environnement.



**Figure 1.** Schéma récapitulatif des stratégies du projet agro-écologique pour la France, proposé par le ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt

## II- La lutte biologique

### II.1 Contexte et définitions

Emprunter la direction de l'agroécologie, voire, s'y inscrire pleinement, peut notamment se faire par l'élaboration de stratégies de lutte biologique (Fauvergue *et al.*, 2020). Harry Scott Smith, entomologiste américain, la définit comme "l'utilisation d'ennemis naturels (qu'ils soient introduits ou manipulés d'une autre manière) pour lutter contre les insectes nuisibles (Smith, 1996)". La lutte biologique est incluse dans la notion de biocontrôle. En effet, ce dernier relève de l'ensemble des méthodes de protection des cultures basées sur l'utilisation de mécanismes naturels (Deguine, 2023). Il existe trois types de lutte biologique :

- Par introduction, aussi appelée lutte biologique classique (introduction d'un ennemi naturel d'origine exotique) (Obrycki *et al.*, 1997). Elle consiste en l'introduction intentionnelle d'un ennemi naturel d'origine exotique dans un milieu touché par la colonisation d'un ravageur. L'objectif final étant qu'il s'y établisse de façon permanente assurant ainsi une régulation pérenne, on parle alors d'acclimatation (Eilenberg *et al.*, 2001).
- Par augmentation via des lâchers récurrents d'ennemis naturels, aussi qualifiés d'inondatifs lorsque les auxiliaires sont lâchés en grandes quantités (Van Driesche *et al.*, 2008). Dans ces cas, ces derniers sont produits avec des élevages de masse.
- Par conservation : l'ensemble des méthodes favorisant l'action des ennemis naturels déjà présents dans le système. Cela se fait par la mise en œuvre de différentes stratégies pour soutenir les populations d'ennemis naturels présents dans l'agroécosystème et favoriser leur efficacité en tant que prédateurs, parasitoïdes ou pathogènes (Begg *et al.*, 2017). Les ennemis naturels répondent positivement à différentes stratégies de conservation telles que : la diversification végétale, la réduction de l'intensité culturale (Garratt *et al.*, 2011), ou la complexité du paysage (Chaplin-Kramer *et al.*, 2011).

Utiliser la lutte biologique, et plus largement le biocontrôle comme une alternative efficace aux pesticides chimiques est aujourd'hui un véritable objectif et non plus une hypothèse qu'il est encore nécessaire d'éprouver. En effet, le biocontrôle est de plus en plus reconnu en France depuis une dizaine d'années (Villemaine *et al.*, 2021). Il est officiellement mentionné oralement en 2011, par le député Antoine Herth, comme une solution d'intérêt et constitutive d'un moteur prometteur pour parvenir à remplir les objectifs des plans Ecophyto (Aulagnier et Goulet, 2017). Les produits de biocontrôle sont d'ailleurs reconnus comme catégorie officielle de produits phytopharmaceutiques soumis à autorisation de mise sur le marché dans l'article L253-6 du Code rural et de la pêche maritime, adopté le 13 octobre 2014 (Service public, 2014), et qui les définissent ainsi: « Le plan prévoit des mesures tendant au développement des produits de biocontrôle, qui sont des agents et produits utilisant des mécanismes naturels dans le cadre de la lutte intégrée contre les ennemis des cultures . Ils comprennent en particulier : les macro-organismes et les produits phytopharmaceutiques comprenant des micro-organismes, des médiateurs chimiques comme les phéromones et les kairomones et des substances naturelles d'origine végétale, animale ou minérale. ». Depuis cette

reconnaissance officielle, le plan Ecophyto s'est vu évoluer vers le plan Ecophyto II et Ecophyto II+, dans lesquels une section est consacrée au biocontrôle. Ce dernier s'articule en effet autour de quatre priorités : « Diminuer rapidement l'utilisation des substances les plus préoccupantes pour la santé et l'environnement ; Mieux connaître les impacts pour mieux informer, protéger la population et les professionnels et préserver l'environnement ; Amplifier la recherche-développement d'alternatives et la mise en œuvre de ces solutions par les agriculteurs ; Renforcer le Plan Ecophyto II, améliorer sa gouvernance et son fonctionnement » (Jeanneaux, 2014). La troisième priorité comporte une sous partie intitulée « Soutenir le développement du biocontrôle ».

Nous constatons donc que le biocontrôle et de façon inhérente, la lutte biologique, est bel et bien intégré aux politiques agricoles et environnementales actuelles. Mais historiquement, la lutte biologique, d'où vient-elle ?

## II.2 Eléments historiques et perspectives économiques

Historiquement, le premier cas de lutte biologique moderne correspond à l'importation du coléoptère prédateur *Rodolia cardinalis* (Mulsant) et de la mouche parasite *Chryptochaetum iceryae* (Williston) d'Océanie (Australie et Nouvelle-Zélande) pour contrôler la cochenille des coussinets, *Icerya purchasi* Maskall en Californie, dans les cultures d'orangers, en 1888, sur l'idée de l'entomologiste Charles Valentine Riley (L E Caltagirone et Doult, 2003). Elle est devenue un exemple emblématique et très médiatisé du succès qui peut être obtenu grâce à la lutte biologique classique (Heimpel et Mills, 2017). Néanmoins, la toute première introduction d'un ennemi naturel exotique ayant pour objectif la protection des cultures est celle de l'oiseau mynah en provenance d'Inde pour contrôler le criquet rouge dans les cultures de canne à sucre sur l'île Maurice en 1762 (Legner, 2008). Un exemple plus ancien (il y a 3000 ans en Chine) existe sans que celui-ci ne relève de l'introduction d'un ennemi exotique, c'est le déplacement volontaire de nids de fourmis localisés dans les montagnes, vers les citronniers des vergers pour les protéger des ravageurs (Olkowski et Zhang, 1998). D'autres exemples de lutte biologique encore plus anciens existent, mais sans lien direct avec l'agronomie, comme la domestication des chats pour lutter contre les rongeurs dans l'Égypte Antique (4000 Avant l'Ere Commune) (Kučera *et al.*, 2018).

Les stratégies de lutte biologique sont maintenant utilisées intensivement dans le monde entier, tant dans les serres qu'en plein champ (Stiling et Cornelissen, 2005 ; van den Bosch, 1975). Depuis les années 1990 et jusqu'en 2010, 6158 introductions, utilisant 2384 agents de

lutte biologique différents contre 588 espèces de ravageurs dans 148 pays ont été recensées (Cock *et al.*, 2016). Parmi les introductions, 2007 (soit 32,6 % d'entre elles) ont conduit à l'établissement des agents de lutte biologique constituant ainsi des acclimations réussies, et 620 (10,1 %) ont abouti à un contrôle satisfaisant contre 172 (29,3 %) espèces nuisibles différentes (Cock *et al.*, 2016). Ces chiffres montrent que la lutte biologique peut s'avérer très efficace mais que les résultats demeurent néanmoins variables. Il est donc nécessaire de fournir un effort de recherche constant pour assurer son succès. Et lorsque cette stratégie s'avère efficace, une question légitime demeure néanmoins posée par les agriculteurs : les résultats obtenus sont-ils à la hauteur des efforts et de l'argent dépensés ? Il est difficile de donner un bilan juste des coûts et des avantages économiques obtenus en lutte biologique, en France, en Europe ou ailleurs dans le Monde. Mais, sur des dizaines d'exemples de bilans de solutions de lutte biologique qui ont été déployées, tous aboutissent à la même conclusion : la lutte biologique peut représenter des retours sur investissement élevés, comme illustré avec les exemples qui suivent. Dans les années 50, le contrôle d'*Aspidiotus destructor*, dans la petite île portugaise de Principe, par la coccinelle *Cryptognatha nodiceps*, sur le coprah, a conduit à un retour sur investissement de 1800%. Plus largement, le Commonwealth Institute of Biological Control, sur une période de 39 ans, de 1928 à 1967, a investi une moyenne annuelle de 170 000 livres, ce qui ne représente qu'un tiers du coût minimum estimé pour le développement d'un seul nouvel insecticide (Simmonds, 1967). De plus, en France, en 2015, 500 000 ha de maïs ont été traités le plus souvent par lâchers inondatifs, contre au moins un insecte ravageur. Sur 25% de ces surfaces protégées, soit 120 000 ha, la solution préférée par les agriculteurs est le biocontrôle de la pyrale (*Ostrinia nubilalis*) par lâchers inondatifs de trichogrammes (*Trichogramma brassicae*). Une efficacité équivalente à la protection chimique avec un prix compétitif a été obtenue (Thibierge, 2015). Ces exemples, parmi d'autres que compte encore la littérature, nous montrent bien que la lutte biologique, quand les solutions proposées ont été bien développées et que le produit est abouti, peut s'avérer tout aussi efficace et compétitive que l'utilisation des pesticides.

La lutte biologique semble donc suffisamment efficace, rentable et cohérente avec les défis que doit relever l'agriculture pour nourrir le Monde demain. Mais quels sont donc les organismes les plus utilisés en lutte biologique ?

### II.3 Les auxiliaires les plus utilisés en lutte biologique

Naturellement, il existe une grande richesse spécifique d'ennemis naturels, spécialistes ou généralistes, associés à différentes cultures ou ravageurs. Je vous propose ici quelques

exemples. Au Maroc, une centaine d'espèces a été identifiée, associée aux vergers d'agrumes (Smaili *et al.*, 2013). Neuf ennemis naturels différents ont été identifiés dans le cortège d'ennemis naturels de *Tuta absoluta* dans la région de Mostaganem en Algérie (Boualem *et al.*, 2012). Dans la moyenne vallée du Rhône, les espèces des ennemis naturels des Aphides du pêcher ont été recensées. Au total, c'est quasiment une vingtaine d'espèces qui ont été identifiées. Parmi elles, six espèces prédatrices, trois espèces de Chamaemyiidae et sept espèces de coccinelles (Remaudière et Leclant, 1971).

Ces quelques exemples suffisent à constater qu'il est possible de compter dans l'écosystème naturel, ou bien dans des agroécosystèmes, une quantité importante d'ennemis naturels différents ayant la même cible. Mais parmi ces cortèges, seule une petite partie est finalement concernée par de la production de masse dans l'objectif de développer des stratégies de lutte biologique, notamment par introduction ou augmentation.

Actuellement, quatre groupes d'organismes sont utilisés en lutte biologique : les microorganismes, les nématodes, les prédateurs et les parasitoïdes. Les microorganismes regroupent les bactéries, les champignons et les virus. La bactérie *Bacillus thuringiensis* est le bioinsecticide le plus utilisé au monde notamment contre les chenilles défoliatrices de lépidoptères défoliateurs (Lacey, 2007). Le champignon ascomycète *Trichoderma* représente 90% des agents de lutte biologique de type fongique utilisés (Sood *et al.*, 2020). Les nématodes sont des vers ronds non segmentés et allongés. Ils sont incolores, dépourvus d'appendices et généralement microscopiques. Certains d'entre eux peuvent parasiter des insectes pour se développer et se reproduire. Ils constituent ainsi des auxiliaires de lutte biologique intéressants (Chitra *et al.*, 2017). Les prédateurs, quant à eux, se nourrissent de leurs proies vivantes, c'est le cas par exemple des coccinelles aphidiphages (Hawkes, 1920). En France, la coccinelle indigène européenne *Adalia bipunctata* est très largement utilisée pour lutter contre les pucerons. En effet, elle peut manger jusqu'à 90 pucerons à l'état adulte par jour, et 150 à l'état larvaire (Marchand, 2020). Enfin, les parasitoïdes, eux, sont des organismes qui se développent sur ou à l'intérieur d'un hôte. Le résultat direct ou indirect de ce parasitisme est la mort de l'hôte (Eggleton et Belshaw, 1992). Ce mode de vie parasitoïde est présent au sein de différents ordres d'insectes : Hyménoptère, Coléoptère, Diptère, Neuroptère, Lépidoptère et Trichoptère. Aujourd'hui, la première place du podium de la lutte biologique est occupée par les trichogrammes utilisés comme parasitoïdes. En 2018, en France, la protection d'environ 120 000 hectares de maïs a été assurée par des lâchers inondatifs de trichogrammes (Marchand, 2020), représentant ainsi presque 1 million d'hectares en Europe (Meissle *et al.*, 2010) et 32

millions d'hectares dans le monde répartis sur une trentaine de pays (Ivezić *et al.*, 2022 ; van Lenteren, 2000). Cette utilisation massive s'explique notamment par leur facilité d'élevage sur des hôtes alternatifs tels qu'*Ephesia kuehniella*, et leur large distribution géographique (Naïbo et Druesne, 2008). Aussi, la gamme d'hôtes des trichogrammes est très large puisqu'elle comprend de nombreux lépidoptères, diptères, hémiptères et coléoptères. Ils peuvent, par exemple, attaquer plus de 200 espèces de lépidoptères (Knutson, 1998). Ils sont commercialisés par plusieurs sociétés et sont les agents les plus utilisés contre certains ravageurs tels que la pyrale du maïs (Varley *et al.*, 1994).

Prenons donc maintenant un temps pour nous intéresser à ces parasitoïdes oophages que sont les trichogrammes et sur lesquels mon travail a porté, du fait de leur grand intérêt dans le domaine de la lutte biologique.





[Le temps d'un sonnet]

*Dames Trichogrammes*

*Plongeons dans la classe bien vaste des Insectes.*

*Nageons alors dans l'ordre des Hyménoptères.*

*Levons la tête, ne restons pas l'œil à terre,*

*Saluons cette belle famille ou bien secte,*

*Les Trichogrammatidae, dans le dialecte.*

*Cessons l'apnée et prenons une bouffée d'air,*

*Avec les trichogrammes, les guêpes guerrières.*

*Elles tuent leurs hôtes d'un coup d'œuf fort correct.*

*Oui, leur apparente petitesse est trompeuse.*

*Lilliputiennes, elles sont ravageuses.*

*Les nuisibles, elles n'en font qu'une bouchée.*

*En biocontrôle, elles sont de grandes stars.*

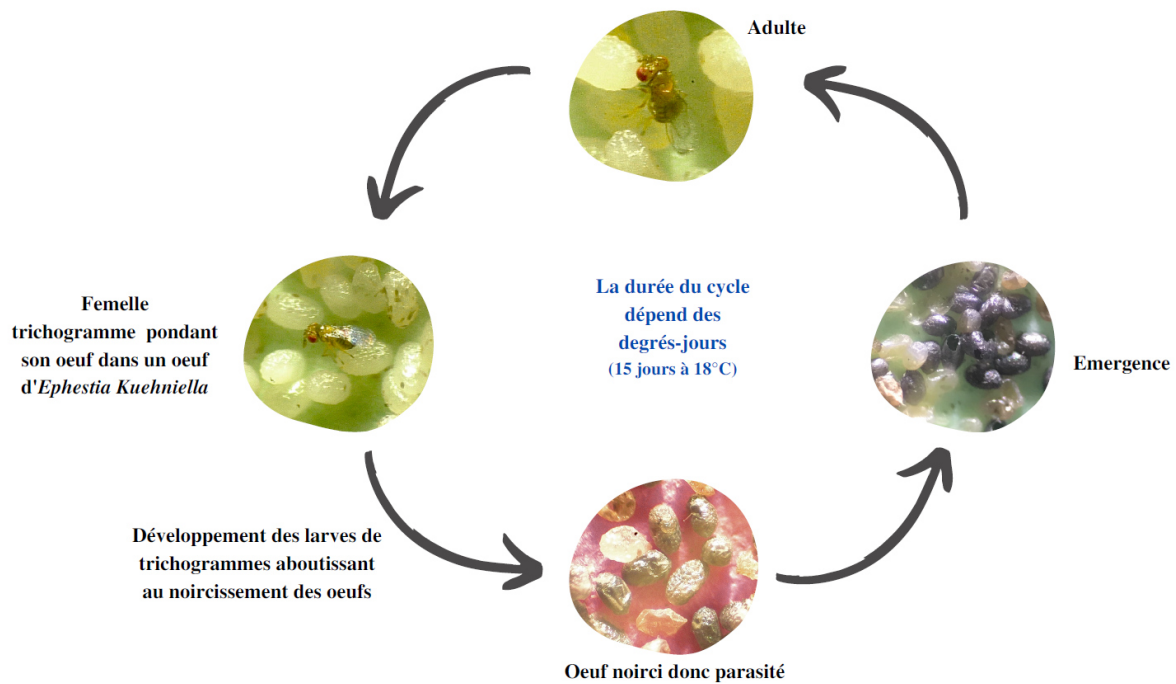
*Grâce à elles, les pesticides sont jetés.*

*Ainsi, dans les champs, propre et vert est l'étendard.*

### III- Les trichogrammes

#### III-1 Cycle biologique et reproduction

Comme vous l'a annoncé le précédent sonnet, les trichogrammes sont des micro-hyménoptères, mesurant moins d'1 mm et appartenant à la famille des Trichogrammatidae (Hawlitzky, 1982). Actuellement 280 espèces, toutes appartenant au genre *Trichogramma* ont été recensées (Pintureau, 2012). Les trichogrammes sont des parasitoïdes oophages : les femelles pondent leurs œufs (stade œuf) dans les œufs de l'insecte-hôte dont l'embryon est ainsi tué (Fig.2). Il existe des limites de taille supérieures et inférieures pour les hôtes de ces parasitoïdes, (Strand *et al.*, 1988), et lorsque la taille de l'hôte permet le développement, elle a aussi un effet majeur sur plusieurs paramètres de fitness (Boivin et Lagace, 1999 ; Roitberg *et al.*, 2001). Les œufs parasités deviennent noirs après quelques jours, en conséquence de la sécrétion par la larve de trichogramme, d'une substance visqueuse qui est appliquée contre la membrane vitelline de l'œuf de l'hôte, qui durcit et noircit, ce qui permet de les distinguer des œufs sains. Les tissus de l'hôte désintégrés ainsi que le vitellus servent de nourriture à la larve (2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> stades) de trichogramme. Son développement est ainsi assuré jusqu'à la métamorphose, transformation en nymphe, puis en "imago" (adulte). Finalement, cet imago quitte l'œuf et mène une vie libre, d'une durée moyenne de 15 jours à 18°C, consacrée à l'accouplement pour les mâles et pour les femelles, à la recherche d'hôtes (Colombel *et al.*, 2020). La durée de vie moyenne des trichogrammes varie selon les espèces et la température : majoritairement marquée par une diminution lorsque la température augmente (Ayvaz *et al.*, 2008 ; Schöller et Prozell, 2002). En ce qui concerne *Trichogramma cacoeciae*, la durée de vie des femelles est en moyenne de 21 jours à 20°C, 15 jours à 25°C et de 10 jours à 30°C (Özder et Kara, 2010). L'adulte peut se nourrir de substances sucrées (miellat de puceron par exemple) ou riches en protéines (pollen de fleur) (Hawlitzky 1982) jusqu'à trouver un hôte pour assurer la transmission de sa descendance en ce qui concerne les femelles. Avant de pondre, les femelles examinent la surface de l'hôte en marchant sur l'œuf et en le tapotant grâce à leurs antennes (Salt et Gray, 1997 ; Schmidt et Smith, 1989). Si l'hôte est accepté, la femelle commence à pondre. Le comportement de ponte peut se décomposer en quatre étapes : (i) arrêt avec la tête levée, l'abdomen déprimé, les antennes au niveau de la tête et l'ovipositeur positionné perpendiculairement à la surface du chorion ; (ii) le forage ; (iii) l'ovipositeur pénètre le chorion. Cette pénétration est suivie de mouvements rythmiques de l'abdomen pour aboutir à (iv) l'oviposition (Wajnberg et Hassan, 1994).



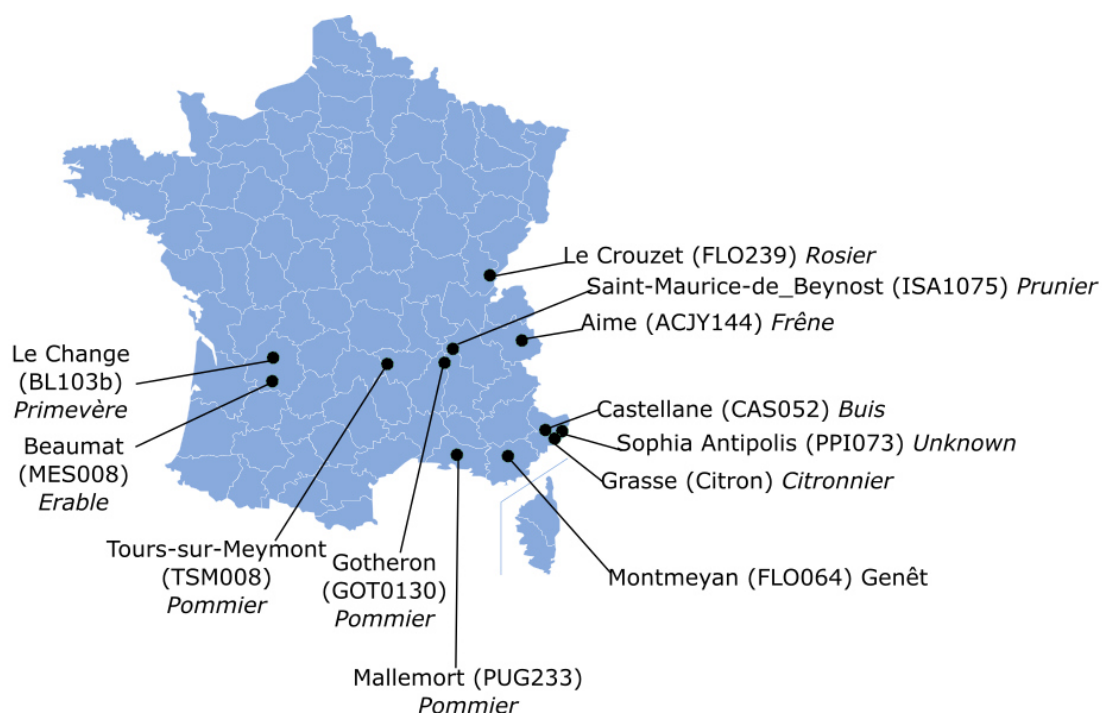
**Figure 2.** Cycle biologique chez *Trichogramma sp.* Allant de l'oviposition de la femelle jusqu'au stade imago (adulte). L'hôte illustré ici est l'hôte de substitution *Ephestia kuehniella* (Mélina COINTE ©)

Il existe deux modes de reproduction chez le genre *Trichogramma*, selon l'espèce ou la population considérée (Cònsoli *et al.*, 2010). Le premier mode de reproduction est la parthénogenèse arrhénotoque (pour les espèces haplodiploïdes) : les mâles proviennent d'œufs non fécondés et sont donc haploïdes. Les femelles non accouplées ne produisent que des mâles haploïdes, et les femelles accouplées influencent fortement le sex-ratio de leur progéniture, en contrôlant la fertilisation des ovocytes (Suzuki *et al.*, 1984), produisant généralement une majorité de femelles diploïdes. Le second mode est la parthénogenèse thélytoque : les femelles diploïdes produisent d'autres femelles ayant le même génome (clones). C'est le cas, par exemple, de *T.cacoeciae* sur laquelle j'ai travaillé. Il existe également *T.cordubensis* et *T.oleae* (Zhou *et al.*, 2019a). Mais ces dernières ne présentent pas la même thélytoquie que *T.cacoeciae*. En effet, certaines populations d'arrhénotoques sont infectées de façon permanente par la bactérie *Wolbachia*, ce qui entraîne la reproduction thélytoque (Cook et Butcher, 1999). Il existe un dimorphisme sexuel chez *Trichogramma sp.* : les antennes des mâles sont coiffées de longues soies, tandis que celles des femelles sont renflées avec des soies courtes (Querino *et al.*, 2010 ; Russo et Pintureau, 1981). Les mâles émergent généralement peu avant les femelles et attendent que celles-ci sortent de leurs œufs afin de les féconder (Pompanon *et al.*, 1995).

La durée de vie moyenne des trichogrammes varie selon les espèces et la température : majoritairement marquée par une diminution lorsque la température augmente (Ayvaz *et al.*, 2008 ; Schöller et Prozell, 2002). En ce qui concerne *Trichogramma cacoeciae*, la durée de vie des femelles est en moyenne de 21 jours à 20°C, 15 jours à 25°C et de 10 jours à 30°C (Özder et Kara, 2010).

### III.2 Cas d'étude : *Trichogramma cacoeciae*, pourquoi ?

Dans le monde, il y a actuellement 5 espèces de trichogrammes majoritairement utilisées. Celles-ci sont les suivantes : *T.evanescens*, *T.dendrolimi*, *T.pretiosum*, *T.brassicae* (anciennement *T.maidis*) et *T.nubilale*. Cette liste peut se voir rallongée à une dizaine d'espèces et ainsi compter *T.cacoeciae* (Smith, 1996). Le fait que *T.cacoeciae* fasse partie des dix premières espèces les plus utilisées dans le monde fut une première motivation pour justifier notre choix d'espèce modèle. Ensuite, il est important de noter que cette espèce est naturellement très présente dans le Sud Est de la France (Sumer *et al.*, 2009). Elle est donc facile à échantillonner et endémique, ce qui simplifie ses conditions d'élevage et d'utilisation en laboratoire et au champ (Sigsgaard, 2005). Par conséquent, il se trouve que de nombreuses souches de cette dernière sont entretenues au sein du Centre de Ressources Biologiques Epi-Coll (CRB Epi-Coll), à Sophia Antipolis (Marchand *et al.*, 2022). Or, dans le but de mener à bien nos expériences pour lesquelles nous visions un nombre initial s'élevant à une vingtaine de souches, cela ajoutait un motif supplémentaire pour diriger notre choix vers cette espèce. Enfin, au sein du CRB Epi-Coll, nous disposions également de nombreuses lignées isofemelles de l'espèce sexuée *T.evanescens*. Mais, étant donné notre objectif de se placer d'abord dans le cadre d'une preuve de concept et voulant éprouver au mieux l'ensemble de nos objectifs d'étude, nous avons décidé dans un souci de faisabilité de privilégier *T.cacoeciae* qui par sa reproduction thélytoque nous permettait de nous défaire de la nécessité de sexer les individus. A la suite de ce choix, j'ai donc sélectionné parmi le catalogue de souches de *T.cacoeciae* du CRB Epi-Coll, 23 souches. J'ai croisé deux critères de sélection principaux : la localisation géographique des souches telle qu'elle soit la plus diversifiée et que les souches puissent supporter au mieux la chaleur pour les expériences sous serres envisagées. La localisation géographique des différentes souches étudiées, ainsi que les plantes sur lesquelles elles ont été échantillonnées sont disponibles en Figure 3. Sur ces 23 souches, je n'ai conservé que 17 d'entre elles car certaines n'avaient pas une fécondité suffisamment grande pour tenir dans un élevage de masse.



PJ; PMBIO1; TCMz; TCVigne; ISA1067 (*Genêt*): France

**Figure 3.** Carte de France indiquant la distribution géographique des différentes souches de *T.cacoeciae* utilisées dans le cadre de ma thèse. Les souches figurant en bas à gauche de la carte sont les souches pour lesquelles la localisation géographique précise demeure non renseignée dans les références CRB Epi-Coll.

### III.3 La sélection des trichogrammes en lutte biologique

Pour réussir un programme de lutte biologique, il est indispensable de s'assurer que les espèces de trichogrammes les plus appropriées et les plus efficaces sont sélectionnées (Losey et Calvin, 1995). Ainsi, le développement de méthodes de criblage est nécessaire pour pouvoir sélectionner davantage d'espèces potentielles de trichogrammes efficaces. En effet, même en Chine qui est actuellement un leader mondial dans les programmes de contrôle biologique basés sur les trichogrammes, seulement cinq espèces ont été utilisées contre les ravageurs (Zang *et al.*, 2021). Historiquement, la sélection des trichogrammes s'est d'abord portée sur leur capacité à effectuer une diapause. En effet, cela a permis le déploiement d'élevages de masse (Hawlitzky, 1982). Désormais, cette sélection se base principalement sur des expériences de laboratoire, qui sont la plupart du temps menées pour évaluer les caractéristiques suivantes : la capacité de l'espèce à parasiter et à se développer dans l'œuf hôte cible, l'attractivité de l'espèce pour un œuf hôte sélectionné, la mortalité totale des œufs causée par le parasitisme et la longévité des femelles (Lundgren, Heimpel 2003; Cascone et al. 2015 ; Knutson 1998;

van Lenteren 1986). La comparaison et les conclusions entre deux espèces potentielles de trichogrammes comme agent de lutte biologique sont souvent faites sur le parasitisme seulement, même dans des études récentes (Wang *et al.*, 2019). Ces critères sont bien connus et les plus couramment utilisés mais ne sont pas toujours adaptés pour sélectionner avec confiance les meilleurs agents de lutte biologique (Gariépy *et al.*, 2015). Un autre critère existe mais est moins étudié malgré son importance reconnue (Pak, 2003).

**[Le temps d'un sonnet]**

***Immersion dans la dispersion***

*On dit de vous, chères femelles trichogrammes,  
Que plus vous pondrez et plus vous vivez, mieux c'est.  
Qu'en est-il de votre façon de bouger ?  
Vos succès n'en viennent-ils pas aussi mesdames ?*

*La dispersion se doit d'être dans vos gammes,  
Etant bien équivoque, il faut le souligner,  
Une définition se fait désirer.  
En voilà une proposition comme trame.*

*Habilement vous vous propagez dans l'espace,  
Laisant possiblement derrière quelques traces,  
De reproduction ou de flux génétique.*

*Nous voilà bien munis d'une base solide,  
Pour appréhender vos beaux mouvements rythmiques,  
Vous faisant vraies poules pondeuses, et bolides.*

## IV- La dispersion, son intérêt pour la lutte biologique

### IV.1 Enjeux et définitions

Vous l'aurez certainement compris, cet autre critère de sélection existant mais au demeurant moins expressément utilisé est la dispersion. Pour les insectes comme les trichogrammes, la recherche d'un hôte et le parasitisme sont les principales activités du stade adulte, alors que le développement pré-imaginal se produit entièrement dans les œufs hôtes parasités, et n'implique donc aucun mouvement. Les mouvements de recherche d'hôtes et la dispersion sont donc intimement liés, et aussi directement liés aux performances de suppression des parasites, c'est-à-dire à la valeur appliquée en termes de lutte biologique (van Lenteren, 1986).

Malgré son importance incontestée, la dispersion reste un terme ambigu (Pielou, 1981 ; Ronce, 2007). Les définitions les plus simples font référence à l'augmentation de la distance entre les individus d'un groupe ou d'une population (Asplen, 2018 ; Begon *et al.*, 1986 ; Southwood, 1962), tandis que d'autres sont plus restrictives et se réfèrent à l'installation et à la reproduction, excluant les formes de mouvements liées à la recherche de nourriture ou aux migrations saisonnières (Goossens *et al.*, 2020). Parfois une distinction est faite entre deux formes de dispersion : la dispersion natale et la dispersion adulte. La dispersion natale est le premier déplacement d'un organisme de son site de naissance vers le site dans lequel il tente de se reproduire, pour la première fois (Goossens *et al.*, 2020 ; Lewis *et al.*, 2013 ; Petrovskii et Morozov, 2009). La dispersion adulte consiste à changer de lieu dans l'espace après avoir atteint la maturité reproductive, ce qui implique généralement le déplacement d'une parcelle d'habitat à une autre (Croteau, 2010).

Nous aborderons ici les deux types de définitions : la propagation spatiale des individus (dispersion sensu lato), qui peut, mais sans nécessité, entraîner des conséquences sur la reproduction et le flux génétique (dispersion sensu stricto).

Maintenant que le terme est proprement défini, reprenons notre propos quant à la place de la dispersion dans le contexte de la lutte biologique. Elle est souvent mentionnée comme un élément clé pour un contrôle biologique efficace avec les trichogrammes (Hawlitzky 1982; van Lenteren 1986; Hegazi et al. 2012a ; Cronin, Reeve 2005a; Van Driesche, Hoddle, Center 2008; Ruan Carlos M. Oliveira et al. 2020 ; Heimpel, Mills 2017) et aussi un élément clé en écologie et évolution, plus largement. En effet, les habitats et les ressources sont éphémères dans le temps et l'espace. La dispersion fournit un mécanisme permettant de suivre les



changements des conditions environnementales, que ce soit sur quelques centimètres ou sur des centaines de kilomètres (Roderick et Caldwell, 1992). La dispersion peut résulter de la détérioration de l'habitat, par exemple à cause des conditions physiques, de l'épuisement des ressources, de la compétition pour les partenaires, ou d'une combinaison de ces facteurs (Macdonald et Johnson, 2001). La dispersion est souvent déclenchée par des facteurs tels que la densité de population ou la disponibilité de la nourriture (Danthanarayana, 1986). Arrêtons-nous sur ce dernier point. En effet, dans le cadre de la lutte biologique avec les trichogrammes, la recherche de d'hôte coïncide directement avec la potentialité d'aboutir ou non à un contrôle satisfaisant du niveau d'infestation des cultures. D'ailleurs, parmi les caractéristiques qui font la qualité d'un agent de lutte biologique, il y a la grande capacité de recherche d'hôtes (Hassan *et al.*, 2018 ; Makee, 2005 ; Schöller et Prozell, 2002). Cette qualité de recherche d'hôte est directement liée à une grande capacité de dispersion, (Murdoch *et al.*, 1985 ; Vandermeer, 1995) permettant d'assurer une bonne couverture de la zone à traiter (Corbett et Rosenheim, 1996), mais d'amoindrir la charge de travail associée via la diminution du nombre de points de lâcher (Ponce *et al.*, 2022 ; Wang et Shipp, 2004).

En dépit de son importance, la dispersion des espèces de trichogrammes, même pour les plus utilisées est encore mal connue (Ivezić *et al.*, 2021). En effet, la sélection sur la capacité à disperser ne se fait que sur des souches préalablement sélectionnées sur d'autres traits, comme la longévité, la fécondité ou l'acceptation de l'hôte (Myint *et al.*, 2022).

Au-delà de la notion d'efficacité, l'étude de la dispersion est indispensable dans l'évaluation des risques liés à la pratique des lâchers inondatifs. Les trichogrammes lâchés se retrouvent-ils facilement hors des parcelles d'intérêt ? (Babendreier *et al.*, 2003 ; Cónsoli et Parra, 1995) Prenons pour exemple les risques environnementaux associés à *T. brassicae*, ayant été classée parmi les espèces à haut risque, en raison de sa large gamme d'hôtes, de sa capacité à passer l'hiver, de son potentiel d'établissement, et de sa compétitivité dans les expériences de laboratoire et de terrain (Babendreier *et al.*, 2003b). Malgré ce classement, il a été conclu que les effets non intentionnels associés à cette espèce sont relativement faibles (Babendreier *et al.*, 2003) : les guêpes se dispersent à peine dans la zone environnante et l'efficacité de la recherche d'hôtes dans les habitats non ciblés est faible, en raison de la complexité structurelle de la végétation (Kuske *et al.* 2003 ; Lynch *et al.* 2001). Il est important de constater ici, que c'est bien sur un critère de dispersion que la conclusion quant aux risques relatifs aux lâchers de *T. brassicae* a été émise. Ainsi, elle est bien un élément indispensable aussi bien pour évaluer l'efficacité des trichogrammes que le potentiel danger qu'ils peuvent représenter.

Enfin, la dispersion mérite d'autant plus d'attention puisqu'elle est soumise à l'influence de différents facteurs biotiques, tels que la disponibilité en nourriture, la densité de population (Danthanarayana, 1986), mais aussi l'état morphologique ou physiologique des individus eux-mêmes (Clobert et al. 2009a ; Bonte et al. 2008), ou d'autres facteurs environnementaux : température, humidité et pluie, photopériode, position du soleil, pression atmosphérique, et phénomènes météorologiques (Keller, 1987 ; Osborne *et al.*, 2002). Ainsi, il est intéressant, sachant que la dispersion est un point clé de l'efficacité des trichogrammes, mais qu'elle est aussi influencée par de nombreux facteurs, de s'intéresser à ces derniers afin de mettre en place des plans expérimentaux qui en tiennent compte. Je vous propose donc dans la partie qui suit, de découvrir une grande partie de ces facteurs, ainsi que les possibles façons dont ces derniers impactent nombre des proxies ou mesures indirectes de la dispersion. Avoir de telles idées en tête nous permettra de prendre plus aisément de la distance par rapport aux résultats qui seront ultérieurement présentés et aussi de mieux apprécier certains choix expérimentaux.

## IV.2 La dispersion chez les trichogrammes et les effets de facteurs biotiques et abiotiques

### *IV.2.1 Les facteurs abiotiques*

#### **La température**

Commençons par rappeler que les trichogrammes, en tant qu'insectes, sont des organismes poïkilothermes, c'est-à-dire que leur température corporelle est soumise à des variations plus ou moins importantes, directement liées aux variations thermiques de leur environnement (Bligh et Johnson, 1973). Cette caractéristique fait de la température une des variables climatiques ayant le plus d'effet sur la biologie des insectes (Firake et Khan, 2014), affectant notamment pour les parasitoïdes oophages tels que les trichogrammes, leur abondance, leur distribution et leurs capacités parasitaires (Bourchier et Smith, 1996). Par conséquent, plusieurs variables liées aux derniers points mentionnés ont été étudiées sur les trichogrammes comme la période de développement et l'émergence des adultes (Foerster et Foerster, 2009), la mortalité (Park *et al.*, 2000), ou la longévité et la fécondité (Chihrane *et al.*, 1993). Il ne s'agit là que de quelques exemples qui illustrent le fait que les recherches sont plus généralement concentrées sur des traits d'histoire de vie n'ayant pas de lien direct avec la dispersion. En effet, il est possible de trouver sur Google Scholar plus de quarante articles avec l'équation de recherche suivante : "allintitle : Trichogramma temperature development" alors qu'avec celle-ci : "allintitle : Trichogramma temperature activity", on trouve six articles, dont un seul est lié à des variables pouvant rendre compte de l'évaluation du potentiel de dispersion.

Dans ce dernier, les effets de la température sur la vitesse de marche et l'activité de marche de *Trichogramma brassicae* sont étudiés (Suverkropp *et al.*, 2001). Les auteurs ont mis en évidence que la vitesse de marche augmentait linéairement avec la température pour des valeurs comprises entre 12 et 25°C, étant deux fois plus importante à 25 qu'à 12°C. L'activité de marche, c'est-à-dire le pourcentage de temps passé par les individus à être en mouvement, semblait être plutôt faible en dessous de 20°C. Par conséquent, pour *Trichogramma brassicae*, la dispersion et la zone de recherche seront plus importantes à des températures supérieures à 25°C.

En utilisant d'autres termes pour trouver des articles liés à la dispersion, il est possible d'ajouter cinq autres articles relatifs au vol ou à la marche. La propension au vol de *Trichogramma minutum* est significativement affectée par la température. A 25°C et 30°C, entre 70-80% des parasitoïdes volent effectivement, alors qu'à 15°C, une absence de vols a été observée (Forsse *et al.*, 1992). La distance parcourue par *Trichogramma evanescens* et *Trichogramma minutum* augmente significativement avec la température de 20 à 35°C (Boldt, 1974). La même tendance est obtenue pour *Trichogramma minutum*, *T. evanescens*, *T. semifumatum* sur leur taux de recherche. Ce dernier augmente jusqu'à 40°C, puis commence à diminuer pour des températures supérieures (Biever, 1972). Des températures minimales ont également été identifiées comme nécessaires pour le début de l'activité et donc pour le début de la dispersion : par exemple, le seuil moyen auquel la marche se déclenche pour *Trichogramma turkestanica* est de 10°C (Hansen, 2000).

Le constat qui vient d'être établi quant aux effets de la température sur des proxys liés à la dispersion des trichogrammes nous permet de comprendre que des variations de ce facteur pourraient affecter les résultats obtenus pour une même expérience mais aussi entre les expériences. Il convient de garder en tête cette information dans l'établissement des choix expérimentaux et dans l'interprétation des résultats obtenus.

## **Le vent**

L'effet du vent est souvent rapporté sur la dispersion finale des trichogrammes, c'est-à-dire sur la distance parcourue. Il a été démontré que le vent a un impact sur la dispersion de *Trichogramma semifumatum* dans des parcelles de coton : les individus lâchés à l'intérieur du couvert végétal se sont dispersés de façon plus homogène que les individus lâchés au-dessus du couvert végétal, qui ont été déportés par le vent (Hendricks, 1967). De même, dans une expérience d'un an, la dispersion de *Trichogramma brassicae* a été significativement impactée par les vents : elle était plus faible dans les secteurs au vent alors que dans les secteurs sous le

vent, aucune diminution significative des taux de parasitisme n'a été observée en augmentant la distance du point de lâcher (Greatti et Zandigiacomo, 1995). La dispersion sous le vent a également été observée sur *Trichogramma minutum*, dans une plantation d'épicéas blancs : les trichogrammes peuvent aussi être poussés par le vent de sorte que leur rayon moyen de dispersion est augmenté (Zhou *et al.*, 2019b).

En conséquence, dans un contexte expérimental en plein champ, le vent peut représenter un véritable biais dans les mesures recueillies. Si d'un lâcher à l'autre, les conditions météorologiques relatives au vent sont très différentes alors il sera impératif de le prendre en compte. Dans le cadre des expériences que j'ai menées, nous avons pu nous affranchir de ce facteur puisque les lâchés ont été effectués en conditions environnementales contrôlées sous serres.

### **L'humidité**

Une humidité supérieure à 50 % n'affecte pas la vitesse de déplacement des femelles trichogrammes mais si elle est inférieure à 30 %, la vitesse de marche diminue (Boldt, 1974). Si le spectre d'humidité auquel les trichogrammes sont tolérants est plutôt large, il n'en est pas de même concernant la rosée. En effet, elle pourrait avoir une influence importante. Par exemple, *T.exiguum* évitent de marcher sur des surfaces humides (Keller, 1987).

Ici, il est donc important de retenir que des variations d'humidité, tant que celle-ci demeure supérieure à 50%, ne devraient pas beaucoup impacter les mesures relatives à la dispersion des trichogrammes, sachant que nous avons travaillé dans des conditions d'humidité très souvent supérieures à 60%.

### **Pression atmosphérique**

Des changements rapides (expérience d'une heure) de la pression barométrique réduisent de manière significative l'initiation au vol des femelles *T.pretiosum* et *T.evanescons*. Des changements barométriques lents (sur une expérience de 6 heures) n'ont pas d'impact significatif sur leur initiation de vol (Fournier *et al.*, 2005). Par conséquent, un changement rapide des conditions météorologiques, lié à la pression atmosphérique, pourrait avoir des conséquences considérables sur la dynamique de déplacement de certaines espèces de Trichogrammes.

#### *IV.2.2 Les facteurs biotiques*

### **L'hôte**

Certains effets des kairomones sur *Trichogramma sp.* ont également été évalués. Par exemple, *Trichogramma chilonis*, et son insecte hôte, *Helicoverpa assulta*, ont été étudiés dans des expériences de laboratoire. *T. chilonis* a été attiré par la phéromone sexuelle de *H. assulta* (Boo et Yang, 2000). Les femelles de *Trichogramma papilionis* sont attirées de manière significative par un mélange d'anisole et de phtalate de bis(2-éthylhexyle), que ce soit en serre ou dans un olfactomètre à tube en Y (Ali et Wright, 2021), deux composés qui sont libérés par le chanvre solaire lorsqu'il est infesté d'œufs d'*Helicoverpa zea* (Ali et Wright, 2021). En augmentant le parasitisme de *Trichogramma sp.* dans les champs (Lewis et al. 1975), les kairomones des écailles de la teigne de l'épi du maïs (Lewis, Jones, Sparks 1972) peuvent également avoir un effet attractif. Une autre espèce d'importance agronomique est également influencée par les composés présents dans les écailles d'*Helicoverpa zea* : le composé principal, la fraction hexane, guide de manière significative les individus de *Trichogramma evanescens* vers les œufs de *H. zea*. Par conséquent, le taux de parasitisme est augmenté lorsque la fraction hexanique est pulvérisée sur la zone étudiée, que ce soit en laboratoire ou dans les champs (Jones *et al.*, 1973). *T. evanescens* a également montré une attractivité significative dans un olfactomètre à quatre branches envers les kairomones libérées par les femelles vierges de *Pieris brassicae* L. (Noldus et van Lenteren, 1985). Une augmentation significative du parasitisme après exposition à *Heliothis armigera* et *Corcyra cephalonica* a également été démontrée sur *Trichogramma chilonis* dans des essais de laboratoire en boîte de Pétri et dans des plantes en pot (Ananthakrishnan *et al.*, 1991)

### **L'hôte de l'hôte : les plantes**

La sélection des plantes s'est concentrée sur leur pilosité pour sélectionner des phénotypes résistants. Certains phénotypes de plantes ont été sélectionnés en raison de leur aspect pileux qui semble réduire l'incidence de certains ravageurs. Par exemple, les phénotypes pileux du coton sont résistants au *Lygus Hesperus*, un ravageur du coton (Benedict *et al.*, 1983). Mais la pubescence foliaire peut aussi entraver l'activité de certains ennemis naturels comme les petits insectes oophages (Peter *et al.*, 1995) tels que les trichogrammes. Par exemple, il a été constaté à partir d'expériences de laboratoire menées sur des feuilles de tomate et de poivron pour comparer le comportement de recherche de *T. brassicae* et *T. sibiricum*, que la vitesse de marche était deux fois plus élevée sur les feuilles de poivron que sur les feuilles de tomate pour les deux espèces (Mcgregor *et al.*, 2002). Cela pourrait être dû à la présence de nombreux trichomes sur les feuilles de tomate. Le temps de séjour sur les différentes feuilles semble être plus faible sur les feuilles de tomate que sur les feuilles de poivron. Ces deux effets combinés

peuvent générer une efficacité de recherche plus faible et donc un contrôle biologique moins qualitatif sur les champs de tomates que sur les champs de poivrons. Des expériences de terrain sur trois phénotypes de coton (lisse, hirsute et pileux) ont été menées avec *T.pretiosum*. Il est apparu que les œufs d'*Heliothis zea* étaient significativement plus parasités sur le phénotype lisse que sur le pileux. De plus, des expériences en laboratoire ont montré que la vitesse de recherche était également plus faible sur le phénotype pileux que sur le phénotype lisse (Treacy *et al.*, 1986). Grâce à des observations microscopiques, ils ont découvert que leur mouvement horizontal est en fait réduit car les femelles essaient d'éviter les trichomes, ce qui augmente la sinuosité de leur mouvement, ou tentent de les escalader et finissent par tomber. Sur les feuilles de pois d'Angole, les *Trichogramma sp.* marchent plus lentement sur la surface inférieure que sur la surface supérieure, car elle est davantage couverte de trichomes, qui sont aussi plus longs que ceux de la surface supérieure (Romeis *et al.*, 1996). Le fait que les plantes influencent les variables de dispersion des trichogrammes a également été démontré sur des plantes de prairie par rapport au maïs. La vitesse de marche des femelles de *Trichogramma brassicae* étant significativement plus faible sur les plantes de prairie (Babendreier *et al.*, 2003). Les vitesses de marche et les taux de rotation le long des chemins des femelles de *Trichogramma exiguum* sont également influencés par la densité et la morphologie des trichomes foliaires. En effet, les femelles étaient les plus rapides sur le maïs et le soja (12 cm/min), intermédiaires sur la tomate (8 cm/min), et atteignaient les valeurs les plus basses sur la molène laineuse, *Verbascum thapsus* (3 cm/min). Une relation inverse a été montrée entre les trichomes de ces plantes et la vitesse de rotation : plus les plantes ont des trichomes (i.e. la molène), plus la vitesse de rotation est élevée (Keller, 1987).

Le site de lâcher sur les plantes peut également influencer la dispersion des trichogrammes. Par exemple, *T.nubilale* trouve plus facilement ses hôtes dans les parties médianes ou inférieures des plantes de maïs que lorsque leurs hôtes sont situés dans la partie supérieure de ces plantes. Ce parasite pourrait avoir développé un modèle de recherche adapté à son hôte (Burbutis *et al.*, 1977). De même, après avoir relâché trois espèces différentes de trichogrammes dans la couronne de bouleaux, il a été observé que *T.evanescens* parasite plus facilement à la couronne inférieure, *T.cacoeciae* semble préférer les hauteurs intermédiaires alors que *T.embryophagum* présente des taux de parasitisme élevés à la couronne moyenne et supérieure. Même si le parasitisme peut sembler très différent d'un indicateur de mouvement, il semble être un moyen efficace d'identifier les chemins qui sont préférés par les trichogrammes

(Kot, 1964). De la même manière, *T.pretiosum* montre un plus grand parasitisme sur les parties supérieures des plants de coton que sur les parties inférieures (Gonzalez *et al.*, 1970).

La culture sur laquelle les trichogrammes sont lâchés impacte pour diverses raisons (architecture macroscopique et microscopique, kairomones etc) le déplacement de ces derniers. Par conséquent, nombreux de mes choix expérimentaux ont été faits à la lumière de ces connaissances. En effet, la culture qui avait été a priori envisagée pour les lâchers en serres était la tomate du fait de son fort intérêt agronomique : (1) elle est très consommée et répandue dans le monde entier (Naika *et al.*, 2005) (2) elle est la cible première de nombreux agresseurs dont *Tuta absoluta*, un microlépidoptère de la famille des Gelechiidae (Desneux *et al.*, 2010). Or, les feuilles des plantes de tomates et même les tiges présentent une forte densité de trichomes (Dehimeche, 2021). Ainsi, d'après ce que nous venons de voir, effectuer des lâchers sur une telle culture pour des premiers essais pourrait s'avérer plus délicat (plus de variabilité des résultats, difficulté à relever un signal de parasitisme). J'ai par conséquent choisi de remplacer cette culture par une culture dont l'intérêt agronomique est tout à fait grandissant (Dubon, 2020) et qui est également menacée par *Tuta absoluta* : le poivron (Gayrard, 2020). Le poivron présente l'avantage de compter bien moins de trichomes que la tomate, ce qui limite les difficultés de dispersion pour les trichogrammes (Mcgregor *et al.*, 2002).

### **D'autres insectes**

La dispersion des trichogrammes pourrait également être de façon très occasionnelle et encore discutée, la résultante d'un phénomène que l'on appelle phorésie i.e. le transport d'un individu dit phorétique sur le corps d'un autre dans le but de se disperser (Clausen, 1976). Des comportements phorétiques ont été observés dans les champs chez plusieurs espèces de trichogrammes. Deux espèces de trichogrammes ont été trouvées sur cinq espèces de papillons : six *T. evanescens* ont été trouvés sur trois espèces de Pieris (un sur une femelle de *P. brassicae*, un sur une femelle de *P. rapae*, un sur un mâle de *P. rapae*, un sur une femelle de *P. napi*, et un sur un mâle de *P. napi*), et *T. brassicae* a été trouvé sur deux femelles de *P. napi* et sur une femelle de *M. jurtina* (Fatouros et Huigens, 2012). Les auteurs précédemment cités avaient déjà découvert que ces deux espèces de trichogrammes exprimaient des comportements phorétiques dans des expériences de laboratoire, en conséquence de la présence de kairomones (un anti-aphrodisiaque dans ce cas) sur les femelles *P. brassicae* accouplées (Fatouros *et al.*, 2005). Cependant, bien qu'il ait été observé, ce comportement ne semble pas être dominant. En effet,



sur plus de 1400 papillons collectés, seuls 10 étaient porteurs de trichogrammes (Fatouros *et al.*, 2005).

### **Le trichogramme lui-même**

Dans la littérature, l'évaluation des performances dispersives des parasitoïdes tels que trichogrammes est souvent effectuée au regard de l'âge des individus. Les résultats de ces évaluations ne sont pas univoques. En effet, plusieurs études ont montré sur différentes espèces de trichogrammes que les femelles âgées (environ 24 à 36h post émergence) présentaient souvent des taux d'activité plus grands que ceux des jeunes femelles (environ 8h post émergence) (Pompanon *et al.* 1993 ; Marston, Ertle 1969; Lukianchuk 1994). Malgré le fait que ce dernier constat soit dominant, il arrive parfois que l'âge n'ait aucune conséquence effective sur le taux d'activité des femelles comme chez *T.minutum* par exemple (Van Hezewijk *et al.*, 2000).

L'âge apparaît donc comme un facteur important à considérer lors de la caractérisation de métriques relatives à la dispersion, en laboratoire ou au champ. Dans le cas de mes travaux, quel que soit l'expérience menée, les femelles étaient toujours âgées de 24 à 36h.

Cette partie sur les différents facteurs influençant de façon directe ou indirecte la dispersion nous permet effectivement de constater que c'est un paramètre, qui par sa sensibilité, est délicat à évaluer, et sur lequel il est impératif de toujours conclure de façon nuancée. Il est par conséquent d'autant plus indispensable de réfléchir en amont à ces différents facteurs dans la mise en place des protocoles et stratégies expérimentales. Enfin, aborder ce sujet nous a également permis de découvrir plusieurs métriques pour accéder à des variables liées à la dispersion dans la majorité des cas mais ne relevant pas de sa mesure directe.

Je vous propose dans la partie qui suit, d'accorder un temps de focus sur les méthodes et variables rendant compte de la dispersion, de façon plus ou moins directe.

### IV.3 La dispersion, métriques et mesures

A l'heure actuelle, le nombre d'espèces d'insectes est estimé à 5.5 millions (Stork, 2018). Et malgré la diversité que présente ce groupe en termes de morphologie, de couleur, d'écologie ou de comportement, leur taille, elle, demeure caractérisée par la petitesse. En effet, la taille moyenne des insectes varie généralement d'un à une dizaine de millimètres. Les plus grands insectes peuvent mesurer jusqu'à une trentaine de centimètres d'envergure, comme certains papillons ou plus d'une soixante de centimètres comme certains phasmes (Nowak,



2019). Les plus petits quant à eux, mesurent moins de 200 micromètres, ce sont les guêpes parasitoïdes *Megaphragma mymaripenne* (Polilov, 2012). Les trichogrammes, à peine plus grands, font partie de la même famille des Trichogrammatidae.

La petite taille d'une part importante des insectes rend la mesure de leur dispersion encore plus difficile. Observer des insectes aussi petits sur le terrain est presque impossible. Par conséquent, sur le terrain, la mesure de leur dispersion est bien souvent indirecte. Pour les trichogrammes en particulier, des œufs d'hôtes sentinelles placés à des distances connues (Pratissoli *et al.*, 2005) ou encore des pièges collants sont utilisés (Romeis *et al.*, 1998). Mais les lâchers sur le terrain prennent du temps, sont coûteux et donnent des résultats très variables. Tout cela compromet le rendement et la reproductibilité des expériences. D'un autre côté, la dispersion peut également être étudiée par des tests comportementaux à petite échelle (Morales et Ellner, 2002). Ceux-ci ont l'avantage d'offrir la possibilité d'expérimenter avec rapidité et simplicité, ce qui permet d'obtenir un grand nombre de réplicats. Leur environnement contrôlé, bien qu'éloigné des conditions naturelles, permet une bonne reproductibilité. Cependant, ils négligent d'importants processus à plus grande échelle tels que la dynamique de groupe et les processus comportementaux à long terme. Par conséquent, l'évaluation correcte des paramètres de dispersion est souvent compliquée, voire inexistante, dans les études sur ces insectes, et en particulier, dans les programmes d'élevage de lutte biologique (Chen *et al.*, 2021).

Ce front de recherche progresse actuellement via deux voies. D'une part, le développement de nouveaux capteurs et de nouvelles technologies informatiques a conduit à la naissance de l'éthomique et à l'utilisation généralisée des éthoscopes (Branson *et al.*, 2009). Les éthoscopes sont des systèmes de suivi vidéo informatisés, simplement organisés avec une enceinte qui fournit l'éclairage et le support, une caméra et une arène dans laquelle les insectes sont relâchés (Geissmann *et al.*, 2017). Les éthoscopes actuels sont de plus en plus utilisés pour des organismes de plus grande taille tels que les drosophiles et les moustiques (Branson *et al.*, 2009). Cependant, les dimensions des arènes constituant ces éthoscopes sont telles qu'elles ne permettent pas de mesurer la dispersion sur des distances significatives (Batsleer *et al.*, 2020). D'autre part, les systèmes permettant de suivre des individus directement à grande échelle, tels que le radar à visée verticale, les radars harmoniques ou les systèmes GPS (Table 1), deviennent de plus en plus puissants. Mais toutes ces méthodes impliquent l'installation d'un capteur dont les propriétés (poids, équilibre, taille, traînée) peuvent affecter différents traits d'histoire de vie des organismes (ex : l'énergie, le mouvement, la recherche de nourriture, l'accouplement) (Kays *et al.*, 2015). De ce fait, même s'ils atteignent aujourd'hui de très petites tailles, à l'échelle

d'organismes tels que les oiseaux, les poissons-singes et les grands insectes (Kenward, 2000), ils sont encore beaucoup trop grands et lourds pour être d'une quelconque utilité pour les insectes minuscules. La "règle des 5 %" souvent utilisée (Honda *et al.*, 1999), selon laquelle le dispositif ne doit pas dépasser 5 % de la masse de l'animal, ne peut être respectée, car les insectes comme les trichogrammes pèsent généralement moins d'un milligramme.

<b>Technique</b>	<b>Description</b>	<b>Références</b>
<b>Capture-Marquage-Recapture</b>	Capture et marquage d'une partie d'une population puis relâche. Recapture ultérieure d'une autre partie et comptage des individus ayant été marqués.	(Southwood et Henderson, 2000)
<b>Observations des comportements</b>	Observations de comportements souvent menées dans des dispositifs de laboratoire (ex : tunnels de vol)  Annotations manuelles ou suivi assisté (vidéos et/ou photos)	(Reynolds et Riley, 1997)
<b>Pièges</b>	Dispositifs dédiés à attirer les insectes en utilisant leur attraction naturelle à différentes substances et ou objets (phéromones, couleur, substances nutritives etc....)	(Stinner <i>et al.</i> , 1983)
<b>Radars harmoniques</b>	Système basé sur l'émission et la réception d'un signal à une fréquence donnée, via la fixation d'une diode	(Boiteau et Vincent, 2016 ; Mascanzoni et Wallin, 1986)

électronique sur les insectes d'intérêt		
<b>Radar à visée latérale</b>	Système basé sur l'émission et la réception d'un signal à une fréquence donnée, via la fixation d'une diode électronique sur les insectes d'intérêt. Dans ce système, L'antenne est pointée latéralement par rapport à son porteur	(Chapman <i>et al.</i> , 2003)
<b>Marqueurs moléculaires</b>	Fragments d'ADN servant de repère pour suivre la transmission d'un segment de chromosome d'une génération à l'autre	(Richardson <i>et al.</i> , 2012)

**Table 1.** Techniques de référence actuelles pour le suivi des organismes et la caractérisation de leur dispersion

En conséquence de tout cela, chez *Trichogramma sp.*, la mesure de la dispersion se fait donc de façon indirecte via le parasitisme de patches d'œufs sentinelles positionnés à des distances connues (Bueno *et al.*, 2012 ; Nandagopal et Balakrishn, 2011 ; Oliveira *et al.*, 2020 ; Sharma et Aggarwal, 2015). Sinon, la dispersion est approchée via ce que l'on peut appeler des proxies, comme la vitesse moyenne de déplacement (Mcgregor *et al.*, 2002 ; Romeis *et al.*, 1999 ; Suverkropp *et al.*, 2001 ; Treacy *et al.*, 1986), le taux d'activité (Suverkropp *et al.*, 2001) ou encore la direction des mouvements (Bai et al. 2011 ; Boo, Yang 2000). Ces proxies ne sont la plupart du temps pas mis en regard avec des métriques de terrain.

## V- Objectifs et plan de thèse

### V.1 Question de recherche : peut-on faire un transfert d'échelle de la dispersion depuis les études au laboratoire vers les conditions de terrain ?

La dispersion que j'ai précédemment définie dans la partie IV.1 représente un trait phénotypique de grand intérêt dans la cadre de la lutte biologique avec utilisation de

macroorganismes. En effet, dans le cas des trichogrammes, leur statut de parasitoïde entraîne un lien étroit entre leur mouvement, leur reproduction et leur efficacité en tant qu'agent de biocontrôle. Si la dispersion est trop grande alors il est possible que certains œufs de ravageurs ne soient pas découverts et donc que la lutte biologique mise en place perde en efficacité (Heimpel et Asplen, 2011). De plus, comme je l'ai mentionné précédemment, considérer la dispersion est également indispensable à l'évaluation des effets non intentionnels des lâchers d'auxiliaires naturels (Babendreier *et al.*, 2005). Néanmoins, il manque aujourd'hui des moyens efficaces pour solidement l'évaluer et non plus en faire un critère de sélection secondaire, mais bien l'intégrer parmi les usages de pre-screening. En effet, les lâchers sur le terrain sont chronophages, coûteux et donnent des résultats très variables. Tout cela compromet le rendement et la reproductibilité des expériences. À l'inverse, la dispersion peut également être étudiée par des études comportementales à petite échelle. Celles-ci ont l'avantage d'offrir une rapidité et une simplicité d'expérimentation, permettant d'obtenir un grand nombre de réplicats. Leur environnement contrôlé, bien que loin des conditions naturelles, permet une bonne reproductibilité et l'obtention d'une bonne puissance statistique. Ces expériences permettent seulement d'évaluer des variables telles que la vitesse de déplacement ou encore la sinuosité des mouvements (Pompanon *et al.* 1993 ; Olson, Andow 2006; Suverkropp, Bigler, Lenteren 2001; Lartigue *et al.* 2022), sans obtenir des données valables sur de plus grandes distances et de plus grands espaces, comme celles qui peuvent être mesurées de façon indirecte sur le terrain. Ainsi, d'importants processus se produisant dans un plus grand espace-temps sont négligés. Le rapprochement de ces deux échelles représente donc un objectif important à atteindre pour améliorer la compréhension de la dispersion, et ainsi considérer la possibilité d'intégrer la dispersion, comme un trait de sélection principal. Afin de s'intéresser à un tel transfert d'échelle, nous avons travaillé avec l'espèce de trichogramme *T.cacoeciae*. En plus de son efficacité déjà prouvée sur le terrain, les trichogrammes présentent l'avantage pragmatique dans le contexte de la recherche, d'être faciles à maintenir en laboratoire et à manipuler en grand nombre dans le but d'acquérir une importante quantité de données. De plus, leur très petite taille fait d'eux des organismes qui suscitent beaucoup d'intérêt puisque leur étude représente un véritable défi technique.

Cela nous a donc conduit à traiter le principal questionnement qui suit : en s'appuyant sur les guêpes parasitoïdes du genre *Trichogramma*, auxiliaires naturels reconnus, est-il possible d'utiliser des métriques relatives à la propagation spatiale, et mesurées au laboratoire, afin

d'approcher les dynamiques de dispersion effectivement exprimées sur le terrain, dans le but d'améliorer leur sélection dans le cadre de la lutte biologique ?

Cette question est vraiment novatrice dans le domaine de l'écologie et plus spécifiquement de la lutte biologique. En effet aucun transfert d'échelle comme celui que nous questionnons ici n'a été repéré dans la littérature. Une seule arène de grande dimension (bloc en aluminium (639 mm × 232 mm) contenant un canal d'enroulement continu mesurant 8 m de longueur) a été utilisée par (Honda *et al.*, 1999), pour tester la dispersion au laboratoire de *Trichogramma cordubensis*. Malgré ce dispositif, aucun lien avec le terrain n'a été effectué et seule la dispersion indirecte i.e. via le parasitisme des œufs a été mesurée. Sur trichogrammes, seul un transfert d'échelle a déjà été testé. Ce dernier a été effectué entre la vitesse de déplacement de femelles de *Trichogramma brassicae* et leur capacité de dispersion au champ (Bigler *et al.*, 1988). Hormis ces deux exemples, l'ensemble des autres données comparatives entre échelles ou d'évaluation de la dispersion au laboratoire qu'il est possible de trouver dans la littérature, relève souvent de comparaisons qualitatives comme l'étude des capacités de dispersion d'*Halyomorpha halys*, évaluées au laboratoire et sur le terrain dont les données ont été comparées seulement via une discussion (Lee *et al.*, 2014). Sinon, la dispersion est souvent approchée via des métriques proxies obtenues en laboratoire, comme nous l'avons vu précédemment (Van Hezewijk *et al.*, 2000). Il est donc crucial de déterminer à quel point ces dernières sont représentatives des résultats observés à plus grande échelle, en conditions de culture.

## V.2 Objectifs

Ainsi, afin d'apporter des éléments de réponse à ce questionnement, deux principaux objectifs ont été posés, ainsi qu'un troisième objectif plus secondaire :

1. Le premier est de qualifier et/ou quantifier différentes métriques liées à la dispersion des trichogrammes de l'espèce *T.cacoeciae*, pour un ensemble de populations (génotypes) différentes, et ce à trois échelles spatiales et temporelles différentes, allant de quelques minutes et une dizaine de centimètres, jusqu'à une journée entière sur plusieurs mètres (en serres), en passant par plusieurs heures sur plusieurs mètres mais toujours au laboratoire.
2. Le deuxième objectif est d'évaluer le lien potentiel entre les différentes métriques obtenues à chacune des échelles, afin de déterminer s'il est effectivement possible

d'utiliser des métriques relatives à la propagation spatiale des individus de *Trichogramma cacoeciae* au laboratoire, pour approcher les dynamiques de dispersion effectivement exprimées sur le terrain.

3. Un troisième objectif, moins central, est d'évaluer le lien entre les métriques liées à la propagation spatiale des trichogrammes et deux des traits d'histoire de vie les plus classiquement utilisés pour les sélectionner : leur fécondité et leur longévité. Cela, dans l'objectif de discuter la notion de compromis entre dispersion et ces deux autres traits d'histoire de vie. En effet, le compromis entre reproduction et dispersion a été largement démontré chez de nombreux insectes, notamment ceux dont le vol est le principal moyen de dispersion (Guerra, 2011). Cette notion de compromis entre différents traits existe, lorsque les traits en question sont tous les deux coûteux en énergie. Ainsi, l'un est plus développé et cela au détriment de l'autre (Bonte *et al.*, 2012). Par exemple, les individus de la forme macroptère des cicadelles présentent des capacités de vol plus grandes que les individus de la forme brachyptère. En revanche, pour les macroptères, longévité et fécondité sont amoindries (Denno *et al.*, 1989). Ce compromis est bien moins largement étudié chez les trichogrammes. Pour ces derniers, c'est plutôt le compromis entre longévité et fécondité que l'on retrouve plus fréquemment traité (Ramesh et Manickavasagam, 2003). Pourtant, ces traits étant tous trois d'une grande importance pour la mise en place de programmes de lutte biologique efficaces, il est très intéressant de s'intéresser à cette question.

### V.3 Déroulé du manuscrit

L'organisation de l'ensemble du travail que j'ai mené durant ma thèse est récapitulée en figure 4. En figure 5 sont récapitulées les différentes échelles étudiées avec quelques-unes de leurs caractéristiques expérimentales.

Dans le but d'atteindre les différents objectifs présentés juste au-dessus, je présenterai mes travaux en quatre parties. D'abord, j'aborderai le troisième objectif de ma thèse, certes moins central mais s'inscrivant plus classiquement dans la démarche de sélection des auxiliaires dans le cadre des programmes de lutte biologique. Vous serez donc invités en première partie à découvrir les 17 souches de trichogrammes que j'ai étudiées à travers les critères de fécondité et de longévité. Cet objectif ayant été formulé à la fin de la première année de thèse, les analyses n'ont été effectuées qu'une seule fois en 2022. Avec cette étude, l'idée est non seulement

d'évaluer les différentes souches de trichogrammes sur ces deux critères mais aussi de s'intéresser au lien entre ces deux traits d'histoire de vie et la dispersion. Ce questionnement sera abordé et traité essentiellement de façon qualitative dans les discussions générales.

Dans un second temps, nous quitterons les sentiers battus et je proposerai une caractérisation de la dispersion spatiale de groupes de femelles *Trichogramma cacoeciae* à trois échelles différentes, et à l'aide de différentes métriques. D'abord, je présenterai les résultats obtenus sur le mouvement des trichogrammes dans une petite arène rectangulaire d'une dizaine de centimètres de côté. Dans ces arènes, nous avons travaillé sur des groupes d'une soixantaine de femelles, libres de se mouvoir pendant cinq minutes. Ces expériences ont été menées sous différentes modalités : matin et après-midi, et pour chacune de ces deux modalités, à 24 et à 28°C. Chaque expérience a été filmée. A l'aide d'un suivi automatique de ces vidéos avec le logiciel Ctrax, nous avons pu en tirer trois métriques principales : la vitesse, le taux d'activité, ainsi que la sinuosité. Je présenterai ces métriques en m'intéressant notamment à l'expression de différences entre les souches de trichogrammes, nous renseignant ainsi sur l'intérêt de ces métriques comme critère de sélection. Aussi, je présenterai des conclusions quant aux effets sur ces métriques, des différentes modalités testées afin, finalement, de comprendre plus finement ce qui influence les proxies de la dispersion des trichogrammes avec l'objectif de suggérer des stratégies d'optimisation de l'évaluation de la qualité des souches et/ou espèces destinées à être utilisées sur le terrain.

Ensuite, toujours dans ce même chapitre, je présenterai l'arène en double spirale que nous avons mise en place au début de ma thèse, inspirée d'une version développée par Victor Burte et al. quelques années auparavant. Celle-ci constitue un dispositif original pour essayer de travailler au laboratoire, avec des conditions se rapprochant des distances parcourues sur le terrain par les trichogrammes (Table 2), les grandes distances (>10m) étant souvent atteinte de façon passive par le vent ou après plusieurs jours (Zhou *et al.*, 2019a). En effet, dans ces arènes en double spirale, offrant un chemin à parcourir d'environ 6 mètres, nous avons travaillé à haute densité avec des groupes de plus de 200 femelles, libres de disperser pendant 6 heures. L'ensemble de l'arène a été photographié à haute fréquence. Cela nous a permis d'accéder grâce à un dispositif d'analyse d'images automatique développé sous ImageJ durant les travaux menés par Victor Burte et al., et réadapté durant ma thèse, aux dynamiques de dispersion au cours du temps des femelles trichogrammes. Cette partie débutera par l'article intitulé : « A double-spiral maze and hi-resolution tracking pipeline to study dispersal by groups of minute insects ». Cet article constituera la base méthodologique et technique du développement de

l'arène en double spirale. Cela permettra ainsi de présenter le pipeline automatique ImageJ permettant de détecter automatiquement les trichogrammes à l'intérieur de l'arène. Cet article ne présente que partiellement l'exploitation des données récoltées durant ma thèse. Par conséquent, s'en suivra à la suite de cet article, l'ensemble des résultats exploités pour cette arène en double spirale. Je discuterai notamment de l'obtention de différents profils de dispersion, en fonction des souches seulement, étant donné que le contexte abiotique était fixe.

Espèce	Distances étudiées	Durée	Culture	Parasitisme au-delà de 10m	Référence
<i>T.pretosium</i>	2,5 à 12m	48h	Chou	<10%	(Ruan Carlos M. Oliveira et al. 2020)
<i>T.pretosium</i>	5,10 et 15m	24h	Soja	10%	(Bueno, Parra, Bueno 2012)
<i>T.chilonis</i> et <i>T.japonicum</i>	1 à 9m	24h	Riz	<1%	(Sharma, Aggarwal 2015a)
<i>T.chilonis</i>	1 à 30m	72h	Canne à sucre	<10%	(Nandagopal, Balakrishn 2011)

**Table 2.** Référencement des distances de dispersion pour quelques espèces de trichogramme sur différentes cultures.

Enfin, pour clôturer ce chapitre, j'exposerai les résultats obtenus à la suite des expériences de lâchers en serres sur des rangs de poivrons, sur 6 semaines, en 2021 et en 2022, avec l'objectif de déterminer les paramètres, autres que les souches, qui ont pu également influencer les métriques utilisées pour embrasser la dispersion sur le terrain. Cette partie permettra notamment de mettre en avant, l'impact remarquable de la hauteur des patches d'œufs sentinelles à parasiter sur les plantes, particulièrement sur le parasitisme global des œufs. Nous montrerons également une corrélation négative entre la dispersion des souches et leur efficacité à parasiter les œufs d'hôtes.

J'aborderai dans un quatrième chapitre, l'évaluation du lien potentiel entre ces trois échelles, en confrontant les métriques relatives à la propagation spatiale des trichogrammes obtenues à chacune de ces échelles. Cela dans le but de déterminer s'il est possible de rendre

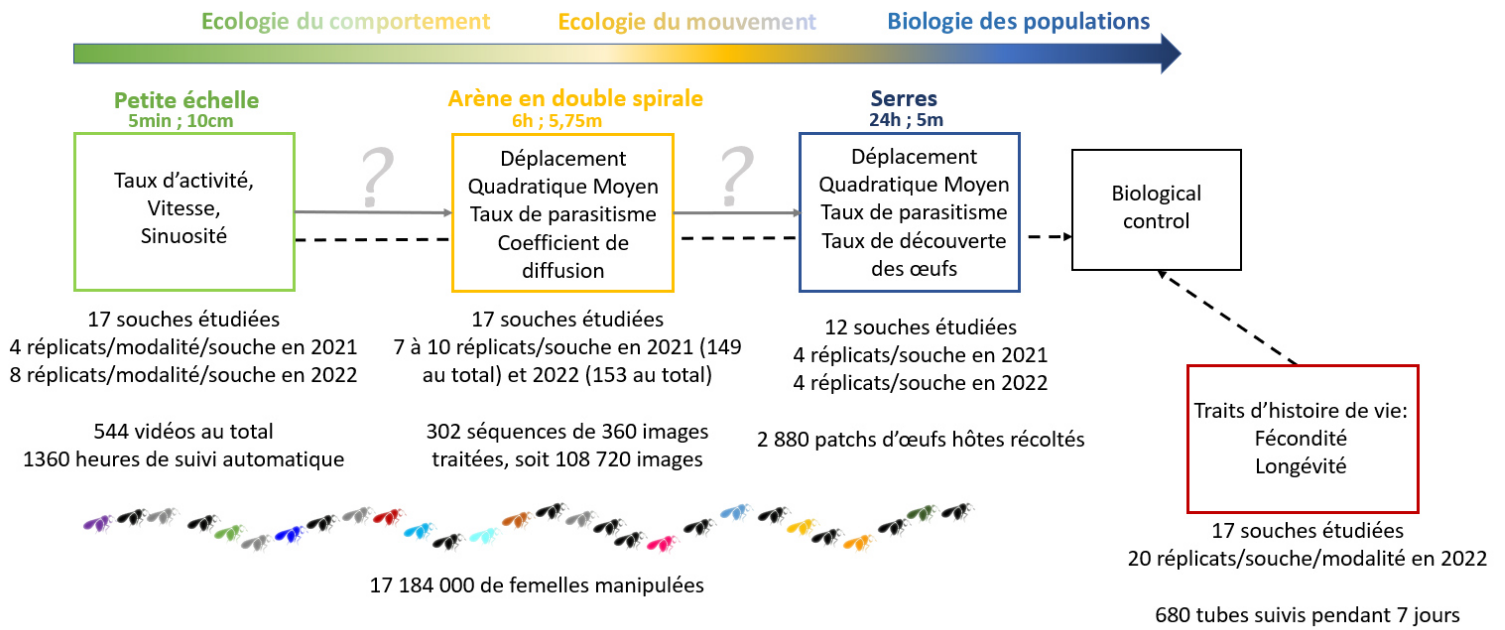


compte des dynamiques de dispersion, en conditions réelles, à partir d'expériences de laboratoire, sans volonté de prédire quantitativement les métriques de dispersion à grande échelle mais plutôt d'obtenir un classement qualitatif des souches qui serait conservé d'une échelle à l'autre.

Enfin, dans un dernier chapitre, je discuterai des conclusions et perspectives qu'il est possible de tirer de ces expériences. Pour finir, je consacrerai une dernière partie dans les perspectives, à un travail de réflexivité plus général sur la recherche.

Première année B F I O R L M I A O T G I R O A N P S (32h) I E	<b>Octobre 2020 à Mi-février 2021</b>	<b>Mi-Février 2021 à Octobre 2021</b>
	Développement technique et optimisation de l'arène en double spirale	Expérimentations spirales (Mi-Février à Septembre 2021) Expérimentations petites arènes (Mars-Avril-Mai 2021)
	Rédaction d'une déclaration d'invention pour la nouvelle arène en double spirale qui a été examinée et acceptée par l'INRAE fin Avril 2021	Expérimentations Serres (Mai- fin Août 2021) Travail sur le script d'analyse des résultats des arènes en double spirales Préparation de mes 24h heures d'enseignements (18h CM, 6h TD et évaluation finale)
Deuxième année	<b>Octobre 2021 à Mi-février 2022</b>	<b>Mi-Février 2022 à Octobre 2022</b>
	Mise en place du protocole pour les expériences sous serres et les expériences dans les petites arènes	Expérimentations spirales (Mi-Février à Septembre 2022) Expérimentations petites arènes (Mars-Avril 2022)
	Vacataire pour le Master RISKS (21h) (Octobre à Début Décembre 2021)	Expérimentations Serres (Mai- fin Août 2021) Expérimentation Longévité/Fécondité (Juin 2022)
Troisième année	<b>Octobre 2022 à Mi-Mars 2023</b>	<b>Mars 2023 à Octobre 2023</b>
	Analyse des résultats des spirales 2021 et début de rédaction du papier Cointe et al., 2023.	Expérimentation Longévité/Fécondité (Juin 2022)
	Analyse technique sur les résultats de Victor Burte et contribution à la publication Burte et al., 2023.	Rédaction et soumission de Cointe et al., 2023.
	<b>Octobre 2022 à Mi-Mars 2023</b>	<b>Mars 2023 à Octobre 2023</b>
	Vacataire pour le Master RISK (24h) (Octobre à Début Décembre 2022)	Rédaction du manuscrit jusqu'à fin Juillet
	Review du papier pour acceptation en Mars 2023	Préparation de la soutenance
	Analyse de données	Vacataire pour le Master RISK (24h) (du 12 Sept au 9 Oct 2023)
	Organisation de la période de rédaction	

Figure 4. Frise chronologique récapitulative de l'ensemble de mon travail de thèse



**Figure 5.** Schéma récapitulatif des différentes échelles étudiées. Dans chacun des carrés associés aux échelles sont mentionnées les variables mesurées à l'échelle concernée. Sous le nom de chaque échelle, la durée d'expérimentation ainsi que les dimensions associées sont renseignées. Sous chaque carré de variables, le nombre de souches étudiées, le nombre de réplicats obtenus, et la quantité de données associées sont rappelés.

[Le temps d'un sonnet]

*Kintsugi ou l'art japonais de réparer les pots cassés*

*Les épreuves viennent sur la route inattendues*

*Elles font, d'un coup, trembler les fondations*

*Certaines flirtent avec la destruction*

*Et demeurent alors sans dessous, sans dessus*

*Ma thèse, des épreuves elle en a connues*

*J'ai dansé avec les interrogations*

*Mais loin de moi s'est tenue la négation*

*Mes fondations ont trouvé ma main tendue*

*Et toutes ensemble nous nous sommes assises*

*Par chance ce n'était pas une cours d'assises*

*Nous avons bien réfléchi avant que d'agir*

*Regards nouveaux, nous avons transformé les bases*

*Retrouvant l'orée de la forêt sans fléchir*

*Un travail bien accompli telle une ligase*

#### V.4 Lettre d'opinion concernant les bases génétiques des souches étudiées et conséquences

Avant que vous ne débutiez la lecture plus approfondie des résultats de ma thèse, je tiens, ici, à présenter ma prise de position suite à certains problèmes rencontrés sur mon élevage de trichogrammes.

Mon élevage de 17 souches de *T.cacoeciae* a été fondé au début de ma thèse, entre novembre 2020 et Février 2021. Fin 2022, une de mes souches de trichogrammes (FLO064), est analysée génétiquement par une collègue de l'équipe RDLB afin de vérifier l'espèce à laquelle elle appartient. Le résultat conduit à réaliser que cette dernière appartient à l'espèce *Trichogramma oleae* et non *T.cacoeciae*. Les deux espèces sont thélytoques et difficilement distinguables morphologiquement. De plus, *T. oleae* n'était pas présente en élevage dans le laboratoire où je travaillais. À la suite de ce résultat, nous avons alors vérifié 9 souches supplémentaires. Cinq d'entre elles se sont avérées contaminées par *Trichogramma oleae*. Avec la méthode d'analyse, il est impossible de dater cette contamination par *Trichogramma oleae*. Je vais néanmoins utiliser un résultat obtenu par une collègue de l'équipe BPI, Géraldine Groussier, concernant la fécondité de *T.oleae*. Géraldine et moi, avons décidé en juin 2022, d'utiliser un protocole expérimental strictement identique pour évaluer la fécondité et la longévité de nos souches de trichogrammes. Dans ses résultats, Géraldine met en avant le fait que *T.oleae* parasite en moyenne un nombre d'œufs 1,5 fois plus grand que *T.cacoeciae*. Dans mes résultats de fécondité et de longévité (voir Chapitre IV), je n'ai jamais obtenu de tels chiffres pour les performances de mes souches. Ainsi, je considère qu'à l'été 2022, je travaillais encore avec *T.cacoeciae*. L'hypothèse la plus vraisemblable est que la contamination s'est faite plus tardivement, probablement via les œufs d'*Ephestia kuehniella*, qui ont été exceptionnellement partagés entre plusieurs personnes à la rentrée 2022. Début 2023, des contaminations à *T.oleae* provenant directement des œufs achetés au fournisseur ont été identifiées. Vu les périodes durant lesquelles j'ai effectué les expériences, je considère que mes résultats expérimentaux portent bien sur *T.cacoeciae*.

Toutefois, cette question de contamination m'a fait réfléchir quant à la stabilité de l'identité génétique de mes souches au cours de ces deux années d'expérimentations et d'élevage intensif. Ce questionnement a été d'autant plus marqué sachant que les souches sont vérifiées par un séquençage Sanger, sur le gène de la Cytochrome Oxydase 1 (CO1), qui est très bien conservé à l'intérieur de chaque espèce et marque bien les différences interspécifiques, mais peu les différences intraspécifiques. Je suis donc limitée quant à la possibilité d'affirmer s'il y a eu

mélange ou non, entre mes souches au cours de ces deux années. A cette limite technique, s'ajoute le fait que 60% de mes souches présentaient, au début de ma thèse, pour le gène CO1, l'haplotype 6. N'ayant aucune autre base de vérification génétique, si un mélange a lieu entre deux souches présentant le même haplotype, je suis actuellement incapable de l'identifier.

A ce point, s'ajoute le fait que j'ai travaillé avec deux stagiaires de Master 2, Mathias Launay en 2021, et Morgane Lheureux en 2022, sans qui je n'aurai pu effectuer autant de travail, sur une intensité d'élevage relativement soutenue. En effet, nous avons manipulé 5 jours sur 7, environ 272 tubes de trichogrammes par jour. Malgré toute la rigueur que nous nous sommes imposés, face aux quantités manipulées et vue la petitesse des trichogrammes, il est difficile pour moi d'exclure confortablement, le fait qu'il n'y ait pas eu de mélanges entre mes souches sur les deux ans de mes expériences.

Enfin, il reste à considérer que par souche, il nous a fallu un mois maximum pour récolter l'ensemble des réplicats, toute échelle de travail confondue, et que sur un mois, grâce aux multiples générations de trichogrammes élevées avec un décalage temporel d'une semaine, seules deux générations étaient ainsi soumises aux expérimentations. Je considère que sur deux générations, le risque de mélange est faible puisque sur deux générations les trichogrammes n'ont été manipulés qu'une seule fois, réduisant les probabilités de mélanges.

Par conséquent, en considérant l'ensemble des réflexions que je viens d'exposer, et ayant à cœur de demeurer intègre et à l'aise avec l'ensemble des résultats que je vais avancer, je considérerai, sur la base d'un principe de précaution :

- Qu'au sein de chaque échelle expérimentale et au sein de chaque année, chaque souche a conservé son identité. Ainsi, les réplicats expérimentaux sont comparables entre eux, à chaque échelle.
- Qu'entre les échelles expérimentales, le nombre de générations pouvant devenir grand, le risque de mélange est plus considérable. Ainsi, il est difficile pour moi d'affirmer que le transfert d'échelle testé est effectivement effectué sur un matériel biologique ayant les mêmes caractéristiques génétiques. Afin d'embrasser au mieux cette limite, j'ai décidé de ne faire aucune publication scientifique de ce transfert d'échelle. En revanche, je vais l'étudier dans le cadre de ma thèse et dans le cadre de ce manuscrit comme quelque chose à considérer avec précaution.
- Qu'il est impossible d'affirmer que les 17 souches sur lesquelles j'ai travaillé en 2021, sont effectivement les mêmes que les 17 souches en 2022. De ce fait, je considérerai

dans la suite de ce manuscrit deux lots distincts de 17 souches de *Trichogramma cacoeciae*. Les noms initiaux des souches seront néanmoins conservés.



**[Le temps d'un sonnet]**

***D'œufs et de jours***

*Commençons par emprunter les sentiers battus*

*Et si nous revenions aux traits de l'habitude*

*Fécondité, longévité, pour cette étude*

*Souhaitons-leur alors une belle venue*

*Fécondité, longévité, ensemble élues ?*

*Entre elles, n'apparaissent-elles pas trop rudes ?*

*Des souches fécondes, loin de la quiétude*

*Fécondes pour peu de jours de vie c'est l'actu ?*

*Attendons-nous à un trade-off ou alors rien*

*L'hypothèse de la première semble bien*

*Alors il ne nous reste plus qu'à l'éprouver*

*C'est l'escale que je vous propose de faire*

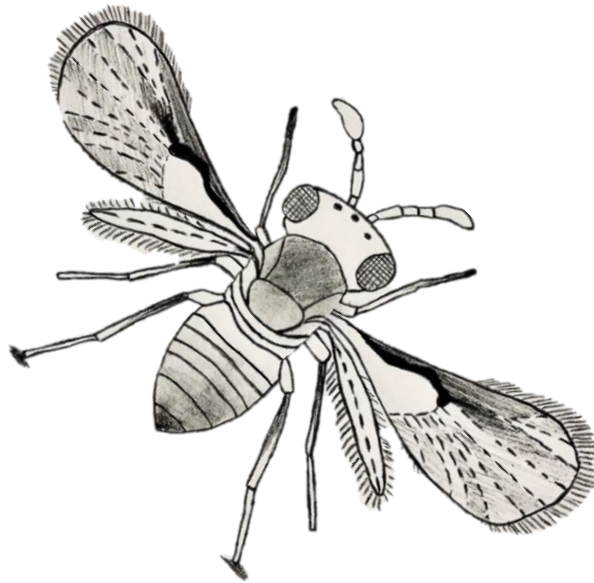
*Au cours du chapitre ci-dessous présenté*

*Regardons donc si un tel compromis peut plaire*





**CHAPITRE II : Approche classique,  
étude de la longévité et de la fécondité  
de 17 souches de *Trichogramma*  
*cacoeciae***





Les expérimentations sur la longévité et la fécondité ayant seulement été effectuées en 2022, et vu les questionnements soulevés quant à la conservation de l'identité génétique des souches au cours du temps, l'article qui suit portera uniquement sur l'évaluation de la longévité et de la fécondité des 17 souches de *T.cacoeciae* en 2022. Le lien avec la dispersion sera discuté dans le chapitre V (Discussion et perspectives générales)

## **Article 1: Comparative fecundity and longevity of 17 strains of *Trichogramma cacoeciae***

Cointe, M.<sup>a\*</sup>, Lheureux, M., Groussier, G.<sup>a</sup>, Mailleret, L.<sup>ab</sup> & Calcagno, V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Université Côte d'Azur, INRAE, CNRS, Institut Sophia Agrobiotech, Sophia Antipolis, France

<sup>b</sup> Université Côte d'Azur, Inria, INRAE, CNRS, Sorbonne Université, Biocore, Sophia Antipolis, France

\*Author for correspondence: [melina.cointe@inrae.fr](mailto:melina.cointe@inrae.fr)

### **Introduction**

Today, worldwide, the objective is to reduce the use of chemical insecticides because of their multiple negative impacts (Humann-Guillemot *et al.*, 2019 ; Veres *et al.*, 2020): on biodiversity (Goulson, 2013), on human health (Thompson *et al.*, 2020), and on ecological resilience of agroecosystems (Chagnon *et al.*, 2015). In order to achieve this objective, several strategies exist, one of which is the use of biological control, i.e., the use of natural enemies (whether introduced or otherwise manipulated) to control insect pests (Smith 1996).

*Trichogramma sp.* are the most used and commercialized agents against some pests such as the corn borer (Naïbo, Druesne 2008). There are currently 280 species known, all from the genus *Trichogramma* (Pintureau, 2012). Among them, there is the species *Trichogramma cacoeciae* which is one the most used worldwide. It is a thelytokous species of Chalcidian micro-Hymenoptera of the Trichogrammatidae family. *Trichogramma* individuals are oophagous parasitoids, characterized by a very small size i.e., less than 0.5mm (Cônoli, Parrachi 2010). They represent efficient biocontrol agents by killing their host by laying their eggs inside the egg of the Insect-host. Moreover, their ease of rearing on alternative hosts, and their wide geographic distribution make them interesting biological control agents (Souza *et al.*, 2016).

To achieve successful biological control, it is necessary to make sure that the most suitable and efficient species of trichogramma are selected (Losey et Calvin, 1995). Given the

mode of action of trichogramma individuals, longevity and fecundity are basic criteria for their selection (Smith, 1996). Indeed, so far, their selection is mainly based on laboratory experiments which are most of the time conducted to assess the following characteristics: the ability of the species to parasitize and develop in the target host egg, the species appeal for a selected host egg, the total egg mortality caused by parasitism, and the longevity of females (Knutson, 1998 ; Lundgren et Heimpel, 2003). Fecundity is important especially in the case of mass rearing for Trichogramma species. Indeed, for a trichogramma species or strain to be suitable in a breeding program, it is necessary not only that the field performance is satisfactory but also that it can be reared in large quantities (Silva *et al.*, 2000). This depends in particular on its fecundity. But qualifying the quality of a biological control agent on a single trait is not enough. Often several traits are measured. These measurements must be quick, simple, and easily reproducible (Leppä, 2003). Thus, fecundity is often associated with a measure of longevity, showing most of the time a trade-off (Olson et Andow, 1998) i.e., the most fertile females have a shorter lifetime than the least fertile females and vice versa. This trade-off has also been studied and demonstrated in other organisms such as *Drosophila melanogaster* (Djawdan *et al.*, 1996) or the melon fly (Miyatake, 1997). The existence of these trade-offs justifies the interest in categorizing trichogramma according to their performance on several traits. Longevity, in addition to being of interest to evaluate the performance of Trichogramma individuals in relation to biocontrol strategies, is also interesting to have an idea of the potential unintended effects of Trichogramma individuals releases (Heimpel et Mills, 2017).

The selection of Trichogramma individuals, like many other biocontrol agents, is based on comparative studies between species. Once the best species has been identified, or at least a species of interest, selection is refined at the strain level. nevertheless in the literature, we find mainly studies concerning the selection at the level of species (Schöller et Prozell, 2002 ; Stouthamer *et al.*, 1993). Comparisons between strains are less numerous and often concern a small number of strains e.g. 2 strains of *T.cacoeciae* (Pizzol *et al.*, 2010), 7 strains of *T.aurosum* (Samara *et al.*, 2008), 5 strains of *T.evanesceus* (Samara *et al.*, 2008), 6 strains of *T.cacoeciae* (Pizzol *et al.*, 2005), 3 strains of *T.cacoeciae* (Pak, 2003).

We therefore propose to study 17 strains of the species of interest *Trichogramma cacoeciae* in order to assess the intraspecific variability on the following life history traits: longevity and fecundity.

## Methods

### *Presentation of the 17 strains of T.cacoeciae*

We worked with 17 strains of *Trichogramma cacoeciae* that were sampled in France, between 1987 and 2016 supplied by the INRAE biological resource centre “EggParasitoids Collection” (CRB EP-Coll, Sophia Antipolis) (Table 1).

Strain	Sampling Location	Sampling Plant	Sampling year
ACJY144	Aime, France	Ash tree	2015
BL103b	Le Change	Primrose	2016
CAS052	Castellane	Boxwood	2016
Citron	Grasse	Lemon tree	2012
FLO064	Montmejean	Broom	2016
FLO239	Le Crouzet	Rose bush	2016
GOT0130	Gotheron	Apple tree	2016
ISA1067	France	Broom	2015
ISA1075	Maurice de Beynost	Plum tree	2015
MES008	Beaumat	Maple tree	1987
PJ	France	Laboratory strain	1987
PMBIO1	France	Unknown	2014
PPI073	Sophia Antipolis	Unknown	2016
PUG233	La Pugère	Apple tree	2015
TCMz	France	Unknown	1987
TCVigne	France	Unknown	1987
TSM008	Tours sur Meymont	Apple tree	2015

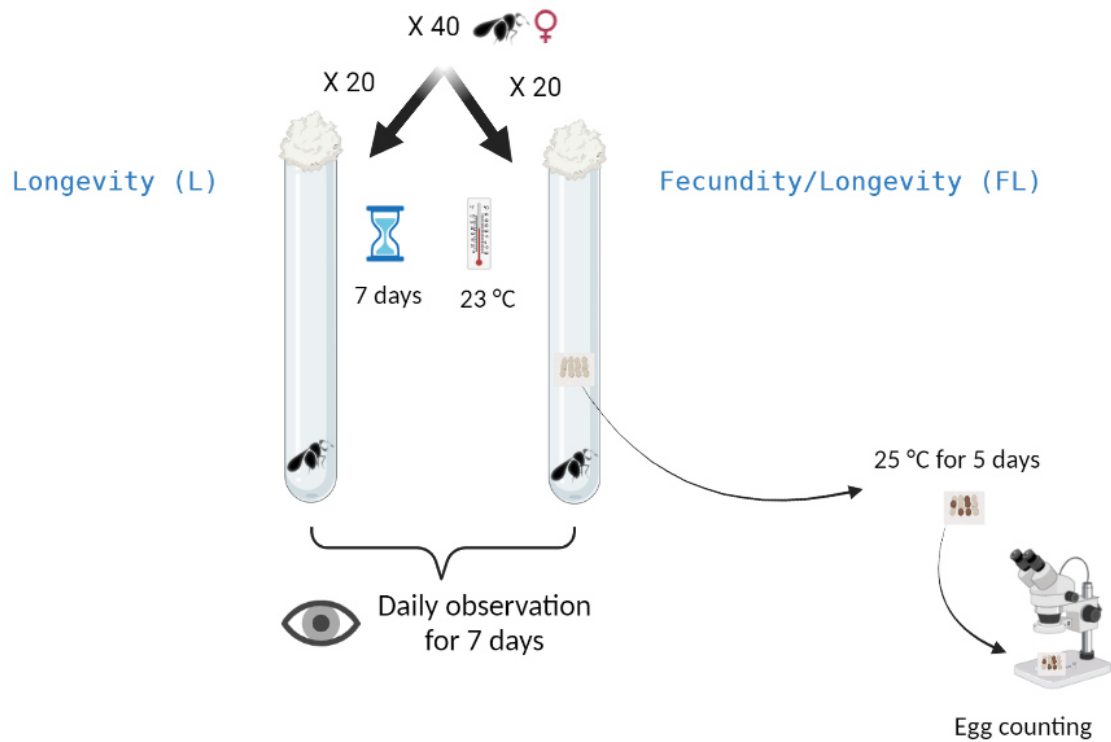
**Table 1.** Information on the 17 strains used in the results section: their name, their sampling location, the plant on which they were captured and their sampling year.

### *Laboratory mass-rearing of T. cacoeciae*

Trichogramma individuals were reared on the surrogate host *Ephestia kuehniella*. Irradiated eggs of *E. Kuehniella* supplied by Bioline Agrosiences were stored at  $3 \pm 1^\circ\text{C}$ , RH  $75 \pm 5\%$ . This stock of eggs was renewed every week. There were then attached on cardboard, strips (4.5cm x 1cm) with  $\frac{1}{3}$  of transparent Rubafix glue without solvent +  $\frac{2}{3}$  of distilled water so that trichogramma females could lay their eggs on this cardboard. We had four batches of the twelve strains tested in order to have emerging females the day before each release. The trichogramma females were reared on 14-day cycles: 6,5 days at  $18 \pm 1^\circ\text{C}$  and 7.5 days at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12:12 h L:D photoperiod and  $70\% \pm 10\%$  RH.

### *Experimental design*

We worked on 17 strains of *Trichogramma cacoeciae*. For each of these strains, 40 females were isolated in honeyed glass tubes (12.25 X 74.5 X 0.50 mm) i.e., one female per tube. Half of these females were exposed in these tubes to a cardboard patch (1cmx1cm) covered with irradiated eggs of *E. Kuehniella* ( $222 \pm 31$  eggs) for 7 days ("FL" for Fecundity Longevity treatment, terminology to be used later). The other half was not exposed to *E. Kuehniella* eggs. However, in order to make the two environments inside the tubes as similar as possible, we put a blank cardboard patch of the same dimensions without glue ("L" for Longevity treatment, terminology to be used later). This other half was also kept in the tubes for 7 days. Once the whole experiment was ready, we stored all these tubes in boxes at  $23^\circ\text{C}$  (a comfort temperature for *Trichogramma sp.*). Each day, for 7 days, we checked in each of the tubes whether the female was alive or not. If the female was dead on the first day (i.e., 24 hours after the start of the experiment), we entered 0 days as the life span. At the end of the 7-day monitoring period, the irradiated egg patches of *E.Kuehniella* were removed from the glass tubes so that females that were still alive could not continue to lay eggs. After 7 days all longevity monitoring was stopped for feasibility reasons. These patches were isolated in other glass tubes and then kept at  $25^\circ\text{C}$  for 5 days in order to count the parasitized eggs, i.e., blackened, on each patch with a binocular magnifying glass. The various experimental stages are summarized in Fig.1.



**Figure 1.** Diagram of the different stages of the experiment conducted to measure longevity and fecundity.

### *Statistical analysis*

#### Longevity analysis

As the normality assumption was not acceptable on our longevity data, we used the non-parametric Kruskal-Wallis test, with the *kruskal.test* function of the stats package (R Core Team, 2020) to analyse the longevity data. We first distinguished between the "L" and "FL" treatments to analyse the differences in longevity between strains, in one case and in the other. In both cases, we then performed a posthoc test using the *kruskal* function of the agricolae package (Mendiburu, 2021), with a Bonferroni correction. We then performed a Kruskal-Wallis test on the longevity data, without distinguishing between the "L" and "FL" treatments but using them as explanatory variables, in interaction with the strain effect in order to determine the strains expressing significant differences in their longevity according to the experimental conditions applied. Following this test, we used a Dunn's posthoc test with the *dunnTest* function of the FSA package (Ogle *et al.*, 2023), applying a Bonferroni correction.

#### Fecundity analysis



For fecundity, we used the number of parasitized eggs over a period of 7 days as the variable to be analysed in order to account for it. This approach via the use of this variable is often used in the framework of the study of fecundity of *Trichogramma* individuals because females rarely lay more than one egg into the small eggs of *E. kuehniella*, especially when they are alone since there is no competition (Bigler *et al.*, 1991). This variable being a count variable, we first wanted to use a glmmTMB (glmmTMB package (Brooks *et al.*, 2017)) model with a Poisson law, with the strain as explanatory variable and individual identity nested in strain as a random variable, all other experimental parameters being fixed and the number of eggs of *Ephesia kuehniella* being relatively invariable (Fig.S1). However, the data show an overdispersion with respect to a Poisson distribution, at the more extreme values (Fig.S2). This overdispersion was quantified by calculating the ratio between the residual deviance and the number of degrees of freedom, obtained for the model constructed with a Poisson distribution. We obtained a value of 8, well above one, supporting the overdispersion observed graphically. We therefore modified the Poisson distribution into a negative binomial distribution. We then checked the goodness of fit using the QQplot and the residuals against the predicted values plot (Fig.S3) provided by the function *simulateResiduals* of the DHARMA package (Hartig, 2022). Finally, we applied a posthoc test with a Bonferroni correction using the *emmeans* function of the same package (Lenth *et al.*, 2023), followed by a treatment by the *clm* function of the multcomp package (Hothorn *et al.*, 2008) in order to obtain the letters associated with the different groups possibly identifiable according to the differences expressed on their average number of parasitized eggs.

#### Trade-off between longevity and fecundity

After analysing fertility and longevity independently, we were interested in the possible association between these two variables: do they show a trade off? Since the assumptions required to perform linear regressions were not satisfyingly verified, the association between the variables was studied using Kendall rank correlations on the means of each variable for each strain. These tests were carried out using the *cor.test* function in the stats package (version 4.0.0) (R Core Team 2020). Only one correlation has been conducted, the one between the longevity measured for the "L" treatment and fecundity. The correlation between longevity measured for the "FL" treatment and fecundity has not been studied, as given the censored state of the longevity data at 7 days for this treatment and the almost non-existent variability between the strains studied due to this censoring, it would have been difficult to highlight a correlation. For the studied correlation, a Kendall's tau confidence interval was computed by percentile

bootstrap. For each strain and each variable (longevity and fecundity), I generated a new vector of values by drawing, with discount,  $N(20)$  values from the  $N(20)$  observed values. On these new vectors of values, I calculated the associated means. I did this 1000 times. I thus obtained 1000 vectors of means for each of the variables. I performed a Kendall correlation test at each round, between the different vectors associated with each variable studied. I thus obtained 1000 Kendall's tau values. These 1000 tau values were then ordered from smallest to largest in order to estimate the 2.5 and 97.5 percentiles. The 2.5 percentile corresponds to the threshold below which only 2.5% of the ordered values are present. The 97.5 percentile corresponds to the threshold above which only 2.5% of ordered values are present. These values then constitute the lower and upper bounds of the 95% confidence interval, according to the "bootstrap percentile" approach. This method is based on the symmetrical distribution of estimated Kendall's tau values. The distribution histogram of the estimated values was checked before each percentile calculation (Wehrens *et al.*, 2000).

## Results

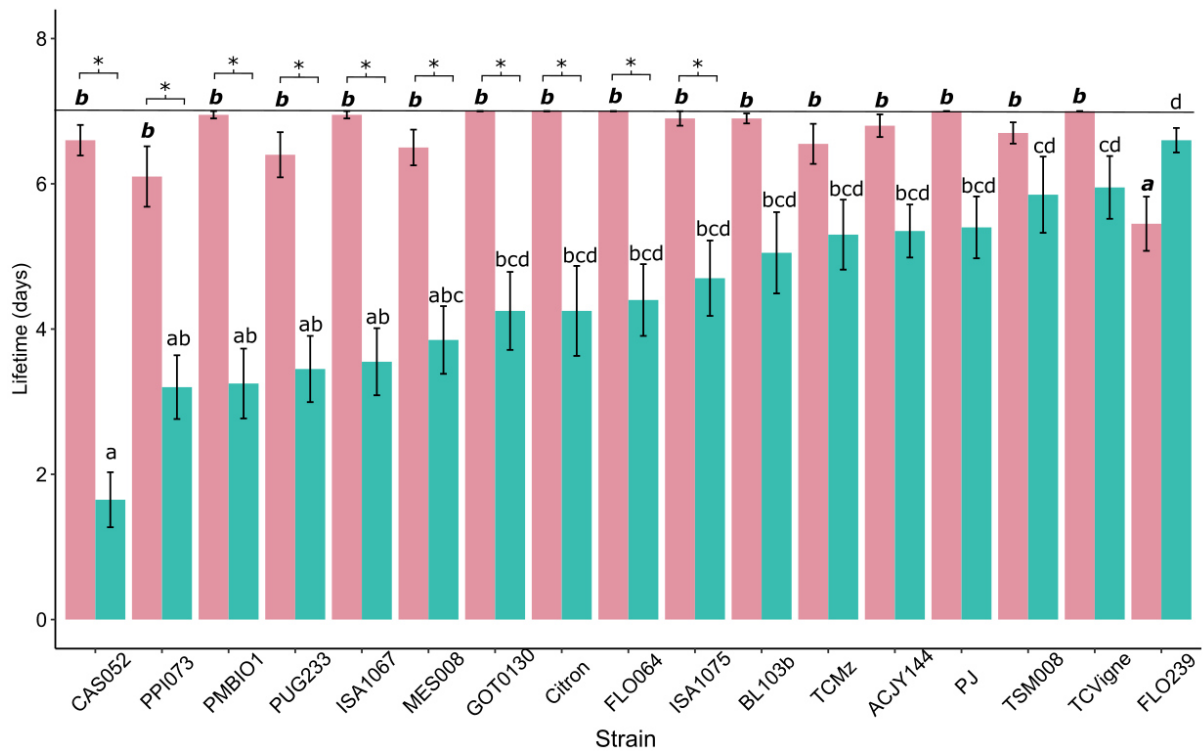
First of all, for the three tests carried out on the longevity and fertility variables, the strain effect appears systematically significant (Table 2), respectively for the "L" treatment, the "FL" treatment and the fecundity model, the p values associated to "Strain" are:  $8.981e-12$ ;  $3.009e-08$  and  $4.762e-13$ . Regarding the model where "Treatment" ("L" or "FL") has been used as an explanatory variable, the p-value associated to the "Strain" effect is  $2.2e-16$ .

Effect	df	p-value
<b>Longevity</b>		
<b>For “L” treatment</b>		
Strain	16	8.981e-12
<b>For “FL” treatment</b>		
Strain	16	3.009e-08
<b>For “Exp” (“L” or “FL”) as an explanatory variable</b>		
Strain:Exp	16	2.2e-16
<b>Fecundity</b>		
Strain	16	4.762e-13

**Table 2.** Results of statistical tests carried out on longevity and fecundity i.e., the number of parasitized eggs. The variable “Exp” correspond to the treatment effect (“L” or “FL”)

#### *Longevity results*

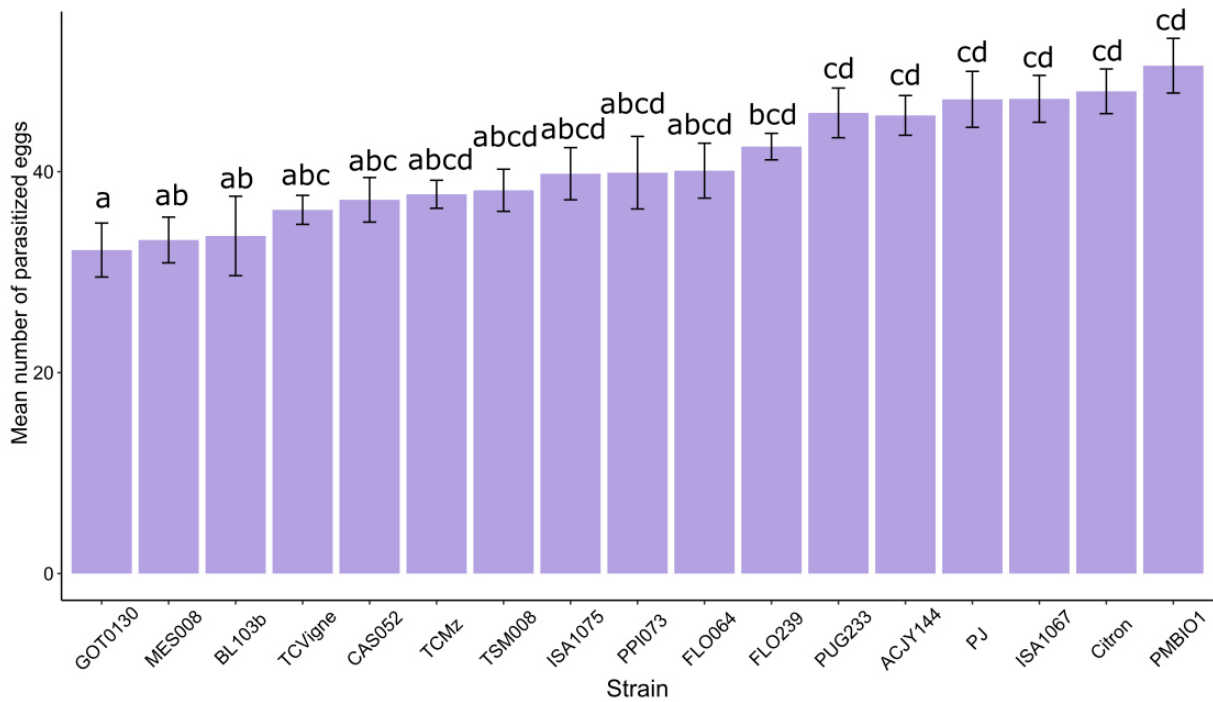
We can firstly note a general effect of the presence of eggs to be parasitized (Treatment "FL") on the longevity of *Trichogramma* females (Fig.2). Indeed, all strains have a shorter life span, at least in tendency or significantly when they were not exposed to the presence of a patch of *Ephestia kuehniella* eggs to parasitize. In the case of CAS052, the average lifespan for the 'L' treatment without eggs is more than four times shorter than that with eggs. For others such as PPI073, PMBIO1, PUG233, ISA1067, the life span is about two times shorter. On the other hand, other strains seem to be much less sensitive to the presence or absence of eggs (the difference between the longevity measured for the two treatments being less than that of the previously mentioned strains), such as FLO239, TCVigne or TSM008. Regarding the “FL” treatment, it seems difficult to point out an intraspecific variability on the longevity measured over a finite period of time in the presence of eggs of hosts to be parasitized. Indeed, only the FLO239 strain shows a significantly different longevity from the others (Fig.2). On the other hand, with the "L" treatment, intraspecific variability is more important (Fig.2). Indeed, there is the strain CAS052 with a very short lifespan: on average a little less than two days, a group of strains with a lifespan between 3 and 5 days i.e., 76% of them, and finally strains with a lifespan close to 6 days or more with TSM008, TCVigne, FLO239. The mean lifespan being of 4.5 days for the “FL” treatment.



**Figure 2.** Average life span of *T. cacaoeciae* females measured over 7 days with the presence of eggs of *Ephestia kuehniella* (pink: “FL” treatment) and without eggs (green: ”L” treatment). The error bars correspond to the standard deviation. The stars correspond to the outputs obtained from the posthoc test performed with the *Dunn.test* function of the FSA package (V 0.9.4) (Ogle et al., 2023) applying a Bonferroni correction. The letters in bold type and in italics correspond to the outputs obtained from the posthoc test performed with the *kruskal* function of the agricolae package (V 1.3-5) (Mendiburu, 2021) applying a Bonferroni correction and identify the differences between the strains for the “FL” treatment. The letters in normal type correspond to the same test but conducted on the data of the “L” treatment. The horizontal line indicates the duration of 7 days as a reminder that the data has been censored for this period.

### Fecundity results

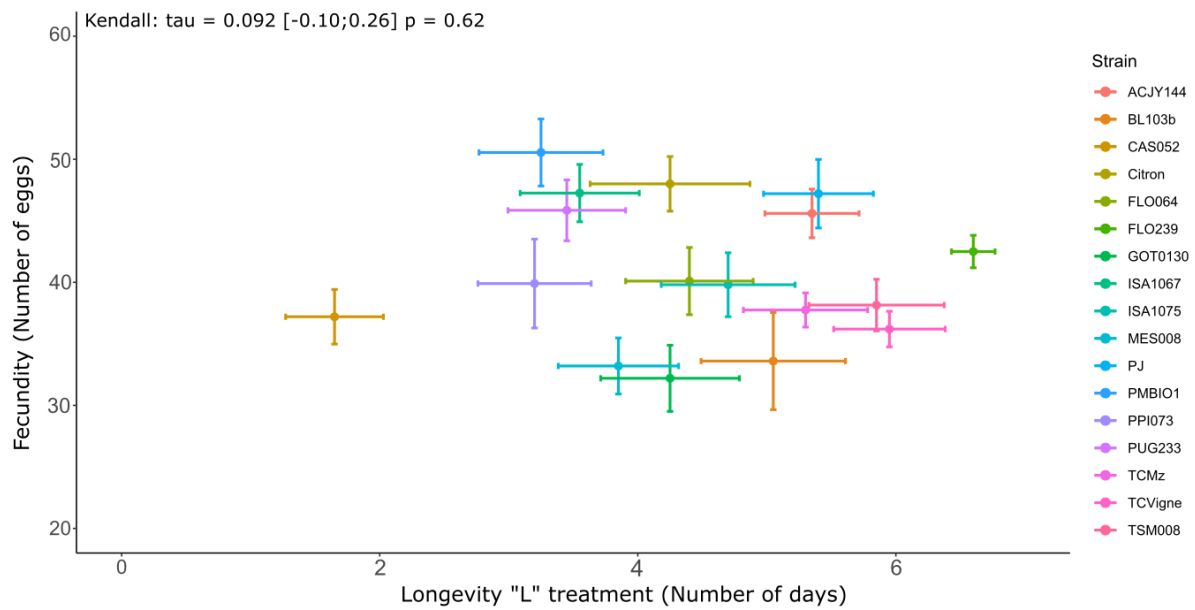
Regarding the parasitism (“FL” treatment), there are no extreme differences between the performance of the strains (Fig.3). In particular, there are three levels of remarkable values: a first one with the strains GOT0130, MES008, and BL103b with about thirty parasitized eggs; the strains TCVigne to FLO239, parasitizing slightly more but not reaching or just reaching forty eggs and finally the strains PUG233 to PMBIO1, having parasitized on average between about forty and fifty eggs.



**Figure 3.** Representation of the average number of parasitized eggs according to the strains. The letters were obtained from the *cld* function of the multcomp package (V 1.4-22) (Hothorn et al., 2008) following the results of the posthoc test obtained with the *emmeans* function of the package of the same name, applying a Bonferroni correction.

#### *Trade-off between longevity and fecundity*

The correlation test carried out do not allow us to highlight any significant association between fecundity and longevity measured (Fig.4), even trends can't be identified since the p-value is quite high. This non significance is confirmed by the confidence interval which contain the value zero.



**Figure 4.** Association of fecundity and longevity across strains. Each point represents the mean for a given strain. Around each point are represented the standard deviations. The result of the Kendall correlation test is written in the top left corner, between brackets is the confidence interval obtain by percentile bootstrap.

## Discussion

It is known from the literature that the longevity of *Trichogramma* individuals is influenced by both internal and external factors of the individuals (Olson et Andow, 1998). In our present study, we show a striking effect of the presence of host eggs on the longevity of a majority of the 17 strains of *Trichogramma cacoeciae* studied. In the presence of host eggs, the lifespan of *T. cacoeciae* females is on average doubled but can be increased up to fourfold. This effect of the availability of host eggs on the longevity of *Trichogramma* females has been highlighted in other studies. For example, similar results have been obtained for *T. cacoeciae* and *T. principium*: without hosts, *T. cacoeciae* females do not survive more than 5 days on average. However, when host eggs are available, their lifespan is almost doubled (Makee, 2005). This type of result has also been shown for *T. cacoeciae* and *T. evanescens* (Hassan *et al.*, 2018; Schöller et Prozell, 2002b). This increase in life span due to the presence of hosts can possibly be attributed to the practice of oophagy (Hassan *et al.*, 2018; Makee, 2005; Schöller et Prozell, 2002). For instance, *Trichogramma turkestanica* actually host feed after oviposition on the first egg of *Ephestia kuehniella* (Ferracini *et al.*, 2006). Despite the convergence of many studies towards the same observation of life span extension in the presence of hosts, some studies have shown opposite effects as for *T. nubilale* (Olson et Andow, 1998) or *Trichogramma*

*platneri Nagarkatti* (Hohmann et Luck, 2004). We can also see this result through another prism: the absence of a host leads to a decrease in the longevity of *T. cacoeciae* females. This could be an indirect consequence of ovarian pressure. Indeed, *T. cacoeciae* females are both pro-ovigenic and also partly synovigenic. That is, respectively, pro-ovigenic female parasitoids emerge with a stock of mature eggs accompanying them throughout their life. Synovigenic female parasitoids, on the other hand, emerge with a supply of mature eggs but, if they obtain the necessary nutrients, can also mature other eggs in addition to the initial supply (Volkoff et Daumal, 1994; Waage et Ming, 1984). Thus, *T. cacoeciae* females are subjected to a fairly substantial ovarian load, as soon as they emerge, they carry about fifteen mature eggs (Pak *et al.*, 1985). It has been shown that this ovarian load is the cause of more intense activity and movement in female *Trichogramma* (Collins et Dixon, 1986; Pompanon *et al.*, 1999; Rosenheim et Rosen, 1991). We can assume that the females do not have host eggs to satisfy their egg-laying needs and are therefore very active, but in vain. They get tired and cannot feed on host eggs and consequently die faster.

With regard to the fecundity studied, we found intraspecific variability with a difference between the two extreme strains such that the better performing strain actually laid almost twice as many eggs. Similar results have been demonstrated on *Trichogramma carverae* on *S.cerealella*, with the strain with the lowest fecundity parasitizing 50% fewer eggs than the strain with the highest fecundity (Thomson, 2002). Intraspecific variability has also been shown between two strains of *T.cacoeciae*, coming from France and Tunisia (Pizzol *et al.*, 2010). These variations in fecundity between strains are probably due to the difference in ovarian load and the ability to mature eggs during their lifetime. These links have been shown to be significant or at least trending, especially between *Trichogramma* species. For example, in *T.minutum*, *T.platneri* and *T.pretiosum*, at least in trend, the greater the egg load, the greater the measured fecundity. Also, this link was significantly highlighted on four species of *Trichogramma*. This hypothesis can be supported by the fact that *T. cacoeciae*, as mentioned above, is both pro-ovigenic and synovigenic (Volkoff et Daumal, 1994). Thus, it may be possible that some of the strains, depending on their tendency to be pro-ovigenic or synovigenic, express variable fecundities i.e., one would expect that females being rather pro-ovigenic would have higher rates of parasitism over a limited period of time as it was the case in our experiments than females being rather synovigenic and thus needing time to have mature eggs, ready to be laid.

Concerning the link between fertility and longevity, our results do not show a trade-off

between these two life history traits, contrary to what is more often found in the literature as in the case of *T. brasiliensis* (Ramesh et Manickavasagam, 2003). Indeed, this trade-off is regularly identified since reproduction has a particularly high energy cost. Therefore, if an organism allocates a large amount of energy to reproduction, the cost will be paid elsewhere, often with an impact on longevity (Stearns, 1989). This can sometimes be neutral or even become a positive link between these two life history traits when the environment provides sufficient energy resources to offset the energy cost of one and thus not impact the other or generate a possible positive link (Bell, 1980). In the case of our study, such a trade-off may not have been detected because the duration of the experiments was limited to 7 days. Had we run the experiment until the last female died, we might have had different results.

To conclude, these intraspecific differences expressed on fecundity and longevity are of great interest for the selection of *Trichogramma* individuals for biological control. Indeed, having differences that are expressed on these traits allow us to select the most appropriate strains according to the treatment contexts. Strains with very low fecundity are of little interest since the effectiveness of *Trichogramma* females depends on them. Longevity is a less obvious point to discuss. Indeed, in the case of inundative releases, working with long-lived females is only interesting if their oviposition activity is maintained over this period. However, in *Trichogramma sp.*, it has often been demonstrated that the majority of eggs are laid in the first 24 to 48 hours after emergence (Bigler *et al.*, 1987 ; Chassain et Boulétreau, 1991 ; Naranjo, 1993). The sensitivity of female longevity to the presence or absence of host eggs is a real point of reflection. Indeed, in order to implement the best biological control strategy, it would perhaps be more interesting to have sufficiently fecund *Trichogramma* females whose longevity is little affected by the availability of host eggs. Indeed, once released, these females could be able to search for hosts for a longer period of time without dying and increase the efficiency of the control, especially in the case of a low pest presence rate where the probability of encounter between eggs and *Trichogramma* individuals is lower.

### **Data availability statement**

Code and data to do the analysis and obtain the different figures obtained in this paper can be found at <https://forgemia.inra.fr/melina.cointe/comparative-fecundity-and-longevity-of-17-strains-of-trichogramma-cacoeciae> with a Gnu general public license. The script has been used with R V 4.0.0 (2020-04-24) -- "Arbor Day".



## **Acknowledgements**

We warmly thank Cécile Le Lann and Corinne Fresnoy for their advice and their suggestions which allowed us to propose these experiments in the framework of a larger project. Fundings are from INRAE (SPE Department) and Université Côte d'Azur (UCA-JEDI; ANR-15-IDEX-01) which supported M. Cointe's PhD.

## **Authors' contributions**

MC, ML, GG, and VC designed the experiments. MC and ML performed the experiments. MC and ML analysed the data. MC wrote the manuscript with inputs from all authors.

## **Conflict of interest disclosure**

The authors declare no conflict of interest.

## **References**

- Bell, G. (1980). The Costs of Reproduction and Their Consequences. *The American Naturalist*, 116(1), 45-76. <https://doi.org/10.1086/283611>
- Bigler, F., Cerutti, F. et Laing, J. (1991). First draft of criteria for quality control (product control) of *Trichogramma*. Proceedings 5th workshop IOBC working group: Quality control of mass reared arthropods.
- Bigler, F., Meyer, A. et Bosshart, S. (1987). Quality assessment in *Trichogramma maidis* Pintureau et Voegelé reared from eggs of the factitious hosts *Ephestia kuehniella* Zell. and *Sitotroga cerealella* (Olivier). *Journal of Applied Entomology*, 104(1-5), 340-353. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1987.tb00535.x>
- Brooks, M. E., Kristensen, K., Benthem, K. J. van, Magnusson, A., Berg, C. W., Nielsen, A., Skaug, H. J., Mächler, M. et Bolker, B. M. (2017). glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal*, 9(2), 378-400.
- Chagnon, M., Kreuzweiser, D., Mitchell, E. A. D., Morrissey, C. A., Noome, D. A. et Van der Sluijs, J. P. (2015). Risks of large-scale use of systemic insecticides to ecosystem functioning and services. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 119-134. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3277-x>

- Chassain, Ch. et Boulétreau, M. (1991). Genetic variability in quantitative traits of host exploitation in *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Genetica*, 83(3), 195-202. <https://doi.org/10.1007/BF00126225>
- Collins, M. D. et Dixon, A. F. G. (1986). The effect of egg depletion on the foraging behaviour of an aphid parasitoid. *Journal of Applied Entomology*, 102(1-5), 342-352. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1986.tb00932.x>
- Cônsoli, F. L., Parra, J. et Zucchi, R. (2010). Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on *Trichogramma*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9110-0>
- Djawdan, M., Sugiyama, T. T., Schlaeger, L. K., Bradley, T. J. et Rose, M. R. (1996). Metabolic Aspects of the Trade-Off between Fecundity and Longevity in *Drosophila melanogaster*. *Physiological Zoology*, 69(5), 1176-1195. <https://doi.org/10.1086/physzool.69.5.30164252>
- Ferracini, C., Boivin, G. et Alma, A. (2006). Costs and benefits of host feeding in the parasitoid wasp *Trichogramma turkestanica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 121(3), 229-234. <https://doi.org/10.1111/j.1570-8703.2006.00479.x>
- Goulson, D. (2013). REVIEW: An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4), 977-987. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12111>
- Hartig, F. (2022). DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. R package version 0.4.6. <https://CRAN.R-project.org/package=DHARM>.
- Hassan, K. A., Hashim, S., Mostafa, I. M. Y., Sanad, A. S. et Abdel-Hameid, N. F. (2018). Assessment of Dispersal and Parasitism of the Laboratory Reared *Trichogramma evanescens* West. under Field Conditions. <https://doi.org/10.21608/jppp.2018.41666>
- Heimpel, G. E. et Mills, N. J. (2017, avril). *Biological Control: Ecology and Applications*. Cambridge Core. Cambridge University Press. <https://www.cambridge.org/core/books/biological-control/0C7E4E84AAB030EB1CD06D93EA288C95>
- Hohmann, C. L. et Luck, R. F. (2004). Effect of host availability and egg load in *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and its consequences on progeny

quality. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47, 413-422.  
<https://doi.org/10.1590/S1516-89132004000300012>

Hothorn, T., Bretz, F. et Westfall, P. (2008). Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal. Biometrische Zeitschrift*, 50(3), 346-363.  
<https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>

Humann-Guilleminot, S., Binkowski, Ł. J., Jenni, L., Hilke, G., Glauser, G. et Helfenstein, F. (2019). A nation-wide survey of neonicotinoid insecticides in agricultural land with implications for agri-environment schemes. *Journal of Applied Ecology*, 56(7), 1502-1514.  
<https://doi.org/10.1111/1365-2664.13392>

Knutson, A. *The Trichogramma manual*. 1998.

Lenth, R. V., Buerkner, P., Giné-Vázquez, I., Herve, M., Jung, M., Love, J., Miguez, F., Riebl, H. et Singmann, H. (2023, 17 janvier). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means (version 1.8.4-1). <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>

Leppla, N. C. (2003). Aspects of total quality control for the production of natural enemies. *Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures*, 19-24. <https://doi.org/10.1079/9780851996882.0019>

Losey, J. E. et Calvin, D. D. (1995). Quality Assessment of Four Commercially Available Species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Economic Entomology*, 88(5), 1243-1250. <https://doi.org/10.1093/jee/88.5.1243>

Lundgren, J. G. et Heimpel, G. E. (2003). Quality assessment of three species of commercially produced *Trichogramma* and the first report of thelytoky in commercially produced *Trichogramma*. *Biological Control*, 26(1), 68-73. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00117-2](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00117-2)

Makee, H. (2005). Effects of repeated and delayed exposure to codling moth eggs on reproduction of *Trichogramma cacoeciae* and *T. principium* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) females. *Journal of Pest Science*, 78(2), 83-89.  
<https://doi.org/10.1007/s10340-004-0072-3>

Mendiburu, F. de. (2021, 6 juin). agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research (version 1.3-5). <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>

Miyatake, T. (1997). Genetic trade-off between early fecundity and longevity in *Bactrocera Cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Heredity*, 78(1), 93-100. <https://doi.org/10.1038/hdy.1997.11>

Naranjo, S. E. (1993). Life History of *Trichogrammatoidea bactrae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), an Egg Parasitoid of Pink Bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae), with Emphasis on Performance at High Temperatures. *Environmental Entomology*, 22(5), 1051-1059. <https://doi.org/10.1093/ee/22.5.1051>

Ogle, D. H., Doll, J. C., Wheeler, A. P. et `dunnTest()`, A. D. (Provided base functionality of. (2023, 1er février). FSA: Simple Fisheries Stock Assessment Methods (version 0.9.4). <https://CRAN.R-project.org/package=FSA>

Olson, D. M. et Andow, D. A. (1998). Larval Crowding and Adult Nutrition Effects on Longevity and Fecundity of Female *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Environmental Entomology*, 27(2), 508-514. <https://doi.org/10.1093/ee/27.2.508>

Pak, G. A. (2003). Inundative Release of *Trichogramma* for the Control of Cruciferous Lepidoptera: Preintroductory Selection of an Effective Parasitoid, 12.

Pak, G. A., Halder, I. van, Lindeboom, R. et Stroet, J. J. G. (1985). Ovarian egg supply, female age and plant spacing as factors influencing searching activity in the egg parasite *Trichogramma* sp. *Mededelingen - Universiteit Gent, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen*, 50(2a), 369-378.

Pintureau, B. (2012). Les hyménoptères parasitoïdes oophages d'Europe (Quae). <https://www.quae.com/produit/1104/9782759219278/les-hymenopteres-parasitoïdes-oophages-d-europe/preview?escape=false#lg=1&slide=0>

Pizzol, J., Khoualdia, O., Ferran, A., Chavigny, P. et Vanlerberghe-Masutti, F. (2005). A single molecular marker to distinguish between strains of *Trichogramma cacoeciae*. *Biocontrol Science and Technology*, 15(5), 527-531. <https://doi.org/10.1080/09583150500088934>

Pizzol, J., Pintureau, B., Khoualdia, O. et Desneux, N. (2010). Temperature-dependent differences in biological traits between two strains of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Pest Science*, 83(4), 447-452. <https://doi.org/10.1007/s10340-010-0327-0>

Pompanon, F., Fouillet, P. et Bouletreau, M. (1999). Physiological and genetic factors as sources of variation in locomotion and activity rhythm in a parasitoid wasp (*Trichogramma brassicae*). *Physiological Entomology*, 24(4), 346-357. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3032.1999.00150.x>

R Core Team. (2020). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>

Ramesh, B. et Manickavasagam, S. (2003). Tradeoff Between Longevity and Fecundity in Relation to Host Availability in a Thelytokous Oophagous Parasitoid, *Trichogramma brasiliensis* Ashmead (Trichogrammatidae: Hymenoptera). *International Journal of Tropical Insect Science*, 23(3), 207-210. <https://doi.org/10.1017/S1742758400023602>

Rosenheim, J. A. et Rosen, D. (1991). Foraging and Oviposition Decisions in the Parasitoid *Aphytis lingnanensis*: Distinguishing the Influences of Egg Load and Experience. *The Journal of Animal Ecology*, 60(3), 873. <https://doi.org/10.2307/5419>

Samara, R. Y., Carlos Monje, J. et Zebitz, C. P. W. (2008). Comparison of different European strains of *Trichogramma aurosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) using fertility life tables. *Biocontrol Science and Technology*, 18(1), 75-86. <https://doi.org/10.1080/09583150701749789>

Schöller, M. et Prozell, S. (2002). Response of *Trichogramma evanescens* to the main sex pheromone component of *Ephestia* spp. and *Plodia interpunctella*, (Z,E)-9,12-tetra-decadenyl acetate (ZETA). *Journal of Stored Products Research*, 38(2), 177-184. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(01\)00015-7](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(01)00015-7)

Silva, I. M. M. S., Van Meer, M. M. M., Roskam, M. M., Hoogenboom, A., Gort, G. et Stouthamer, R. (2000). Biological Control Potential of *Wolbachia* -infected Versus Uninfected Wasps: Laboratory and Greenhouse Evaluation of *Trichogramma cordubensis* and *T. deion* Strains. *Biocontrol Science and Technology*, 10(3), 223-238. <https://doi.org/10.1080/09583150050044501>

Smith, S. (1996). Biological Control with Trichogramma: Advances, Successes, and Potential of Their Use. *Annual review of entomology*, Vol. 41, 41, 375-406. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.41.1.375>

Souza, A., Giustolin, T., Querino, R. et Alvarenga, C. (2016). Natural Parasitism of Lepidopteran Eggs by Trichogramma Species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Agricultural Crops in Minas Gerais, Brazil. *Florida Entomologist*, 99, 221-225. <https://doi.org/10.1653/024.099.0210>

Stearns, S. C. (1989). Trade-Offs in Life-History Evolution. *Functional Ecology*, 3(3), 259-268. <https://doi.org/10.2307/2389364>

Stouthamer, R., Breeuwer, J. a. J., Luck, R. F. et Werren, J. H. (1993). Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. *Nature*, 361(6407), 66-68. <https://doi.org/10.1038/361066a0>

Thompson, D. A., Lehmler, H.-J., Kolpin, D. W., Hladik, M. L., Vargo, J. D., Schilling, K. E., LeFevre, G. H., Peeples, T. L., Poch, M. C., LaDuca, L. E., Cwiertny, D. M. et Field, R. W. (2020). A critical review on the potential impacts of neonicotinoid insecticide use: current knowledge of environmental fate, toxicity, and implications for human health. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 22(6), 1315-1346. <https://doi.org/10.1039/C9EM00586B>

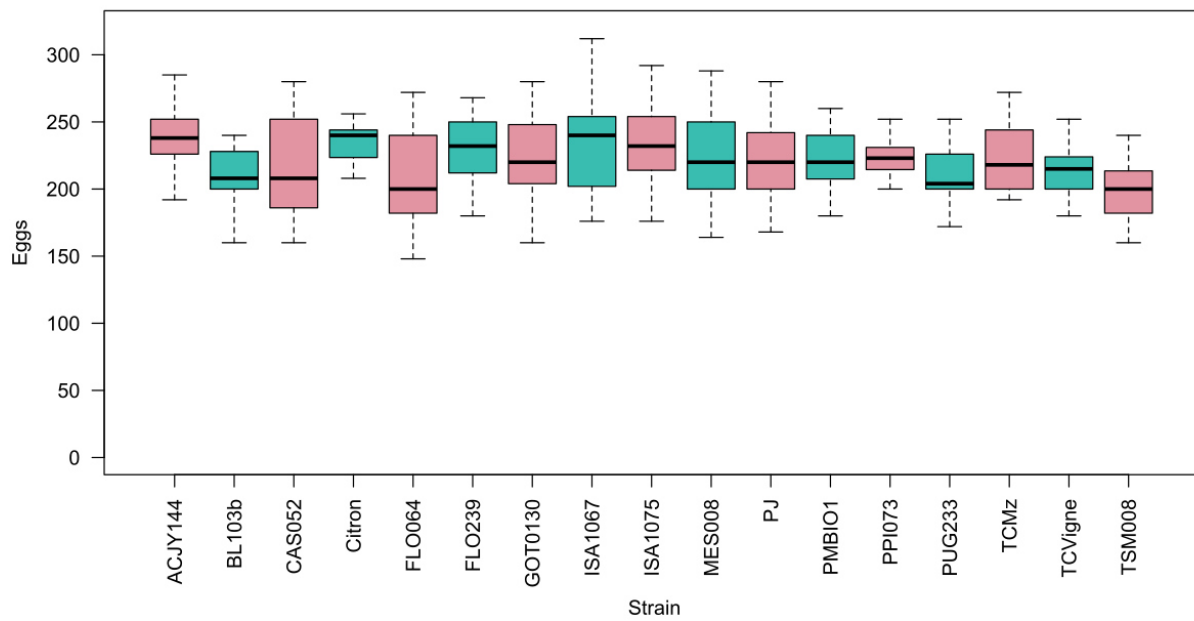
Veres, A., Wyckhuys, K. A. G., Kiss, J., Tóth, F., Burgio, G., Pons, X., Avilla, C., Vidal, S., Razingar, J., Bazok, R., Matyjaszczyk, E., Milosavljević, I., Le, X. V., Zhou, W., Zhu, Z.-R., Tarno, H., Hadi, B., Lundgren, J., Bonmatin, J.-M., ... Furlan, L. (2020). An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic pesticides. Part 4: Alternatives in major cropping systems. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(24), 29867-29899. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09279-x>

Volkoff, A. N. et Daumal, J. (1994). Ovarian cycle in immature and adult stages of *Trichogramma cacoeciae* and *T. Brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae). *Entomophaga*, 39(3), 303-312. <https://doi.org/10.1007/BF02373035>

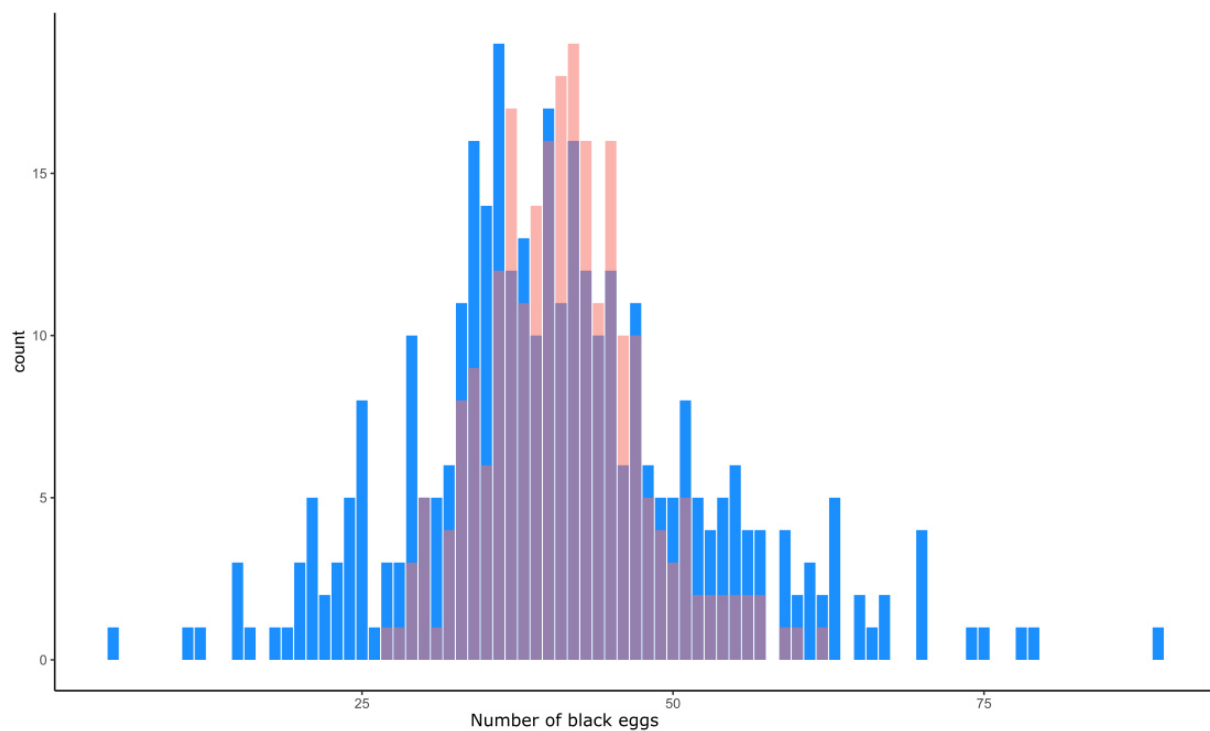
Waage, J. K. et Ming, N. S. (1984). The Reproductive Strategy of a Parasitic Wasp: I. Optimal Progeny and Sex Allocation in *Trichogramma evanescens*. *Journal of Animal Ecology*, 53(2), 401-415. <https://doi.org/10.2307/4524>

Wehrens, R., Putter, H. et Buydens, L. M. C. (2000). The bootstrap: a tutorial. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 54(1), 35-52. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(00\)00102-7](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(00)00102-7)

## Supplementary material

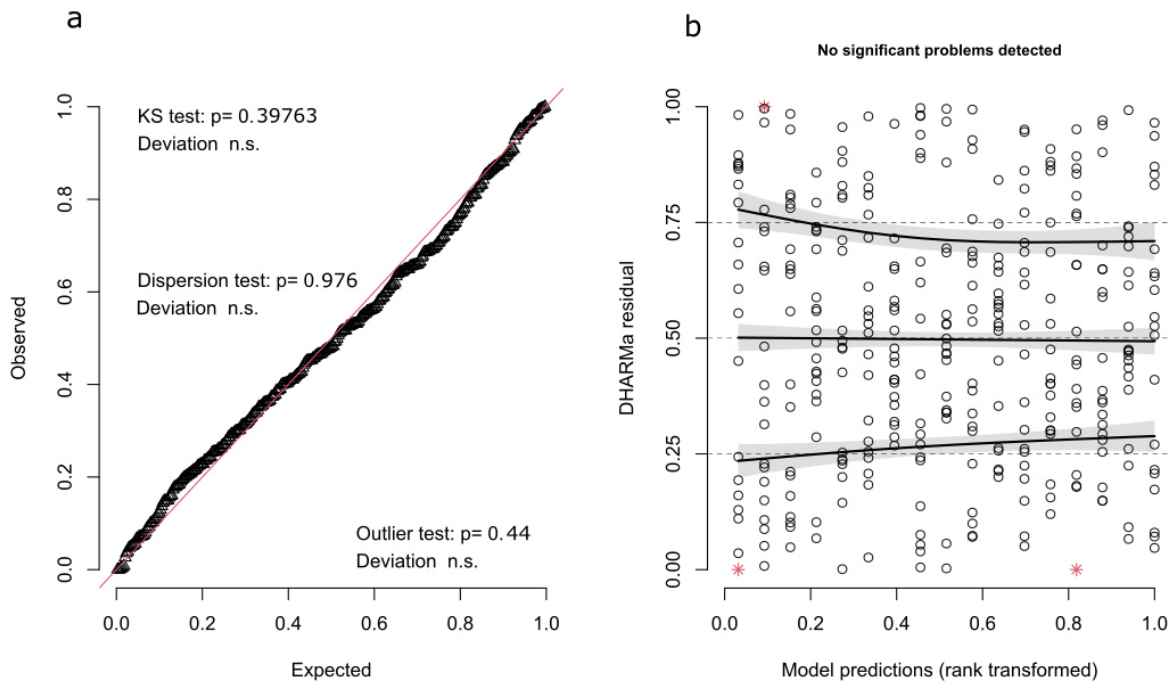


**Figure S1.** Number of *Ephestia kuehniella* eggs on the cardboard used in the “FL” treatment.



**Figure S2.** Distribution of the observed counts of the number of black eggs, in blue, and the theoretical counts in red, generated using the *rpois* function from the package stats with  $\lambda = 40.88$  and  $n = 340$ .





**Figure S3.** The graphs above represent the results of the goodness-of-fit check obtained with the *simulateResiduals* function of the DHARMA package (Hartig 2022) on the fecundity data. Graphs a represent the QQ plot. Graphs b represent the residuals against the predicted.

**[Le temps d'un sonnet]**

***Un, deux, trois temps, trois échelles***

*Dans des temps et des espaces bien différents  
Suivons maintenant ces petites dames guêpes  
Que peut-on dire du mouvement de leurs trèpes  
Y-a-t-il des paramètres l'influençant ?*

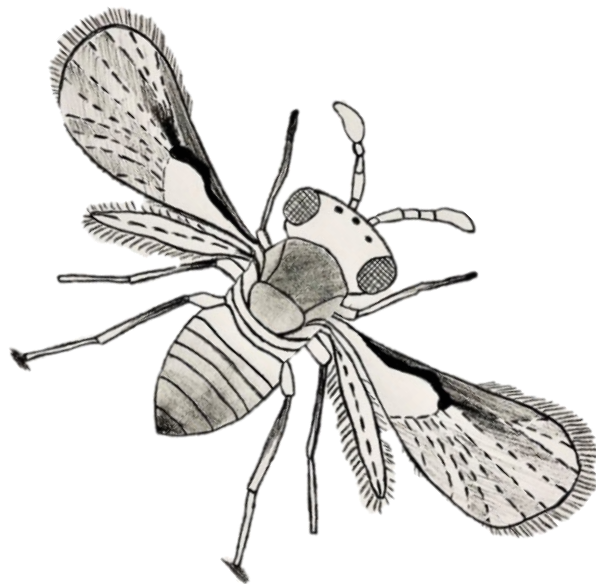
*Vitesse, que dit leur mouvement ? Est-il lent ?  
Ont-elles la sinuosité d'un fil crêpe ?  
Ou dit-on que leur trajectoire se décrêpe ?  
Comment mènent-elles leur vie ? Activement ?*

*Sous serres, sur des plants, vont-elles aller loin ?  
Ou bien finalement voyagent-elles moins ?  
Se voient-elles plus à l'aise en haut qu'en bas ?*

*Des photos et vidéos au laboratoire  
Nous laisserons saisir le rythme de leurs pas  
Nous permettant par conséquent de mieux y voir*



# Chapitre III : Estimer la dispersion, du laboratoire aux serres





Le chapitre précédent nous a permis d'aborder l'approche classiquement utilisée pour déterminer quelles espèces de trichogrammes, ou quelles souches dans notre cas, seraient de bonnes candidates pour être utilisées en tant qu'auxiliaires dans le cadre de lâchers inondatifs en lutte biologique. Nous pourrions considérer à partir de leurs performances sur ces deux traits, les souches PJ et ACJY144 par exemple qui présentent les fécondités les plus hautes et des longévités relativement grandes par rapport aux autres souches étudiées. Avec cette étude, nous avons notamment pu identifier un effet marqué de la présence d'œufs hôtes sur la longévité des femelles : en présence d'œufs à parasiter, leur longévité est significativement plus grande pour une grande partie des 17 souches. Nous n'avons pas, contrairement à ce qui est largement rapporté dans la littérature, mis en avant de compromis entre longévité et fécondité. Cela pouvant peut-être s'expliquer par le fait que les souches que nous avons étudiées témoignent effectivement d'une variabilité sur ces deux traits mais celle-ci demeure relativement faible.

Maintenant que cette première approche nous a permis d'avoir un aperçu de l'état de diversité du lot de souches de *T.cacoeciae* et de mettre en avant quelques caractéristiques utiles au développement de stratégies de lutte biologiques, je vous propose d'aborder dans le chapitre qui suit, une autre dimension d'évaluation pour la qualité des trichogrammes : leur capacité à se disperser. Comme nous l'avons vu en introduction, malgré le fait que ce critère est souvent mentionné comme élément indispensable à des performances satisfaisantes des trichogrammes sur le terrain, il demeure néanmoins moins évalué ou traité de façon plus secondaire.

Ce chapitre s'organise en trois parties, chaque partie étant dédiée aux résultats d'une échelle en particulier.

Je commencerai par présenter les résultats obtenus à la petite échelle sous la forme d'un article qui sera soumis ultérieurement et qui concerne les résultats de 2021. Les résultats de 2022 viendront clôturer cette partie en étant résumés à l'extérieur de cet article avec les figures associées annexées au chapitre. Puis je continuerai avec les résultats concernant l'arène en double spirale. D'abord j'aborderai des résultats techniques avec des illustrations biologiques préliminaires présentés dans Cointe *et al*, 2023 ayant été publié dans Scientific Reports. Ensuite, je reprendrai une partie hors article dédiée à quelques précisions quant à la qualité de suivi des individus dans cette arène. Ensuite, je rassemblerai l'ensemble des résultats obtenus en 2021 et en 2022.

Enfin, nous passerons aux résultats associés aux lâchers en serres, présentés eux aussi sous la forme d'un futur article.

I- Une caractérisation de proxies de la dispersion à micro-échelle

## **Article 2 : Variation in activity and movement across 17 strains of *Trichogramma cacoeciae* in relation to temperature and period of the day**

Cointe, M.<sup>a\*</sup>, Launay, M., Perez, G.<sup>a</sup>, Mailleret, L.<sup>ab</sup> & Calcagno, V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Université Côte d'Azur, INRAE, CNRS, Institut Sophia Agrobiotech, Sophia Antipolis, France

<sup>b</sup> Université Côte d'Azur, Inria, INRAE, CNRS, Sorbonne Université, Biocore, Sophia Antipolis, France

\*Author for correspondence: [melina.cointe@inrae.fr](mailto:melina.cointe@inrae.fr)

### **Introduction**

The use of natural enemies to control insect pests (Smith 1996) i.e., biological control is now a highly developed field of study. Indeed, it is one of the major strategies for reducing the use of pesticides in particular. The main challenge of such a biocontrol strategy is to select the best organisms to ensure effective control of the targeted pest. The traits on which these organisms are selected depend on what makes them interesting in terms of biological control. The issue of natural enemy selection can be exemplified by taking the example of one of the most widely used macro-organisms in biological control, the *Trichogramma sp.* (Marchand, 2020 ; Naïbo et Druesne, 2008). Individuals of the genus *Trichogramma* are egg parasitoids, so it is through the egg-laying activity of the females that the target pest can be controlled.

*Trichogramma* individuals derive their effectiveness in the field from their ability to efficiently parasitize pest eggs (van Lenteren, 1986). Consequently, for parasitoid organisms such as *Trichogramma sp.*, selection is essentially based on the ability of the species to parasitize and develop in the target host egg, the appeal of the species to a selected host egg, the total host egg mortality caused by parasitism and the longevity of the females (Cascone *et al.*, 2015 ; Knutson, 1998 ; Lundgren et Heimpel, 2003 ; van Lenteren, 1986). These criteria are well known and most commonly used but are not always suitable for confidently selecting the best biocontrol agents (Gariépy *et al.*, 2015). Indeed, when we talk about *Trichogramma*

individuals releases, we often refer to a quantity to be released for a given surface area. This finally brings us to another important trait for the selection of biocontrol agents: dispersal (Pak, 2003), the definition of which is far from consensual (Pielou, 1981 ; Ronce, 2007). Here we address the following definition: the spatial spread of individuals which may have consequences for reproduction, and gene flow.

Dispersal, or mobility, is often cited as a key element in the effectiveness of parasitoids as *Trichogramma* individuals (Cronin et Reeve, 2005 ; Hawlitzky, 1982 ; Hegazi *et al.*, 2012 ; Oliveira *et al.*, 2020 ; Van Driesche *et al.*, 2008). Indeed, while their performance depends on their ability to parasitize pests' eggs, before they can be parasitized, they have to be found, and this can only be ensured by satisfactory dispersal (Murdoch *et al.*, 1985 ; Vandermeer, 1995). In this way, the area to be treated is well covered by the *Trichogramma* individuals released in the field, and the workload for farmers can also be reduced (Ponce *et al.*, 2022 ; Wang *et al.*, 2022).

But despite its acknowledged importance, it remains less studied, or at least not as a priority. Indeed, the dispersal of such small individuals as micro-wasps is difficult to measure in a straightforward way, using direct tracking methods that can now be placed on larger insects such as bees (Mascanzoni et Wallin, 1986). For very small natural enemies, the whole monitoring process is more time-consuming, due to the need to indirectly determine the distances covered via the state, parasitized or not, of sentinel eggs. As a result, dispersal is often studied as a side issue. Selection on search ability is only made on strains previously selected on other traits such as longevity, fecundity, or host acceptance (Liu, Smith 2000; Steidle, Rees, Wright 2001). One solution to this problem is to develop proxies for dispersal that can be measured in the laboratory. This is increasingly being done via the development of so-called ethoscopes, i.e. machines for high-throughput analysis of behavior (Geissmann *et al.*, 2017). The idea is to couple an arena system, in which organisms of interest are observed, with tracking devices such as cameras. In the context of movement, the proxies evaluated in this way are typically speed, sinuosity of movement, surface explored, or activity rate (Bigler *et al.*, 1988 ; Suverkropp *et al.*, 2001 ; Wajnberg et Colazza, 1998).

Finally, as well as being difficult to measure, dispersal is also highly sensitive to multiple factors, such as temperature, humidity, atmospheric pressure and others (Keller, 1987 ; Osborne *et al.*, 2002). For example, walking speed increased linearly with temperature in *T. brassicae* for values between 12 and 25°C, being twice as high at 25 than at 12°C. Walking activity is



rather low below 20°C (Boldt, 1974). Similar positive effects on walking distances or search rates were observed in *T.semifumatum*, *T.evanesceus* and *T.minutum* (Biever, 1972). Trichogramma individuals are also subject to a circadian cycle such that the transition from night to day, accompanied by an increase in temperature, leads to an increase in their activity (movement and oviposition) (Karpova et Reznik, 2002 ; Pompanon *et al.*, 1999). In the light of this, it is interesting, knowing that dispersal is a key point of Trichogramma individuals' efficacy but that it is also influenced by many factors, to report them. This would enable the setting of experimental designs that take them into account. Also, the factors that influence the dispersal of Trichogramma individuals could be engineered in a way that suits the objectives of biological control. In order to study these different factors, it is ideal to be able to work with many strains or species in order to (1) measure the impact of these factors on these strains/species (2) to see which strains actually perform best under these experimental conditions. Indeed, in breeding programs, it is necessary to work with sufficient genetic variability and to be able to effectively distinguish between different phenotypes and possibly implement selection. Given this, one could only keep the most satisfactory variants (Thomas et Willis, 1998).

To this end, we conducted experiments on 17 strains of *Trichogramma cacoeciae*, an asexual species. This species of Trichogramma mainly attacks tortricid eggs such as *Cydia pomonella* or *Lobesia botrana* (Cross *et al.*, 1999 ; Mansour, 2019). We video-tracked groups of each strain in experimental arenas, under different experimental conditions. We considered different temperatures and different periods of the day, in order to identify some of the factors explaining variations in movement and activity: speed, activity rate, and sinuosity which may ultimately have an impact on dispersal. We also sought to identify groups of strains with consistent differences in the above traits.

## **Materials and methods**

### ***Insects***

#### *Presentation of the 17 strains of T.cacoeciae*

We worked with 17 strains of *Trichogramma cacoeciae* that were sampled in France, between 1987 and 2016 supplied by the INRAE biological resource centre “EggParasitoids Collection” (CRB EP-Coll, Sophia Antipolis) (Table 1).

Strain	Sampling Location	Sampling Plant	Sampling year
ACJY144	Aime, France	Ash tree	2015
BL103b	Le Change	Primrose	2016
CAS052	Castellane	Boxwood	2016
Citron	Grasse	Lemon tree	2012
FLO064	Montmejean	Broom	2016
FLO239	Le Crouzet	Rose bush	2016
GOT0130	Gotheron	Apple tree	2016
ISA1067	France	Broom	2015
ISA1075	Maurice de Beynost	Plum tree	2015
MES008	Beaumat	Maple tree	1987
PJ	France	Laboratory strain	1987
PMBIO1	France	Unknown	2014
PPI073	Sophia Antipolis	Unknown	2016
PUG233	La Pugère	Apple tree	2015
TCMz	France	Unknown	1987
TCVigne	France	Unknown	1987
TSM008	Tours sur Meymont	Apple tree	2015

**Table 1.** Information on the 17 strains used in the results section: their name, their sampling location, the plant on which they were captured and their sampling year.

#### *Laboratory mass-rearing of T. cacoeciae*

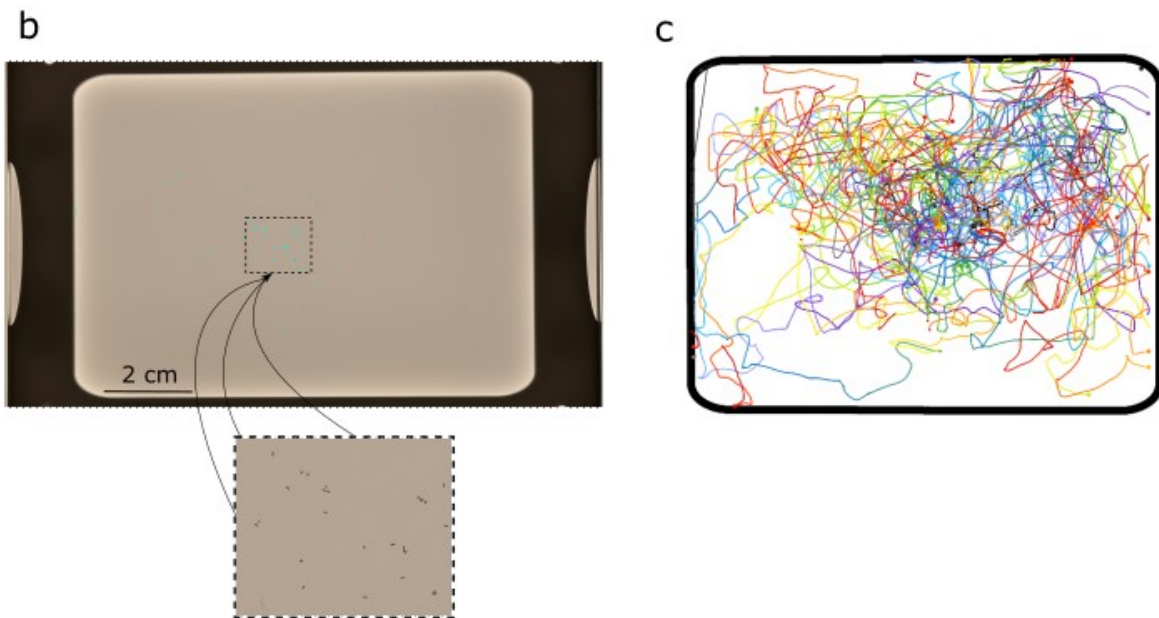
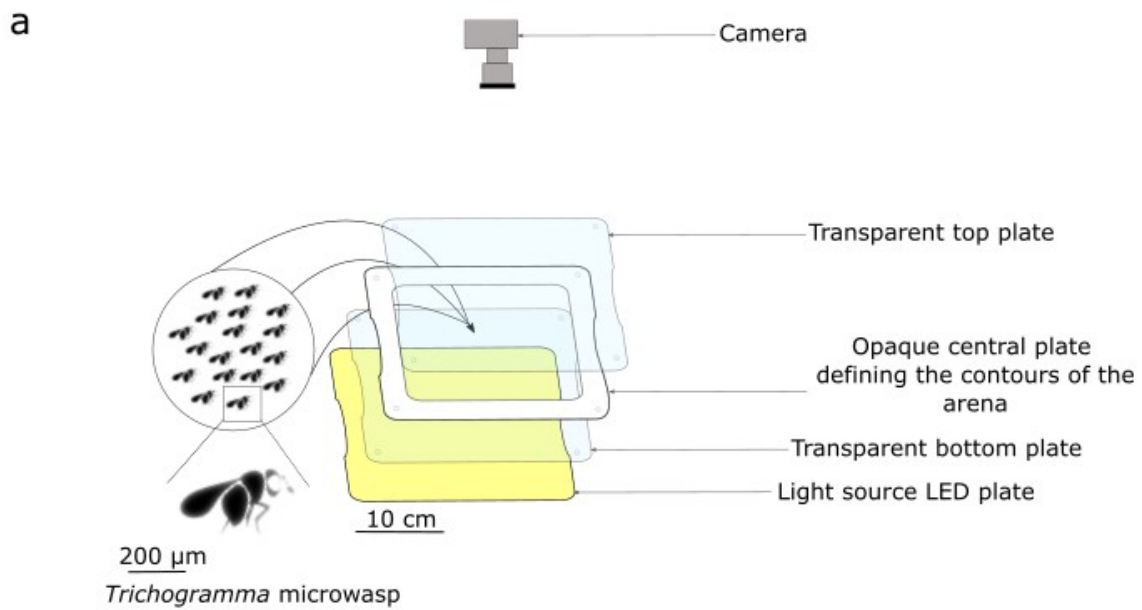
Trichogramma individuals were reared on the surrogate host *E. Kuehniella*. Irradiated eggs of *E. Kuehniella* supplied by Bioline Agrosiences were stored at  $3 \pm 1^\circ\text{C}$ , RH  $75 \pm 5\%$ . This stock of eggs was renewed every week. There were then attached on cardboard, strips (4.5cm x 1cm) with  $\frac{1}{3}$  of transparent Rubafix glue without solvent +  $\frac{2}{3}$  of distilled water so that Trichogramma females could lay their eggs on this cardboard. We had four batches (one for

each day of experimentation) of the seventeen strains tested in order to have emerging females the day before each experiment. The *Trichogramma* females were reared on 14 days cycles: 6,5 days at  $18 \pm 1^\circ\text{C}$  and 7.5 days at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12:12 h L:D photoperiod and  $70\% \pm 10\%$  RH.

### *Arena trials*

The experiments were conducted in a 11x14.5-centimetre arena, made of two transparent plexiglass plates of 24.4 x17.8x0.5 cm surrounding a frame of the same size 0.5cm thick (Fig.1). The first plexiglass plate is glued to the frame, which provides the base of the arena. The experiments consisted in the introduction of groups of about 40 24-hour-old females into the centre of the arena. The arena was then closed, and the females were free to move around inside the arena for 5 minutes. The arena was filmed from above (45cm height) using a camera (NIKON Z6; settings: ISO100, F18, 1/100). The small arena was placed on a luminous plate providing a back illumination of about 20,000 Lux, equivalent to a blue sky in the middle of the day (Sève, 2009). During the day, the humidity was stable at about 30%. After 5 minutes, the video was stopped, and the system was cleaned with 70% ethanol. The arena was then left to air and another one was used.

One day of experimentation consisted of a group of 4 strains, with one replicate per strain in the morning at  $24^\circ\text{C}$ , one replicate in the morning at  $28^\circ\text{C}$  and the same in the afternoon. This was repeated over four consecutive days, leading to 4x2 experiments per strain. The 17 strains were studied over a total time period of one month and a half. Indeed, sometimes experiments had to be postponed. In the morning, the experiments were conducted between 9am and 11:30am. In the afternoon, the experiments were conducted between 2pm and 15:30pm. The two working temperatures were obtained in the following way: the luminous plate was switched one hour and a half before the experiment until it stabilized at a temperature of  $28^\circ (\pm 0.5^\circ\text{C})$ . Once the experiments at 28 degrees were carried out, a small fan was activated until the plate stabilized at  $24^\circ\text{C}$ , after which the experiments at 24 degrees were performed. This procedure provided a sufficient control of temperature (Fig.S1).



**Figure 1.** (a) Scheme of the small-scale arena. Here, the small-scale arena is included in an experimental device equipped with a LED plate and a high-resolution camera. (b) Screenshot of an experimental video. In the center, illuminated from below, the area in which *Trichogramma* females can actually disperse. The rest of the image corresponds to the contours of the arena. A zoom on the individuals inside is shown. Otherwise, they have been pointed out by hand on the ImageJ software and appear on the image as small cyan dots. (c) Ctrax tracking image. Tracks appear in a colour gradient corresponding to the time at which they were detected. Here, the tracking corresponds to the strain “ISA1075” replicate of 13 04 21 performed in the morning at 28°C.

### *Video tracking*

The videos of these experiments were then analysed using the Ctrax tracking software (Branson et al., 2009) and the MoveR package (Petitjean, 2023) to compute the different dispersal proxies used: mean speed, activity rate, and sinuosity.

In Ctrax, after setting the parameters, the tracking was started. For a video of 5min, approximately two hours and a half were needed to achieve the tracking. At the end of tracking, the output data was saved in a .mat file. Automatic detections are matched by manual detections in Fig.S3. The average detection rate obtained with Ctrax is 77%.

The first step of the analysis is to define the filtering parameters which will be used to clean the data. Two filters were used, one on the size of detections and the other on maximum speed, from the package MoveR (Petitjean, 2023) . The filter on speed is defined based on the 99th percentile of the individuals' speed. The filter on individuals' size is defined such that only particles whose size is within the 95% confidence interval of the detected particles size are kept.

The movements of *Trichogramma* individuals was described using three different variables, proxies of dispersal: the average speed when active, the activity rate, and the sinuosity of trajectories when active, computed in R with the package MoveR (Petitjean, 2023).

The activity rate corresponds to the proportion of time that individuals spend moving actively. It is calculated thanks to the *actives2* function in MoveR (Petitjean, 2023) which uses density-based clustering to classify active and inactive by using the position of the detections in a two dimensions array with the speed and the angle variance.

The mean sinuosity is a metric which reflects the straightness of a path and is a function of the mean cosine of turning angles and step length. It varies between 0 (straight) and 1 (highly curved) (Benhamou, 2004 ; McLean et Volponi, 2018).

## ***Statistical analyses***

### *Univariate analysis*

In order to find out whether the different abiotic variables (temperature and the period of the day) have an effect on the dispersal proxies (activity rate, speed and sinuosity), we used generalized linear mixed models for each proxy, with the glmmTMB R package (version 1.1.2.3) (Brooks *et al.*, 2017). The fixed effects were: “strain”, “temperature” and “period of the day”, with their interactions (strain interacting with temperature and period of the day), and

the “number of individuals” introduced as a control covariate. A random structure with the variable “week” was added to control for week variability. Gaussian error distributions were used, either on the raw variables or after variable transformation. The quality of fits (normality and homogeneity of residuals) was checked with function *simulateResiduals* from package DHARMA (version 0.4.6) (Hartig, 2022). Results of these quality checks are presented in the supplementary material (Fig.S4). In order to obtain p-values associated with each tested variable, the *anova* function of the car package (version 3.0-12) (Fox et Weisberg, 2019) was used. In case of a significant effect, post-hoc tests were conducted with the *emmeans* package (version 1.7.0) (Lenth *et al.*, 2023). The p-values obtained with the posthoc tests performed with the *emmeans* function were corrected for multiple tests using the False Discovery Rate method (Storey, 2010), thanks to the "adjust" parameter in the *emmeans* function.

### *Multivariate analysis*

We sought to identify groups of strains that differed on the dispersal proxies. To do this, we first performed a Principal Component Analysis on the following twelve variables: MeanSpeed\_AM\_24; MeanSinuosity\_AM\_24; Activity\_Rate\_AM\_24; MeanSpeed\_AM\_28; MeanSinuosity\_AM\_28; Activity\_Rate\_AM\_28; MeanSpeed\_PM\_24; MeanSinuosity\_PM\_24; Activity\_Rate\_PM\_24; MeanSpeed\_PM\_28; MeanSinuosity\_PM\_28; Activity\_Rate\_PM\_28, reduced and centred. The PCA was performed with the PCA function of the FactoMineR package (Le *et al.*, 2008) and with the additional variable "strain". The graph of the variables with the barycentre of the values of the additional variable was obtained with the *explor* function of the explor package (Barnier, 2023). In order to study the possibility of grouping individuals according to their dispersal characteristics, we used the kmeans method with the *kmeans* function of the stats package (R Core Team, 2020). This method is a non-hierarchical clustering method, which is based on the minimization of the sum of the squared Euclidean distances between each object and the centroid of its cluster. In order to implement this method, it is necessary to determine the optimal number of clusters to constitute. To do this we used the function *fviz\_nbclust* from the package factoextra (Kassambara et Mundt, 2020) on the coordinates of the points on the first two components of the PCA. In the *fviz\_nbclust* function, we used the Elbow method, based on the minimisation of the sum of squares of the gaps within the clusters. To obtain the graph presented in Fig.5, we used the *fviz\_pca\_biplot* function, the *fviz\_cluster* function and *fviz\_add* function of the factoextra package (Kassambara et Mundt, 2020).

To complete the Principal Component Analysis, a Multivariate Analysis of Variance was performed on the following dependent variables: mean speed, activity rate, mean sinuosity as a function of the interaction between the strain, temperature, and time variables. The *Manova* function from the car package (Fox *et al.*, 2023) was used. Hypotheses have been verified. Only one linearity problem was noted. But this doesn't prevent us from using a MANOVA model, we'll just have a loss of statistical power.

## Results

The results showed that the different proxies of dispersal are significantly influenced by the intraspecific variability of the strains studied, the period of the day and/or the temperature. The p-values associated with the variables tested in the models are summarised in the table S1 in the supplementary material.

### **Do the different metrics studied differ across strains and experimental conditions?**

#### *Univariate analysis*

The three metrics studied differed significantly between strains. The global strain effect was significant for activity rate (DF = 16,  $p = 6.91e-3$ ), speed (DF = 16,  $p = 2.52e-14$ ) and sinuosity (DF = 16,  $p = 4.55e-5$ ). Nevertheless, strains cannot be distinguished in a general way on these metrics because the strain effect is involved in one or more interactions. Let's take a look at these.

The interaction between strain and the period of the day is significant for all three variables (Activity rate: DF = 16,  $p = 3.45e-2$ ; Speed: DF = 16,  $p = 5.52e-3$ ; Sinuosity: DF = 16,  $p = 1.80e-3$ ). This is also true for the three-way interaction between strain, period of the day and temperature (Activity rate: DF = 16,  $p = 1.29e-2$ ; Speed: DF = 16,  $p = 4.36e-3$ ; Sinuosity: DF = 16,  $p = 9.64e-3$ ).

For the activity rate, post-hoc tests revealed a significance of the effects described above, only for the strains CAS052, MES008 and PUG233, with significant differences between the values of the activity rate for the tested temperatures, in the morning or the afternoon, (Fig.2).

Despite significant global effects, posthoc tests revealed only a few significant pairwise differences, with no overall consistent pattern. Graphically, there does not seem to be a marked

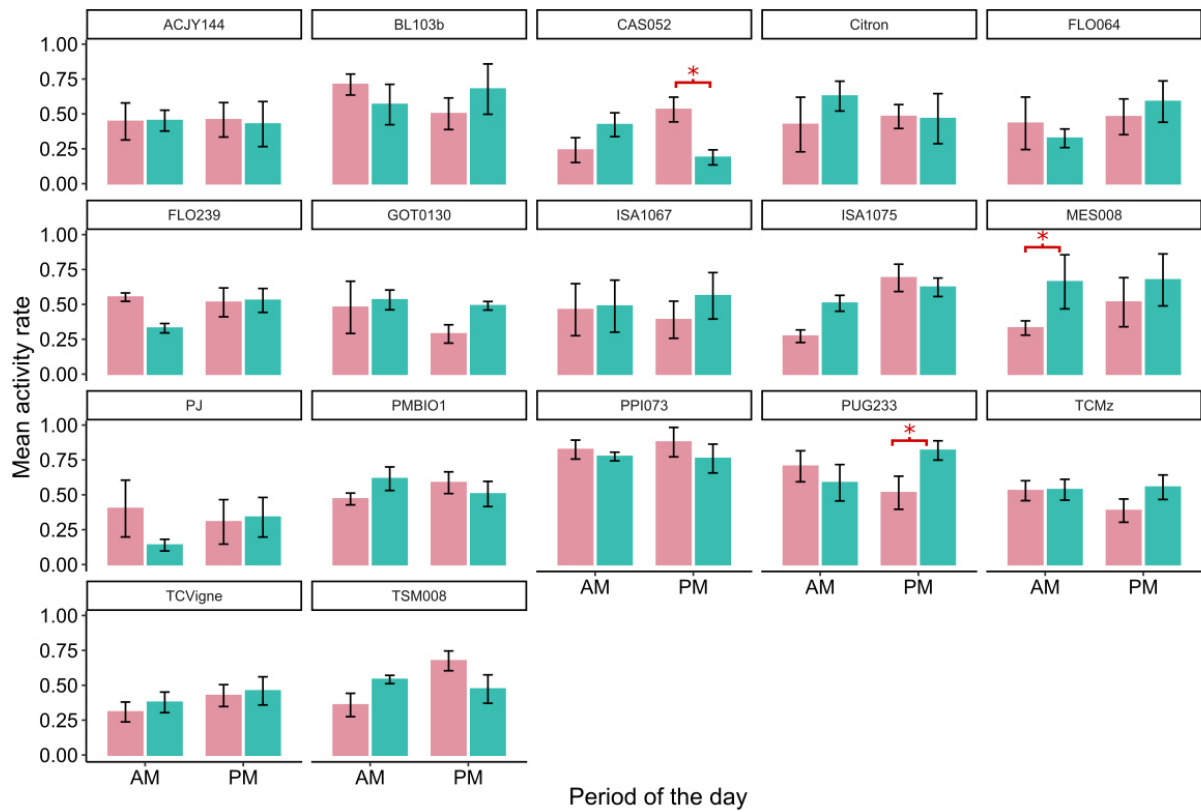


difference between the activity rate of strains in the morning and in the afternoon (Fig.2). The same conclusion seems to be valid also for the activity rates measured at 24°C and those measured at 28°C. Nevertheless, there are some strains for which at least in trend strong differences appear. For example, in the morning, the activity rates measured at both temperatures for CAS052, ISA1075, MES008, TSM008, Citron, PJ, FLO239 and BL103b were quite different. For the first five strains mentioned, the activity rate of the females is higher at 28°C. For the others, the opposite is true. In the afternoon, it is also possible to observe similar trends for certain strains, but they are less frequent than in the morning. This is again the case for CAS052 and TSM008, but also for PUG233 and GOT0130. For the first two, this time the activity rate is higher at 24°C in the afternoon. For the other two, the opposite is true.

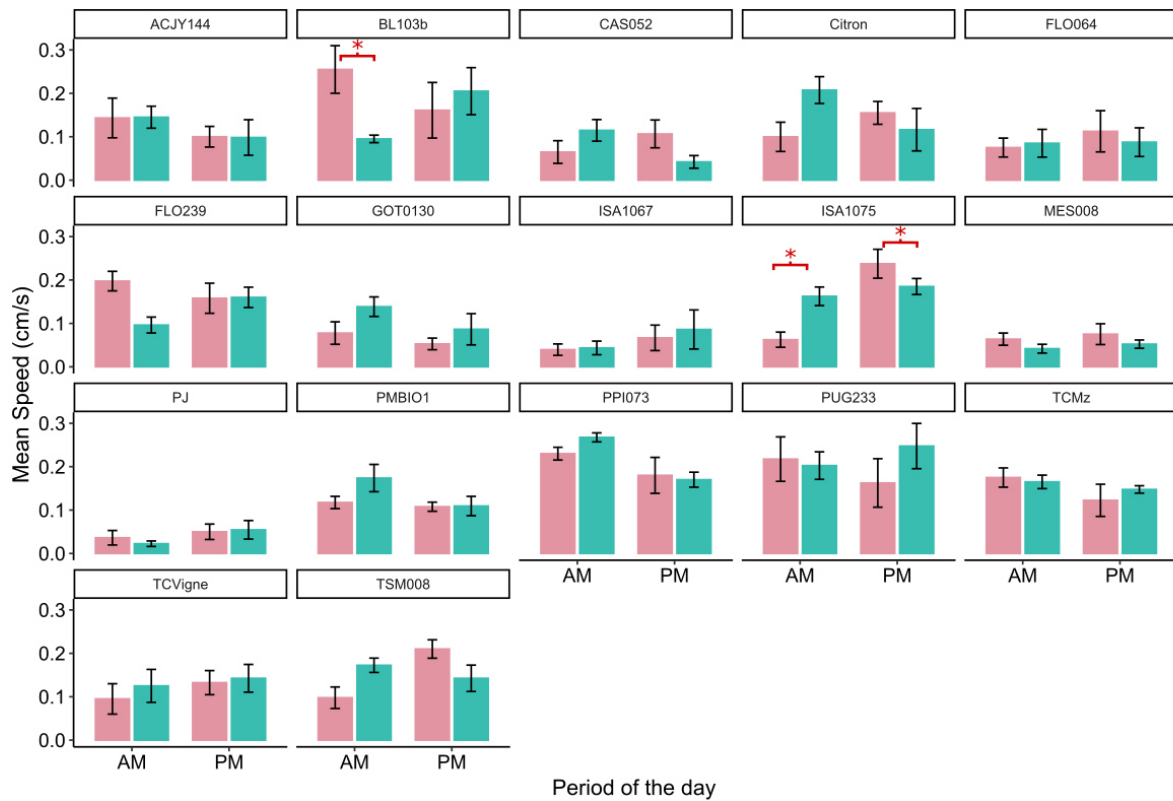
Regarding the speed, post-hoc tests revealed a significance of the effects described above, only for strains BL103b and ISA1075 (Fig.3). A priori, graphically, for the following four strains: CAS052, Citron, ISA1075 and TSM008, the speed is greater at 28°C in the morning (Fig.5). For the strains FLO239, BL103b, the opposite is true, the females moved faster at 24°C. In the afternoon, however, the differences in speed between the two temperatures were less frequent. They seem to be present for ISA1075, Citron and CAS052, with the same tendency to present greater speeds at 24°C than at 28°C. With the model, a significant effect of strains appears (DF = 16,  $p = 2.52e-14$ ).

Finally, for the sinuosity, post-hoc tests using the *emmeans* function, revealed a significance of the effects described above, only for the TCMz, PPI073 and BL103b strains (Fig.4) Sinuosity initially shows less variability than the other two proxies and less marked differences between the different modalities (Fig.4). Nevertheless, it is possible to identify some strains for which, at least in the initial trend, differences appear between the two temperatures tested, in the morning or in the afternoon. In the morning, for example, the sinuosity seems a little more marked for MES008 at 28°C. The strains PPI073 and TCMz show marked differences in the afternoon. For TCMz, the sinuosity is greater at 24°C in the afternoon. The opposite is true for PPI073. But even if the differences seem less marked, the model shows, as for the speed, a significant effect of the strains (DF = 16,  $p = 4.55e-5$ ).

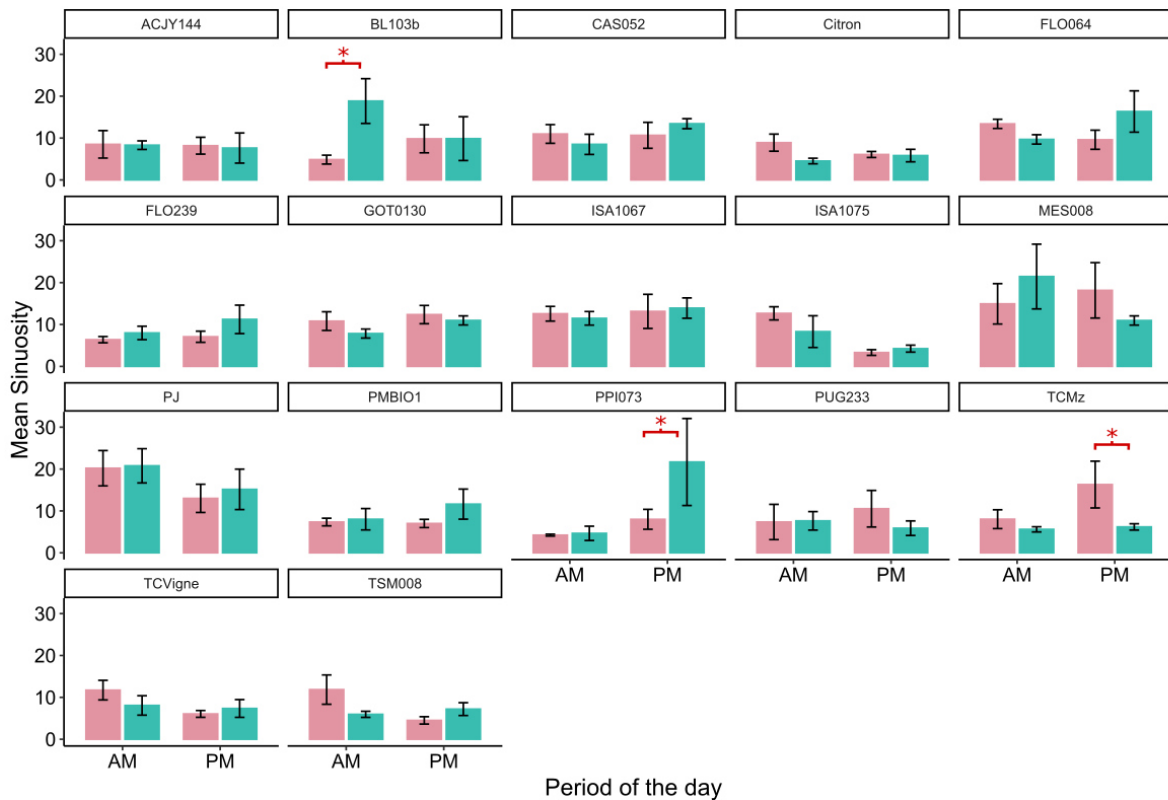




**Figure 2.** Figure showing the activity rate for each strain, period of the day and temperature. In pink, the activity rates measured at 24°C. In green, the activity rates measured at 28°C. The red stars correspond to significant differences according to the temperature for a given strain ( $p < 0.05$ ).



**Figure 3.** Figure showing the mean speed for each strain, period of day and temperature. In pink, the mean speed measured at 24°C. In green, the mean speed measured at 28°C. The red stars correspond to significant differences according to the period of time and the temperature for a given strain ( $p < 0.05$ ).



**Figure 4.** Figure showing the mean sinuosity for each strain, period of day and temperature. In pink, the mean sinuosity measured at 24°C. In green, the mean sinuosity measured at 28°C. The

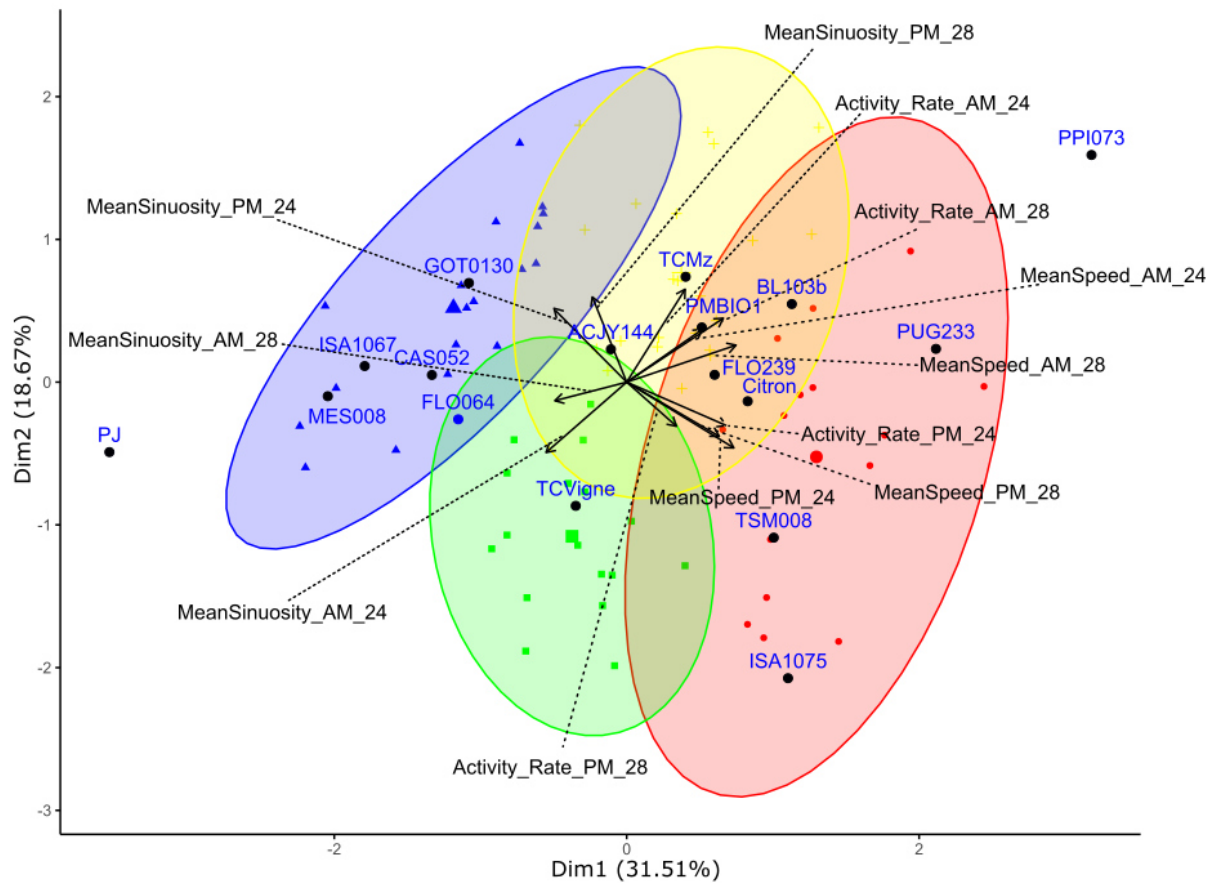
red stars correspond to significant differences according to the temperature for a given strain ( $p < 0.05$ ).

### *Multivariate analysis*

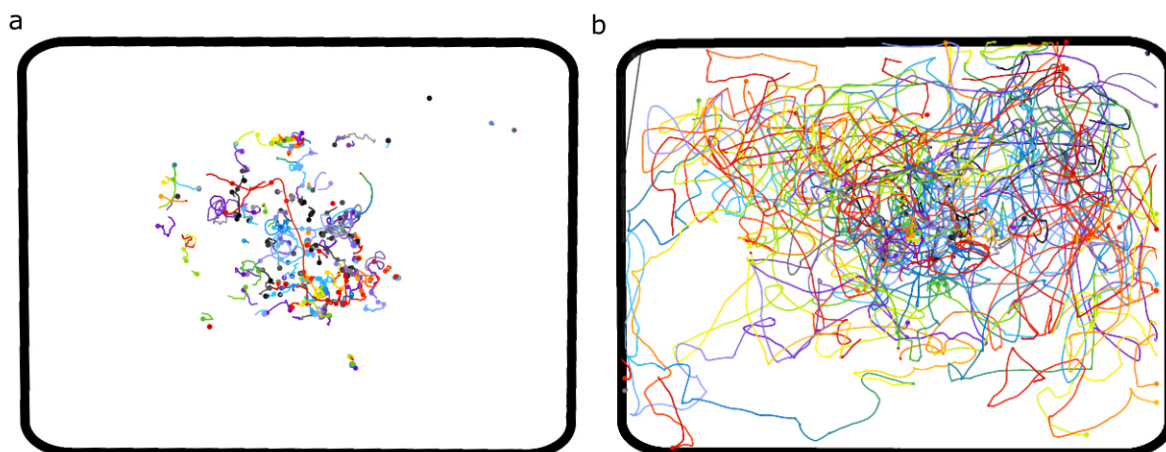
The first two dimensions of the PCA explain 50.2% of the variability present in the dataset (Fig.5). The analysis will be conducted according to these two dimensions. The first dimension separates the activity rate and speed variables from the sinuosity variable, without distinction on temperature. The second dimension seems to be more related to the period of the day. Indeed, it separates the morning from the afternoon. To go further, groups have been identified by the application of the k-means method. Is it possible to identify groups in these two dimensions? To answer this question the k-means method has been applied. Thus, in the upper right quarter of the PCA, a first group is identifiable as being characterised by a relatively higher activity rate and speed in the morning than in the afternoon, regardless of the temperature, such as PPI073, PUG233 or BL103b, according to the position of their barycentre (Fig.5). These trends do not show up so strongly graphically, especially for the activity rate (Fig.2). This may be due to greater variability in the afternoon results, which may prevent these differences between morning and afternoon results from showing up. But this grouping is confirmed graphically for the speed on the other hand on these same strains. In fact, the speed variables are better projected on the plane, hence the fact that these groups are indeed better identified graphically with this variable. The second group, which can be identified, is characterised by an activity rate and a speed that are rather higher in the afternoon than in the morning e.g., TSM008 and ISA1075. These two groups are characterised by their movements being less sinuous. The other two groups are at the opposite end of the spectrum. Thus, these two groups are not very different in terms of activity rates and speed but show more sinuous movements. Thus, the group in the lower left quarter is characterised by a more pronounced sinuosity of movement in the morning e.g., TCVigne and PJ. The opposite is true for the group in the upper left e.g., GOT0130. The trajectories of groups with marked sinuosity and those of groups with less sinuosity of movement are shown in Fig.6. It can be seen between the two figures Fig.6a and Fig.6b that the ISA1067 strain belonging to the category characterized by significant sinuosity does indeed have shorter, more angular trajectories and that the wider, straighter trajectories.

The fact that it is possible to distinguish groups of strains according to their response to the different temperatures tested and periods of the day studied, on the variables of speed,

sinuosity, and activity rate, is confirmed by the Multivariate Analysis of Variance, where the interaction of strain, temperature and time is significant ( $Df = 48, p = 3.7e-2$ ).



**Figure 5.** Principal Component Analysis. Activate rate, speed and sinuosity are represented according to the different temperature and period of the day tested, leading to twelve variables. The points, either blue, red, yellow, or green correspond to all the replicates coloured according to the group to which they belong, according to the k-means clustering method. We determined the optimal number of clusters to be equal to 4 (Fig.S5). The Ellipses of the k-means clusters have been drawn by using the `ellipses.type` parameter of the function `fviz_cluster` from the `factoextra` package (Kassambara et Mundt, 2020) with the “norm” type, assuming a multivariate normal distribution. The black dots with the names of the strains written in blue correspond to the barycentre of the strains.



**Figure 6.** Figure showing trajectories obtained from automatic tracking with Ctrax. Figure (a) shows all the trajectories obtained on 98.6% of the total data, obtained after filtering the replicate of May the 20<sup>th</sup> 2021, AM modalities (morning) and 28°C of the strain ISA1067 belonging to one of the two groups identified as having rather sinuous trajectories according to the PCA. Figure (b) shows all the trajectories obtained on 99% of the total data, obtained after filtering the replicate of April the 13<sup>th</sup> 2021, modalities AM (morning) and 28°C of the strain ISA1075 belonging to one of the two groups identified as having rather less sinuous trajectories according to the PCA.

## Discussion

We showed that the three dispersal proxies we studied were subject to effects of temperature, period of the day and also expressed intraspecific variability. These differences make possible to define groups of strains exhibiting similar behaviour with respect to these proxies, suggesting the following dichotomy: strains with high activity rates and movement speeds have rather straight movements, while slower and less active strains tend to have more sinuous movements. These results support the literature which suggests differences in movement especially in response to different surfaces. Often the more complex the surface, the more sinuous the movement of *Trichogramma* individuals (Lukianchuk et Smith, 1997 ; Olson et Andow, 2006). The general tendency is that for continuous and simple surfaces, *Trichogramma* individuals tend to have fast and rectilinear movements (Rabb et Bradley, 1968). However, here we worked with a single surface and found different responses between the strains. This suggests that these different strains display very different behaviours in the field and therefore may also show variable efficiencies. It's important to note that behaviours defined by a tendency to present a lower speed than congeners, but a greater sinuosity of movement, are very often associated with the appreciation of the environment by the individuals concerned, whether in animals (Gendron, 1986 ; Laube et Purves, 2011) or insects (Dejean et Benhamou,

1993). Indeed, as the environment is considered favourable, individuals tend to slow down to explore space, resulting in greater sinuosity. Here, the environment is not variable, individuals from the different strains either like it or not. Thus, it may appear suitable for some strains and less so for others i.e., the ones presenting greater sinuosity of movement and lower average speed than others. Finally, in the literature, it rarely appears that speed and sinuosity evolve in the same direction. This has been identified in some cases of chases between predator and prey (Barraquand et Benhamou, 2008). The behavioural differences identified here should be taken into consideration when devising strategies for biocontrol. This while bearing in mind that these responses may still vary, depending on the surfaces considered i.e., plants. That it is therefore not easy to conclude which behaviour is the most favourable for achieving the objectives of successful biocontrol. Indeed, we must ask ourselves what is meant by successful biocontrol? Is only the reduction in the level of infestation to be measured as a quality indicator? We might think that highly sinuous individuals would be more meticulous in their exploration of leaves, for example, and that the chances of discovering eggs to be parasitized would therefore be greater. But if the individual's movement is very sinuous, then individuals are not very fast, according to the results shown here. This would mean setting up a release design with lots of release points. The labour would then become more time and energy consuming. But this is one of the issues that makes dispersal a subject to think about in biocontrol. So, it might be better to consider a compromise between sinuosity and speed, but here again, it all depends on the plants, the surfaces to be treated, etc... Determining which profile is better than another is therefore not so obvious.

The effects of temperature and period of the day always appeared significant in interaction, and also in interaction with the strains on all proxies. The responses of the strains on these variables were thus different according to the modalities studied. This is in agreement with the literature: important intraspecific and even intrastain variations are often found on traits related to movement and dispersal (Van Hezewijk *et al.*, 2000). In our case, the period of the day alone did not appear to significantly explain the observed differences. In the literature, however, it often appears as an influencing factor on the activity rate or the average speed. For example, in *T.minutum* the movement speed peaks in the late morning and then tends to decrease (Van Hezewijk *et al.*, 2000). Similar results have been reported for other strains of *T. cacoeciae* (Pompanon *et al.*, 1994) and *T. brassicae* (Pompanon *et al.*, 1994, 1999) for example. Regarding the temperature, in the majority of cases, the activity rates and speeds were higher at 28°C, up to a twofold increase. These results are consistent with what is generally found in the literature.

For example, the walking speed of *Trichogramma brassicae* increases linearly with temperature for temperatures tested ranging from 12 to 25°C (Suverkropp *et al.*, 2001). Also, the distance travelled by *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma minutum* increased significantly with temperature from 20 to 35°C (Boldt, 1974). The same trend is obtained for *Trichogramma minutum* Riley, *T. evanescens* Westwood, *T. semifumatum* Perkins, and *Trichogramma* sp. and the rate of searching of the females (Biever, 1972), until 40°C for which the rate of searching decreases. Minimum temperatures were also identified as necessary for the onset of activity and therefore for the start of dispersal: for example, the mean threshold for walking for *Trichogramma turkestanica* is 10°C (Hansen, 2000). Also, *Trichogramma ostriniae* is inactive below 18°C and active above 20°C. A peak of activity between 11 a.m. and 6 p.m. i.e. until sunset has been identified (ZhenYing *et al.*, 2000). The variations in activity and sinuosity during the day, within a group of strains but also between the different groups identified, could reflect different strategies for exploiting the environment in order to successfully discharge their egg load (Pompanon *et al.*, 1999). In addition, it has been shown for other parasitoids that the greater the egg load, the greater the activity of the females (Collins et Dixon, 1986 ; Rosenheim et Rosen, 1991). These differences in activity can be further explained for the sexed strains. Indeed, in *T. brassicae*, it has been shown that once fertilised, females have a more intense locomotor activity, thus increasing the exploitation of the environment in order to find a host (Waage et Ming, 1984). On the other hand, before mating, they move little but the males are active, which increases the probability of encounter (Chiba *et al.*, 1992 ; Jones et Gubbins, 1978). Inspired by the increased movement activity of females once fertilized, it is therefore possible to hypothesize that for the asexual species studied here, the most active females may be those with a greater ovarian load with mature eggs than the others. The others could remain less active until they have more mature eggs (Barnay *et al.*, 1999). Other activity proxies have also been studied in relation to temperature and are also in line with our results. Indeed, flight propensity of *Trichogramma minutum* is significantly affected by temperature. At 25°C and 30 °C, between 70-80% of the parasitoids effectively flew, whereas at 15°C, an absence of flights has been observed (Forsse *et al.*, 1992). This last example of flight behaviour is interesting. Within the framework of the experiments that we have presented here, it is a behaviour that we cannot be interested in because the height of the arenas is too constraining for it to be expressed correctly. Nevertheless, *Trichogramma* individuals can perform little jumps.

The influence of temperature or period of the day on the proxies we have studied specifically speed and sinuosity is rarely studied. In the literature, the effect of temperature is



often focused on more classic traits such as parasitism performance. For instance, temperature affected the capacities of females *Trichogramma* to find and parasitise *E. kuehniella* eggs. Indeed, the percentage of parasitised host eggs and the percentage of leaves per plant with parasitised host eggs decreased at 15 and 20 °C compared to higher temperatures (Chen *et al.*, 2021). These findings may be the consequence of temperature effects on variables more directly related to movement such as activity rate or movement speed, impacting on dispersal which in turn may impact on parasitism performance at varying distances.

Finally, we can also look at the results we have put forward from an adaptive point of view. The effects of temperature or period of the day on variables related to *Trichogramma* individuals' locomotion and activity could be a consequence of natural environmental variations; such that females actively searching for hosts only when conditions are more favourable to find them (Saunders, 2002 ; Stark *et al.*, 1994). In the case of our study, the strains that were identified as belonging to the same group e.g., PPI073, PUG233 and BL103B do not come from similar environments. They were sampled from different plants (primrose, apple tree) and geographical areas with no apparent common characteristics. However, we could have expected that strains coming from the same plants could have been identified in the same groups of dispersal profiles. Their dispersal capacities could have evolved in relation to the plants on which a certain number of generations would have been spent since it is recognized that dispersal is context dependant (Fronhofer *et al.*, 2017). This might actually remind us of dispersal syndromes demonstrated on various organisms (Clobert *et al.*, 2009). Dispersal syndromes rely on the fact that various morphological, physiological, or behavioural traits are directly linked to dispersal propensities. It has also been proven that variations in environment for instance food availability can impact the phenotypes of individuals (body size, wings length, legs length) and by the end have consequences on dispersal performances (Cote *et al.*, 2022). Moreover, variations in morphology which impact movement performances have been demonstrated on *T. evanescens* (Lartigue *et al.*, 2022). But these thoughts about the explanation of the different behaviours from an adaptive point of view remain very hypothetical anyway since the ecological implications of such patterns are still poorly known.

These inter-strain variabilities identified on certain parameters relating to *Trichogramma* individuals' dispersal performance, such as speed, sinuosity of movement or activity rate, can be exploited by setting up release strategies using mixtures. It is not necessary to select one over another, but rather to take advantage of the complementary nature of the different profiles (Zang *et al.*, 2021).



## Data availability statement

Code and data to do the analysis and obtain the different figures obtained in this paper can be found at <https://forgemia.inra.fr/melina.cointe/variability-of-dispersal-for-17-strains-of-trichogramma-cacoeciae-in-relation-to-different-abiotic-conditions> with a Gnu general public license. The script has been used with R V 4.0.0 (2020-04-24) -- "Arbor Day".

## Acknowledgements

We warmly thank all the members of the “SoFAB” (the FabLab of Sophia Antipolis) who helped us to develop our small arena by sharing with us their knowledge and their know-how with the laser cutting machine. Fundings are from INRAE (SPE Department) and Université Côte d'Azur (UCA-JEDI; ANR-15-IDEX-01) which supported M. Cointe's PhD.

## Authors' contributions

MC, ML and VC designed the experiments. MC, and ML performed the experiments. MC, ML and VC analysed the data. MC wrote the manuscript with inputs from all authors.

## Conflict of interest disclosure

The authors declare no conflict of interest.

## References

- Barnay, O., Pizzol, J., Gertz, C., Kienlen, J. C., Hommay, G. et Lapchin, L. (1999). Host Density-Dependence of Discovery and Exploitation Rates of Egg Patches of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) by the Parasitoid *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Economic Entomology*, 92(6), 1311-1320. <https://doi.org/10.1093/jee/92.6.1311>
- Barnier, J. (2023, 29 avril). *explor: Interactive Interfaces for Results Exploration* (version 0.3.10). <https://cran.r-project.org/web/packages/explor/index.html>
- Barraquand, F. et Benhamou, S. (2008). Animal Movements in Heterogeneous Landscapes: Identifying Profitable Places and Homogeneous Movement Bouts. *Ecology*, 89(12), 3336-3348. <https://doi.org/10.1890/08-0162.1>
- Benhamou, S. (2004). How to reliably estimate the tortuosity of an animal's path: *Journal of Theoretical Biology*, 229(2), 209-220. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2004.03.016>

Biever, K. D. (1972). Effect of Temperatures on the Rate of Search by *Trichogramma* and Its Potential Application in Field Releases 2. *Environmental Entomology*, 1(2), 194-197. <https://doi.org/10.1093/ee/1.2.194>

Bigler, F., Bieri, M., Fritschy, A. et Seidel, K. (1988). Variation in locomotion between laboratory strains of *Trichogramma maidis* and its impact on parasitism of eggs of *Ostrinia nubilalis* in the field. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 49(3), 283-290. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1988.tb01190.x>

Boldt, P. E. (1974). Temperature, Humidity, and Host: Effect on Rate of Search of *Trichogramma evanescens* and *T. minutum* auctt. (not Riley, 1871)1,3. *Annals of the Entomological Society of America*, 67(4), 706-708. <https://doi.org/10.1093/aesa/67.4.706>

Branson, K., Robie, A. A., Bender, J., Perona, P. et Dickinson, M. H. (2009). High-throughput ethomics in large groups of *Drosophila*. *Nature methods*, 6(6), 451-457.

Brooks, M. E., Kristensen, K., Benthem, K. J. van, Magnusson, A., Berg, C. W., Nielsen, A., Skaug, H. J., Mächler, M. et Bolker, B. M. (2017). glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal*, 9(2), 378-400.

Cascone, P., Carpenito, S., Slotsbo, S., Iodice, L., Sørensen, J., Holmstrup, M. et Guerrieri, E. (2015). Improving the efficiency of *Trichogramma achaeae* to control *Tuta absoluta*. *Biocontrol*, 60, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9684-1>

Chen, L., Enkegaard, A. et Sørensen, J. G. (2021). Temperature Affects Biological Control Efficacy: A Microcosm Study of *Trichogramma achaeae*. *Insects*, 12(2), 95. <https://doi.org/10.3390/insects12020095>

Chiba, Y., Shinkawa, Y., Yoshii, M., Matsumoto, A., Tomioka, K. et Takahashi, S. Y. (1992). A comparative study on insemination dependency of circadian activity pattern in mosquitoes. *Physiological Entomology*, 17(3), 213-218. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1992.tb01013.x>

Clobert, J., Le Galliard, J.-F., Cote, J., Meylan, S. et Massot, M. (2009). Informed dispersal, heterogeneity in animal dispersal syndromes and the dynamics of spatially structured

populations. *Ecology Letters*, 12(3), 197-209. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01267.x>

Collins, M. D. et Dixon, A. F. G. (1986). The effect of egg depletion on the foraging behaviour of an aphid parasitoid. *Journal of Applied Entomology*, 102(1-5), 342-352. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1986.tb00932.x>

Cote, J., Dahirel, M., Schtickzelle, N., Altermatt, F., Ansart, A., Blanchet, S., Chaine, A. S., De Laender, F., De Raedt, J., Haegeman, B., Jacob, S., Kaltz, O., Laurent, E., Little, C. J., Madec, L., Manzi, F., Masier, S., Pellerin, F., Pennekamp, F., ... Legrand, D. (2022). Dispersal syndromes in challenging environments: A cross-species experiment. *Ecology Letters*, 25(12), 2675-2687. <https://doi.org/10.1111/ele.14124>

Cronin, J. T. et Reeve, J. D. (2005). Host–parasitoid spatial ecology: a plea for a landscape-level synthesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1578), 2225-2235. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3286>

Cross, J. V., Solomon, M. G., Babandreier, D., Blommers, L., Easterbrook, M. A., Jay, C. N., Jenser, G., Jolly, R. L., Kuhlmann, U., Lilley, R., Olivella, E., Toepfer, S. et Vidal, S. (1999). Biocontrol of Pests of Apples and Pears in Northern and Central Europe: 2. Parasitoids. *Biocontrol Science and Technology*, 9(3), 277-314. <https://doi.org/10.1080/09583159929569>

Dejean, A. et Benhamou, S. (1993). Orientation and foraging movements in a patchy environment by the ant *Serrastruma lujae* (formicidae-myrmicinae). *Behavioural Processes*, 30(3), 233-243. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(93\)90135-E](https://doi.org/10.1016/0376-6357(93)90135-E)

Forsse, E., Smith, S. M. et Bouchier, R. S. (1992). Flight initiation in the egg parasitoid *Trichogramma minutum*: Effects of ambient temperature, mates, food, and host eggs. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 62(2), 147-154. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1992.tb00654.x>

Fox, J. et Weisberg, S. (2019). *An R Companion to Applied Regression*, Third edition. Sage, Thousand Oaks CA. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>.

Fox, J., Weisberg, S., Price, B., Adler, D., Bates, D., Baud-Bovy, G., Bolker, B., Ellison, S., Firth, D., Friendly, M., Gorjanc, G., Graves, S., Heiberger, R., Krivitsky, P., Laboissiere, R., Maechler, M., Monette, G., Murdoch, D., Nilsson, H., ... R-Core. (2023, 30 mars). car:

Companion to Applied Regression (version 3.1-2). <https://cran.r-project.org/web/packages/car/index.html>

Fronhofer, E. A., Gut, S. et Altermatt, F. (2017). Evolution of density-dependent movement during experimental range expansions. *Journal of Evolutionary Biology*, 30(12), 2165-2176. <https://doi.org/10.1111/jeb.13182>

Gariepy, V., Boivin, G. et Brodeur, J. (2015). Why two species of parasitoids showed promise in the laboratory but failed to control the soybean aphid under field conditions. *Biological Control*, 80, 1-7.

Geissmann, Q., Garcia Rodriguez, L., Beckwith, E. J., French, A. S., Jamasb, A. R. et Gilestro, G. F. (2017). Ethoscopes: An open platform for high-throughput ethomics. *PLoS biology*, 15(10), e2003026.

Gendron, R. P. (1986). Searching for cryptic prey: evidence for optimal search rates and the formation of search images in quail. *Animal Behaviour*, 34(3), 898-912. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(86\)80076-8](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(86)80076-8)

Hansen, L. S. (2000). Development time and activity threshold of *Trichogramma turkestanica* on *Ephestia kuehniella* in relation to temperature. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96(2), 185-188. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2000.00694.x>

Hartig, F. (2022). DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. R package version 0.4.6. <https://CRAN.R-project.org/package=DHARM>.

Hartigan, J. A. et Wong, M. A. (1979). Algorithm AS 136: A K-Means Clustering Algorithm. *Applied Statistics*, 28(1), 100. <https://doi.org/10.2307/2346830>

Hawltzky, N. (1982). La lutte biologique à l'aide de Trichogrammes, (16).

Hegazi, E., Khafagi, W., Herz, A., Konstantopoulou, M., Hassan, S., Agamy, E., Atwa, A. et Shweil, S. (2012). Dispersal and field progeny production of *Trichogramma* species released in an olive orchard in Egypt. *BioControl*, 57(4), 481-492. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9420-4>

- Jones, M. D. R. et Gubbins, S. J. (1978). Changes in the circadian flight activity of the mosquito *Anopheles gambiae* in relation to insemination, feeding and oviposition. *Physiological Entomology*, 3(3), 213-220. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1978.tb00151.x>
- Karpova, S. G. et Reznik, S. Ya. (2002). Interaction of exogenous factors (light and temperature) in their influence on the daily pattern of adult eclosion in *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *European Journal of Entomology*, 99(4), 427-436. <https://doi.org/10.14411/eje.2002.054>
- Kassambara, A. et Mundt, F. (2020). *factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses*. R package version 1.0.7. <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>.
- Keller, M. A. (1987). Influence of leaf surfaces on movements by the hymenopterous parasitoid *Trichogramma exiguum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 43(1), 55-59. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1987.tb02202.x>
- Knutson, A. *The Trichogramma manual*. 1998.
- Lartigue, S., Yalaoui, M., Belliard, J., Caravel, C., Jeandroz, L., Groussier, G., Calcagno, V., Louâpre, P., Dechaume-Moncharmont, F.-X., Malausa, T. et Moreau, J. (2022). Consistent variations in personality traits and their potential for genetic improvement in biocontrol agents: *Trichogramma evanescens* as a case study. *Evolutionary Applications*, 15(10), 1565-1579. <https://doi.org/10.1111/eva.13329>
- Laube, P. et Purves, R. S. (2011). How fast is a cow? Cross-Scale Analysis of Movement Data. *Transactions in GIS*, 15(3), 401-418. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9671.2011.01256.x>
- Le, S., Josse et Husson, F. (2008). *FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis*. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1-18. 10.18637/jss.v025.i01.
- Lenth, R. V., Buerkner, P., Giné-Vázquez, I., Herve, M., Jung, M., Love, J., Miguez, F., Riebl, H. et Singmann, H. (2023, 17 janvier). *emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means (version 1.8.4-1)*. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>
- Lukianchuk, J. L. et Smith, S. M. (1997). Influence of plant structural complexity on the foraging success of *Trichogramma minutum*: a comparison of search on artificial and foliage

models. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 84(3), 221-228.  
<https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1997.00219.x>

Lundgren, J. G. et Heimpel, G. E. (2003). Quality assessment of three species of commercially produced *Trichogramma* and the first report of thelytoky in commercially produced *Trichogramma*. *Biological Control*, 26(1), 68-73. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00117-2](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00117-2)

Mansour, M. (2019). Development and reproduction of *Trichogramma cacoeciae* Marchal, 1927 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Cydia pomonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Tortricidae) eggs, 88(1), 25-39. <https://doi.org/10.2478/pjen-2019-0003>

Marchand, P. (2020). Macroorganismes de biocontrôle en France, état des lieux, 79, 425-439.

Mascanzoni, D. et Wallin, H. (1986). The harmonic radar: a new method of tracing insects in the field. *Ecological Entomology*, 11(4), 387-390. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1986.tb00317.x>

McLean, D. J. et Volponi, M. A. S. (2018). trajr: An R package for characterisation of animal trajectories. *Ethology*, 124(6), 440-448. <https://doi.org/10.1111/eth.12739>

Murdoch, W., Chesson, J. et Chesson, P. (1985). Biological Control in Theory and Practice. *The American Naturalist*, 125, 344-366. <https://doi.org/10.1086/284347>

Naïbo, B. et Druésne, C. (2008). Luttés alternatives : Les trichogrammes au secours du maïs | Ecophytopic. <https://ecophytopic.fr/pic/proteger/luttés-alternatives-les-trichogrammes-au-secours-du-maïs>

Oliveira, R. C. M., Pastori, P. L., Barbosa, M. G., Pereira, F. F., Melo, J. W. S. et André, T. P. (2020). Dispersal of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in cabbage, cucumber, and sweet corn. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92(suppl 1), e20190412. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020190412>

Olson, D. M. et Andow, D. A. (2006). Walking pattern of *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera; Trichogrammatidae) on various surfaces. *Biological Control*, 39(3), 329-335. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.08.018>

Osborne, J., Loxdale, H. et Woiwod, I. (2002). Monitoring insect dispersal: methods and approaches. [/paper/Monitoring-insect-dispersal%3A-methods-and-approaches-Osborne-Loxdale/3a4e69a3736f5e1ba47cb2556c35d63fbf1ac765](#)

Pak, G. A. (2003). Inundative Release of *Trichogramma* for the Control of Cruciferous Lepidoptera: Preintroductory Selection of an Effective Parasitoid, 12.

Petitjean, Q. (2023). PETITJEAN Quentin (2023) MoveR: An R package to ease animal movement analyses. R package version 0.0.0.9000.

Pielou, E. C. (1981). Crosscurrents in Biogeography: Vicariance Biogeography. A Critique. Papers from a symposium, May 1979. Gareth Nelson and Donn E. Rosen, Eds. Columbia University Press, New York, 1981. xviii, 594 pp., illus. \$35. Science, world. <https://doi.org/10.1126/science.213.4505.324>

Pompanon, F., Fouillet, P. et Bouletreau, M. (1994). Locomotor behaviour in females of two *Trichogramma* species: description and genetic variability. Dans Norwegian Journal of Agricultural Sciences (Norway). Norges Landbrukshoegskole - Fagtjenesten. [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Locomotor+behaviour+in+females+of+two+Trichogramma+species%3A+description+and+genetic+variability&author=Pompanon%2C+F.&publication\\_year=1994](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Locomotor+behaviour+in+females+of+two+Trichogramma+species%3A+description+and+genetic+variability&author=Pompanon%2C+F.&publication_year=1994)

Pompanon, F., Fouillet, P. et Bouletreau, M. (1999). Physiological and genetic factors as sources of variation in locomotion and activity rhythm in a parasitoid wasp (*Trichogramma brassicae*). *Physiological Entomology*, 24(4), 346-357. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3032.1999.00150.x>

Ponce, F. da S., Oliveira, M. D. de, Toledo, C. A. de L., Oliveira, L. A. de, Silva, W. R. M. da, Júnior, S. S. et Oliveira, R. C. de. (2022). Dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em cultivos de couve e repolho. *Comunicata Scientiae*, 13, e3834-e3834. <https://doi.org/10.14295/cs.v13.3834>

R Core Team. (2020). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>

Rabb, R. L. et Bradley, J. R. (1968). The Influence of Host Plants on Parasitism of Eggs of the Tobacco Hornworm<sup>12</sup>. *Journal of Economic Entomology*, 61(5), 1249-1252. <https://doi.org/10.1093/jee/61.5.1249>

Ronce, O. (2007). How Does It Feel to Be Like a Rolling Stone? Ten Questions About Dispersal Evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 38(1), 231-253. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095611>

Rosenheim, J. A. et Rosen, D. (1991). Foraging and Oviposition Decisions in the Parasitoid *Aphytis lingnanensis*: Distinguishing the Influences of Egg Load and Experience. *The Journal of Animal Ecology*, 60(3), 873. <https://doi.org/10.2307/5419>

Saunders, D. S. (2002). *Insect Clocks*. Elsevier.

Sève, R. (2009). *Science de la couleur ; aspect physique et perceptif - Robert Sève - Chalagam - Grand format - Librairie Gallimard PARIS (Chalagam)*. <https://www.librairie-gallimard.com/livre/9782951960756-science-de-la-couleur-aspect-physique-et-perceptif-robert-seve/>

Smith, S. (1996a). Biological Control with *Trichogramma*: Advances, Successes, and Potential of Their Use. *Annual review of entomology*. Vol. 41, 41, 375-406. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.41.1.375>

Stark, J. D., Vargas, R. I. et Walsh, W. A. (1994). Temporal synchrony and patterns in an exotic host-parasitoid community. *Oecologia*, 100(1), 196-199. <https://doi.org/10.1007/BF00317147>

Storey, J. D. (2010). Princeton University, Princeton, USA.

Suverkropp, B. P., Bigler, F. et Lenteren, J. C. V. (2001). Temperature influences walking speed and walking activity of *Trichogramma brassicae* (Hym., Trichogrammatidae). *Journal of Applied Entomology*, 125(6), 303-307. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2001.00546.x>

Thomas, M. B. et Willis, A. J. (1998). Biocontrol—risky but necessary? *Trends in Ecology & Evolution*, 13(8), 325-329. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01417-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01417-7)

Van Driesche, R., Hoddle, M. et Center, T. (2008). *Control of Pests and Weeds by Natural Enemies: an introduction to biological control*. Blackwell Publishing.



Van Hezewijk, B. H., Bouchier, R. S. et Smith, S. M. (2000). Searching Speed of *Trichogramma minutum* and Its Potential as a Measure of Parasitoid Quality. *Biological Control*, 17(2), 139-146. <https://doi.org/10.1006/bcon.1999.0785>

Vandermeer, J. (1995). The Ecological Basis of Alternative Agriculture. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 26(1), 201-224. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.26.110195.001221>

van Lenteren, J. (1986). Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. *Biological Plant and Health Protection. Series on Progress in Zoology*, 32, 31-56.

Waage, J. K. et Ming, N. S. (1984). The Reproductive Strategy of a Parasitic Wasp: I. Optimal Progeny and Sex Allocation in *Trichogramma evanescens*. *Journal of Animal Ecology*, 53(2), 401-415. <https://doi.org/10.2307/4524>

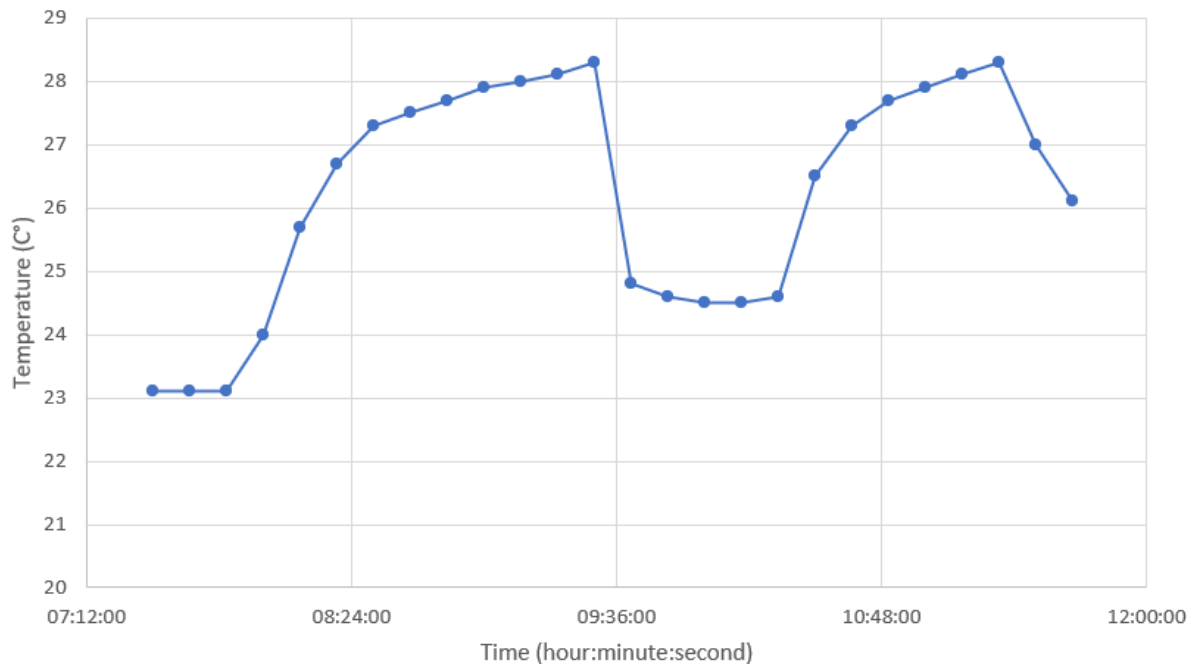
Wajnberg, E. et Colazza, S. (1998). Genetic variability in the area searched by a parasitic wasp: analysis from automatic video tracking of the walking path. *Journal of Insect Physiology*, 44(5), 437-444. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(98\)00032-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(98)00032-8)

Wang, Y., Hou, Y.-Y., Benelli, G., Desneux, N., Ali, A. et Zang, L.-S. (2022). *Trichogramma ostrinae* Is More Effective Than *Trichogramma dendrolimi* As a Biocontrol Agent of the Asian Corn Borer, *Ostrinia furnacalis*. *Insects*, 13(1), 70. <https://doi.org/10.3390/insects13010070>

Zang, L.-S., Wang, S., Zhang, F. et Desneux, N. (2021). Biological Control with *Trichogramma* in China: History, Present Status, and Perspectives. *Annual Review of Entomology*, 66(1), 463-484. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-060120-091620>

ZhenYing, W., DaRong, Z. et Hassan, S. A. (2000). The dispersal distance and activity rhythm of *Trichogramma ostrinae* in greenhouse. *Acta Phytopylacica Sinica*, 27(1), 17-22.

## Supplementary material



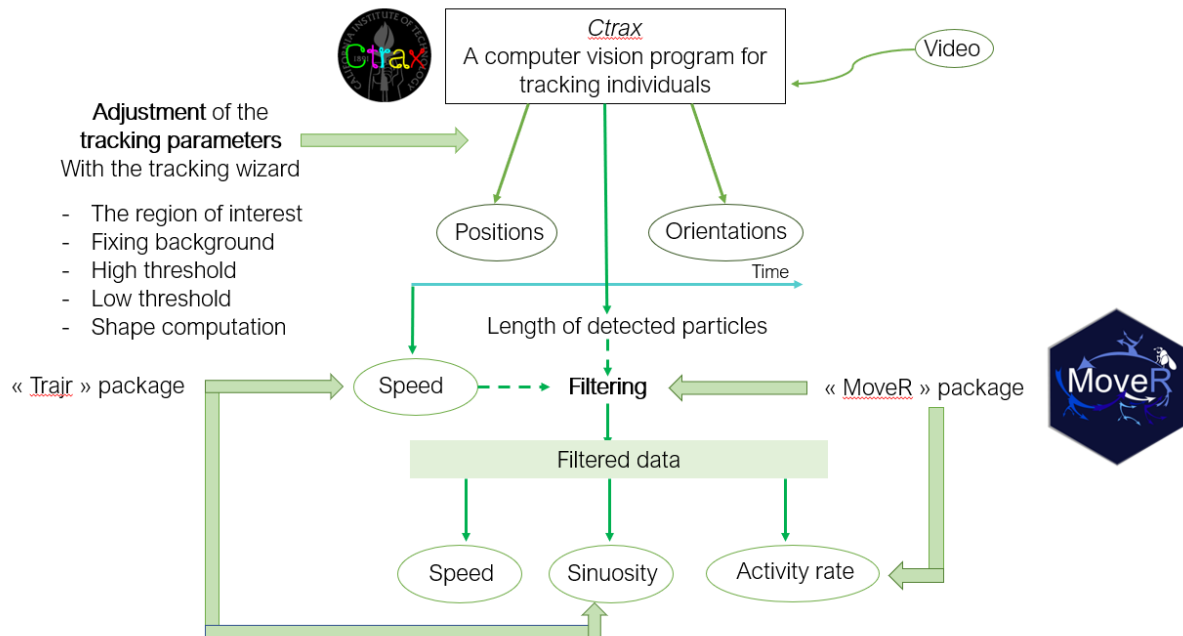
**Figure S1.** Graph showing the evolution of the temperature as a function of time, in contact with the bottom plate of the small arena. On this graph we can see the two experimental temperature plateaus: 24.5°C and 28.2°C. The measurements were made every 10 minutes.

### *Tracking video with Ctrax*

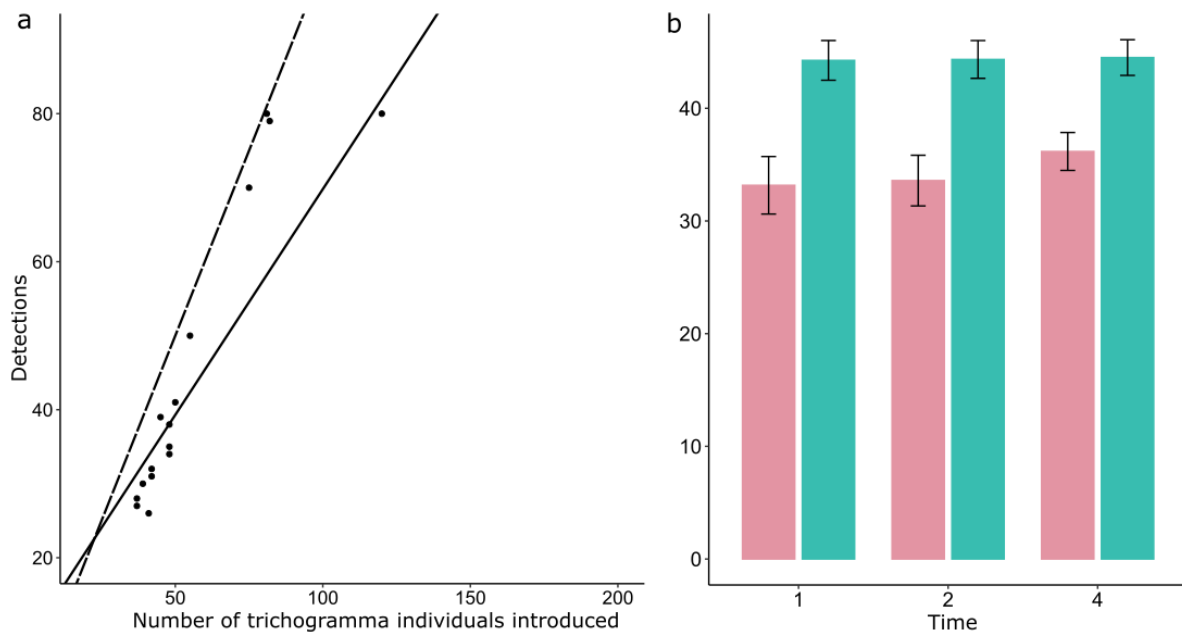
The definitions of Ctrax tracking parameters are presented here and Ctrax functioning is illustrated in Fig.S2.

1. The tracking type: choose between dark individuals on a light background or light individuals on a dark background. In the case of olfactometry experiments, trichograms are dark individuals on light background.
2. The region of interest: it allows to precisely define the zone which must be studied in order not to waste tracking power. For the conducted experiments, it has been defined manually to match the arena's particular shape.
3. Fixing background: this parameter is used to make sure that the individuals which do not move during the movie are not becoming part of the background. It allows the identification of "ghosts", particles which appear on the image, but which are not trichograms.
4. High threshold: set the minimum required brightness (distance from the background) in order to discriminate foreground pixels (the individuals) from the background. (High threshold was defined as 20).
5. Low threshold: this threshold determines the edges of each foreground component. The area surrounding each foreground pixel is also considered as foreground as long as it is above the low threshold. (Low threshold was defined as 7).

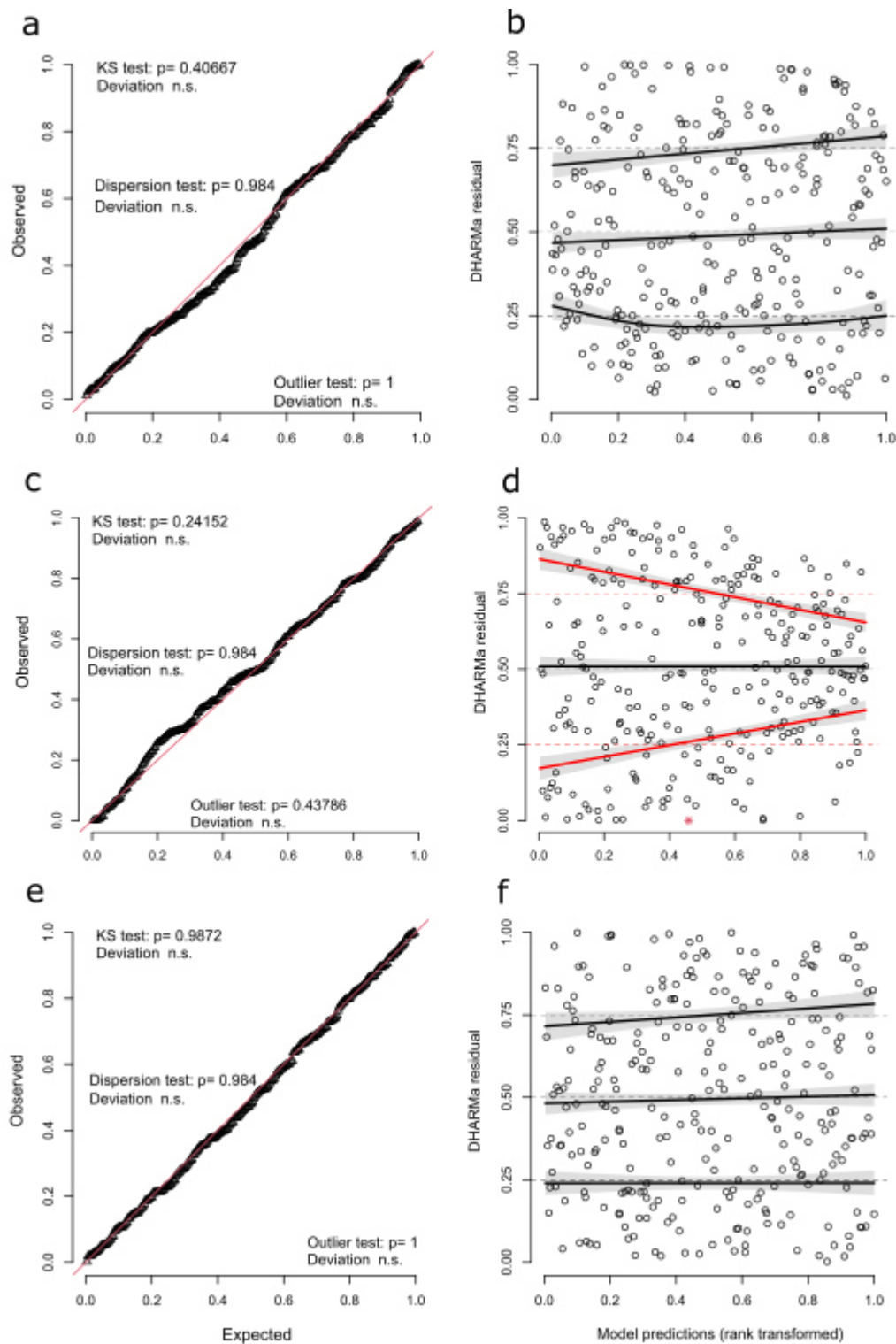
6. Shape computation: definition of the average and allowed variance in size. This parameter has not been manually set. The "Automatically Compute Bounds on Shape" option has been used.



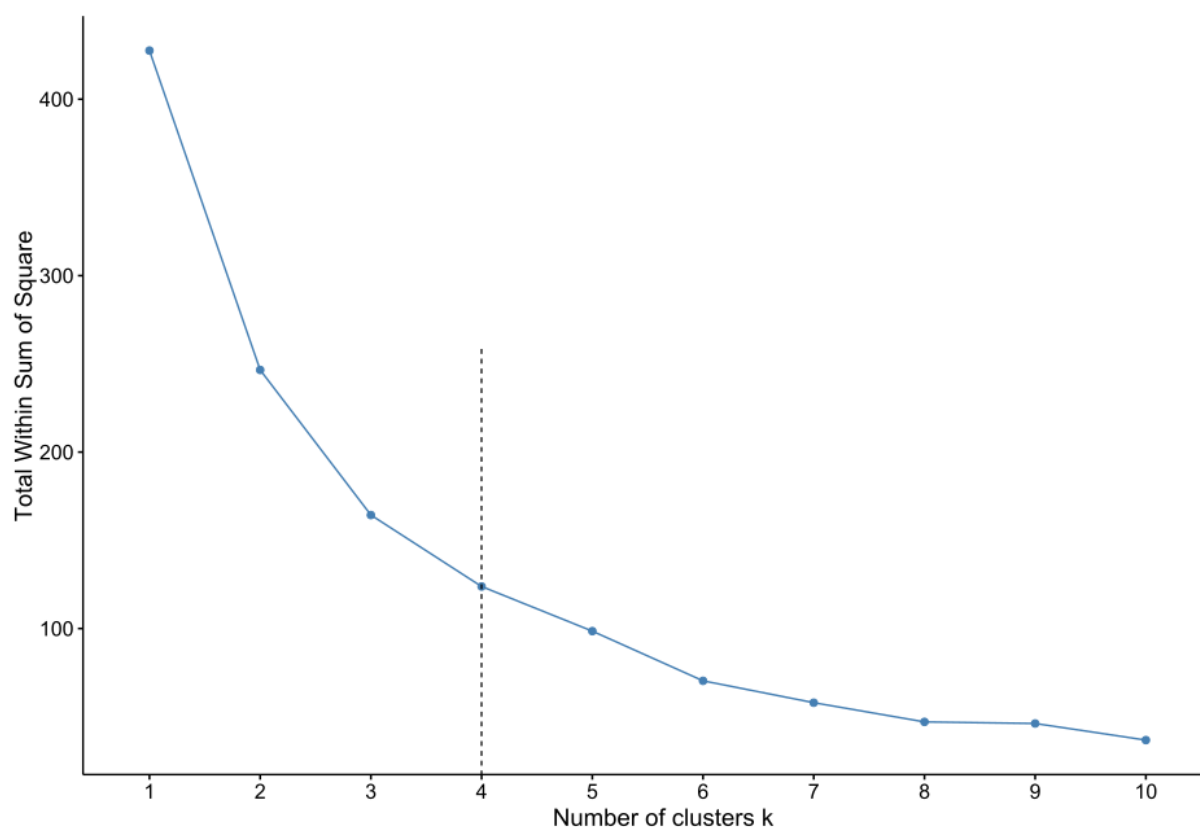
**Figure S2.** Diagram of the processing stages of the experimental videos obtained. The videos are first processed with the Ctrax tracking software (Branson et al., 2009). This tracking allows us to obtain the positions and orientations of the particles detected over time, as well as their size. With the TrajR package (McLean et Volponi, 2018), this information gives us access to the speed of the detected individuals. We are thus able to filter the detected particles on their size as well as on their speed, using the MoveR package. On the filtered data, we can then apply the different calculation algorithms of the TrajR and MoveR packages to access three proxies of dispersal: the activity rate, the speed, and the sinuosity.



**Figure S3.** (a) Representations of automatic detections obtained with Ctrax as a function of the number of individuals introduced. The dotted line represents the 1:1 bisector. The solid line represents the linear regression equation between the two metrics. However, as the hypotheses for linear regression were not verified, the associated p-value is not presented. Detections were measured on 16 replicates of the strain ISA1075, at three different times: 1min, 2min and 4 minutes. The detections obtained at these three times were then averaged. There is therefore one point per replicate. (b) Representations of detections by Ctrax and by eye at three different times (1min, 2min and 4 min) on the 10 replicates previously mentioned for figure (a). In pink, automatic detections. In green, detection by eye. The linear model for the number of detections explained by the type of detection (automatic or eye) in interaction with time indicates that the number of detections between automatic and eye-tracking modes are significantly different (DF = 1  $p = 2.622e-08$ ), whatever the time. There was no difference between the number of detections at different times ( $p > 0.05$ ).



**Figure S4.** The graphs above represent the results of the goodness-of-fit check obtained with the *simulateResiduals* function of the DHARMA package (Hartig, 2022). Graphs a, c and e represent the QQ plot, respectively for the activity rate, the speed, and the sinuosity models. Graphs b, d, and f represent the residuals against the predicted value, respectively for the activity rate, the speed, and the sinuosity models.



**Figure S5.** Graph associated with the Elbow method. On the ordinate, the total Within Sum of Square (WSS) which measures the variability of the observations within each cluster (*Hartigan et Wong, 1979*). The aim is to minimise it with a reduced number of clusters. This point is identified as the inflection point of the curve, i.e., the elbow. It is identified by the grey dotted line.

Explanatory Variables	Activity Rate	Speed	Sinuosity
Strain	<b>6.91e-3</b>	<b>2.52e-14</b>	<b>4.55e-05</b>
Temperature	0.94	0.33	0.67
Time	0.91	0.90	0.95
Temperature:Time	0.82	0.22	0.45
Temperature:Strain	9.1E-2	<b>7.18e-3</b>	<b>1.65e-2</b>
Time:Strain	<b>3.45e-2</b>	<b>5.52e-3</b>	<b>1.80e-3</b>
Temperature:Time:Strain	<b>1.29e-2</b>	<b>4.36e-3</b>	<b>9.64e-3</b>
Nb_Individuals	0.19	0.55	0.30

**Table S1.** Results of the p-values associated with the different variables used in the models applied to the speed, the activity rate, and the sinuosity. Values in bold correspond to p-values lower than 0.05 and therefore significant.

En 2022, les expériences dans les petites arènes ont été de nouveau réalisées. Le matériel utilisé et les méthodes de protocole expérimental mais aussi d'analyses statistiques qui ont été suivies sont identiques à ce qui a été présenté dans l'article précédent. L'unique différence est qu'en 2022, la modalité température (24 et 28 °C) n'a pas été testée. La température expérimentale a été stabilisée à 23°C. De ce fait, ces données n'ont pas été présentées simultanément avec les expériences de 2021.

L'ensemble des figures associées aux résultats 2022 sont disponibles en matériel supplémentaire, à la fin du chapitre. En 2022, une variabilité intersouche apparaît significative sur les trois proxies étudiés : la vitesse, le taux d'activité ainsi que la sinuosité des mouvements. L'effet de la période de la journée quant à lui n'apparaît significatif que pour la vitesse. Il en est de même pour son interaction avec l'effet souche. Le nombre d'individus introduits ne semble pas expliquer de variabilité. L'Analyse en Composantes Principales indiquent quatre groupes comme en 2021. Mais il est plus difficile de les décrire. Comme le suggère l'analyse multivariée de variance, les groupes ne se distinguent pas de façon significative.

## II- Une caractérisation de la dispersion des trichogrammes dans une arène en double spirale

L'arène en double spirale est un dispositif ayant été conçu pour caractériser la dispersion de différentes espèces d'organismes. Elle est, dans le cadre de ma thèse, adaptée à des micro-insectes marcheurs tels que les trichogrammes. Elle offre la possibilité d'un phénotypage au laboratoire, constituant ainsi un gain de temps et d'argent. La dispersion est idéalement évaluée sur le terrain du fait que celle-ci se fasse sur plusieurs mètres pour un grand nombre d'organismes. Mais ces échelles sont difficilement atteignables au laboratoire. Or, l'arène en double spirale, par sa forme originale, permet de disposer d'une étendue de dispersion de plusieurs mètres dans un dispositif peu demandeur en place. En effet, dans le cadre des expériences que j'ai menées, 5,75m de dispersion ont pu être obtenus dans un dispositif de seulement 40cm de large et 30 cm de haut environ. Ainsi, j'ai pu en disposer facilement plusieurs exemplaires dans une seule pièce expérimentale et surtout, filmer toute la longueur de la spirale à l'aide d'un unique capteur photo de format standard. Cela, tout en bénéficiant d'une résolution suffisante permettant la détection de (très) petits insectes, moins de 0,5mm par exemple dans le cas des trichogrammes.

Dans cette deuxième partie de chapitre, je vous propose dans un premier temps la validation technique de l'arène en double spirale et de son fonctionnement, présentée dans "A

*double-spiral maze and hi-resolution tracking pipeline to study dispersal by groups of minute insects* », 2023 dans Sci.Rep. A la suite de cela, l'utilisation de l'arène en double spirale et les résultats que j'ai pu mettre en avant seront présentés pour l'étude des 17 souches de *Trichogramma cacoeciae*, à la fois en 2021 et en 2022. Les résultats 2021 qui seront présentés dans la partie II.2.2 de chapitre diffèrent quelque peu de ceux disponibles dans la publication de Sci.Rep. En effet, entre la publication et la suite des analyses, certains réplicats ont été mis de côté en raison de détections par minute jugées problématiques a posteriori. Cela n'entache en rien la validation technique présentée dans Sci.Rep.

## II.1 Validation technique de l'arène en double spirale, présentation des méthodes d'analyse et résultats d'analyses préliminaires





OPEN

## A double-spiral maze and hi-resolution tracking pipeline to study dispersal by groups of minute insects

M. Cointe<sup>1✉</sup>, V. Burte<sup>1</sup>, G. Perez<sup>1</sup>, L. Mailleret<sup>1,2</sup> & V. Calcagno<sup>1</sup>

Minute insects such as parasitic micro-wasps have high basic and applied importance for their widespread use as biocontrol agents. Their dispersal is a phenotype of particular interest. Classically, it is evaluated using field releases, but those are time consuming, costly, and their results highly variable, preventing high-throughput and repeatability. Alternatively, dispersal can be studied using small-scale assays, but those neglect important higher-scale processes. Consequently, proper evaluation of dispersal is often complicated or lacking in academic studies and biocontrol breeding programs. Here we introduce a new method, the double-spiral maze, that allows the study of spatial propagation of groups of micro-wasps at relevant scales (several hours and meters), retaining high throughput and experimental power. The method records the location of every individual at every time, enabling accurate estimates of diffusion coefficients or other dispersal metrics. We describe this affordable, scalable, and easy-to-implement method, and illustrate its application with a species of agricultural interest.

Studying what we cannot see, or at least what is difficult to observe, has always aroused the curiosity of human beings and fostered methodological innovations. Minute walking insects, such as micro parasitic Hymenoptera, as well as other arthropods such as acari, fall into this category. Indeed, they are difficult to observe directly in the laboratory, and almost impossible to observe in the field. Yet, they have great scientific interest for their extreme miniaturization, they are often important for the functioning of natural communities, and many have applied significance as agricultural pests or biocontrol agents. Thus, the development of new observation techniques tailored to these organisms is an important challenge<sup>1</sup>. This is in particular a prerequisite to access a key component of their life-history and fitness: population spread and dispersal. Dispersal is an ecological trait of paramount importance for all living organisms, as it affects not only individual fitness but also population genetics, population dynamics, and ultimately species distribution<sup>2,3</sup>. In biological control, dispersal is often mentioned as a key element<sup>4-9</sup>. Indeed, among the characteristics which make a biological control agent a good one, there is the high searching ability, directly linked to a great dispersal capacity.

Despite its undisputed importance, dispersal remains an ambiguous term<sup>10,11</sup>. The simplest definitions broadly refer to the increase of the distance between individuals of a group or population<sup>12</sup>, whilst others are more restrictive and refer to settlement and reproduction, excluding forms of movements related to foraging or seasonal migrations<sup>13</sup>. Here, we address both sorts of definitions: the spatial spread of individuals (dispersal *sensu lato*), that can have consequences on reproduction and gene flow (dispersal *sensu stricto*). For minute insects, the relevant scale for the study of such dispersal is that of a few meters, which can be characterized both in the field and with adapted laboratory devices.

An important group of minute insects are parasitic micro-wasps, most of them egg parasitoids, i.e. insects that lay their eggs inside the eggs of other species<sup>14</sup>. For instance, the egg parasitoids *Trichogramma* sp., which are used in this article as a model system, are among the most commonly used biocontrol agents. These are micro-hymenoptera that are less than 0.5 mm long<sup>15</sup>, and that mostly move by walking. Their ease of rearing on alternative hosts, and their wide geographic distribution make them useful biological control agents<sup>16</sup>. They are marketed by several companies and are the most widely used agents against certain pests such as the corn borer<sup>17</sup>. For these insects, host-seeking and parasitism are the prime activities of the adult stage, whereas pre-imaginal

<sup>1</sup>Université Côte d'Azur, INRAE, CNRS, Institut Sophia Agrobiotech, Sophia Antipolis, France. <sup>2</sup>Université Côte d'Azur, Inria, INRAE, CNRS, Sorbonne Université, Biocore, Sophia Antipolis, France. ✉email: melina.cointe@inrae.fr

development occurs entirely within the parasitized host eggs, and thus entails no movement. This makes foraging movements and dispersal intimately related, and also directly connected to pest suppression performance, i.e. applied value in terms of biocontrol<sup>18</sup>. Indeed, from a biological control perspective, the ability to disperse not only ensures the proper distribution of insects in crops, but can also be used to reduce the workload, by diminishing the number of release points per unit area<sup>19,20</sup>. Studying the dispersal of these insects further gives insights into their population dynamics, which is also of great interest in the context of biological control<sup>4,21</sup>.

The dispersal of such minute insects is classically studied at two extremely different scales: either directly in the field, or on the contrary in very small laboratory arenas<sup>22</sup>. Field studies have the advantage of being very close to the real living conditions of these insects. However, the small size of these insects makes their observation in the field almost impossible, and field releases are time consuming, expensive, and yield highly variable results. All this compromises experimental throughput and reproducibility. At the other end, dispersal can also be studied by small-scale behavioural tests. Those have the advantage of offering the possibility of experimenting with speed and simplicity, allowing large numbers of replicates to be obtained. Their controlled environment, although far from natural conditions, allows good reproducibility and power. However, they neglect important larger-scale processes such as group dynamics and long-term behavioural processes. As a result, proper evaluation of dispersal metrics is often complicated, or even lacking, in studies of these insects and, in particular, in biocontrol breeding programs<sup>23</sup>. That is the reason why bridging movement and population scales represents an important goal to achieve to improve the understanding and prediction of population dynamics<sup>22</sup>.

Two methodological developments pave the way for progress on this front. On the one hand, the development of new sensors and computational technologies led to the birth of ethomics and the broad use of ethoscopes<sup>24</sup>. Ethoscopes are computerized video tracking systems, simply organized with an enclosure that provides lighting and support, a camera, and an arena in which insects are released. Current ethoscopes are mostly used for larger organisms such as *Drosophila* and mosquitoes<sup>25</sup>, but their arenas are of a size that does not allow access to dispersal over meaningful distances<sup>26</sup>. On the other hand, systems allowing the tracking of individuals directly on large scales, such as the Vertical Looking Radar, the harmonic radars or GPS systems, are becoming more and more powerful<sup>1</sup>. But all these methods imply the installation of a sensor with properties (weight, balance, size, drag) that can affect different life history traits of the organisms (e.g. energy, movement, foraging, mating)<sup>27</sup>. Even if they now reach very small sizes at the scale of organisms such as birds, monkey-fishes and large insects<sup>28</sup>, they are still way too big and heavy to be of any use for minute insects. The often-used ‘5% rule’<sup>29</sup>, according to which the device should not exceed 5% of the animal mass, cannot be respected, as these insects typically weigh less than one milligram.

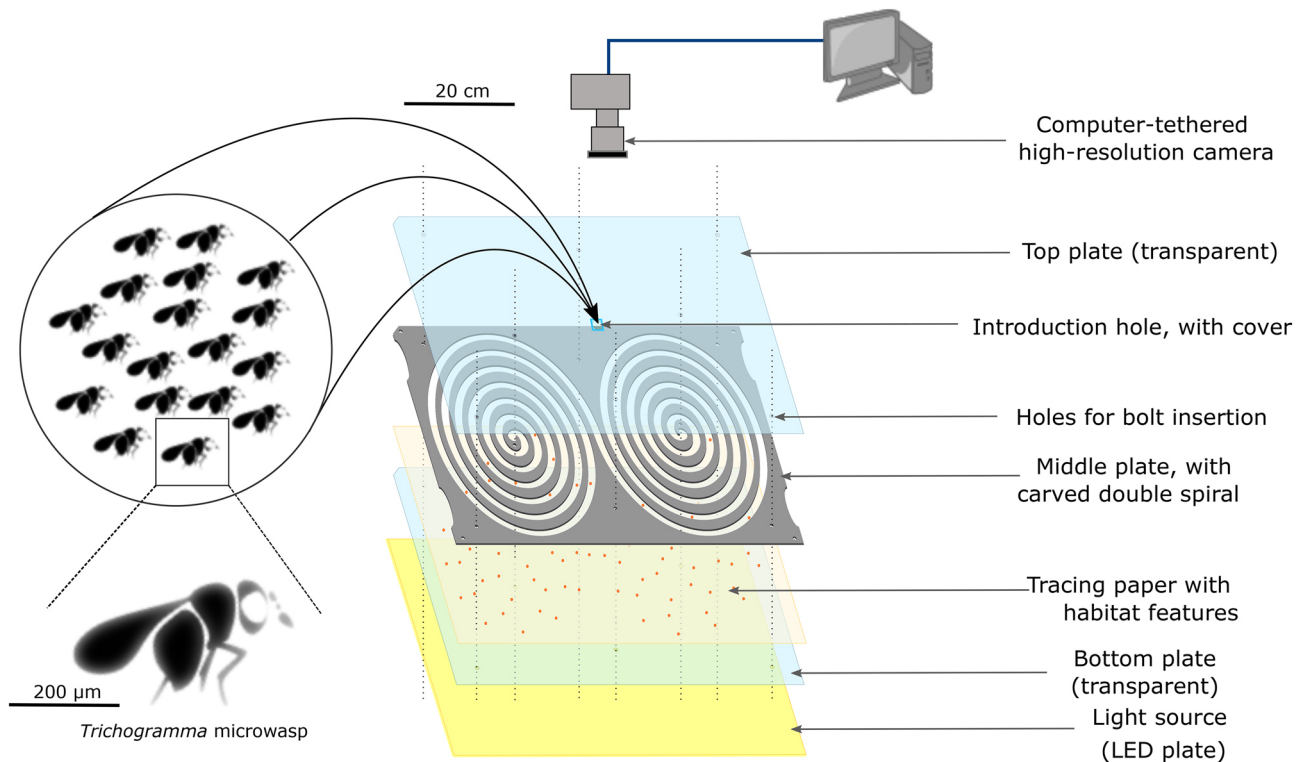
To address these issues and help bridge the gap between small and large scales in studies of dispersal, we introduce here a new method extending the ethoscope concept, with two innovations: an original shape dedicated to the study of dispersal, and the use of a hi-resolution imaging pipeline. We call this system the double-spiral maze (Fig. 1); it allows the study of spatial propagation at relevant scales, while maintaining high throughput, experimental control, and low cost.

The key concept is to wrap a long linear tunnel into a double spiral shape. This has several advantages: (I) the long tunnel can fit in a small rectangular surface, so that it is easy to install in an experimental chamber; (II) the whole surface can be filmed efficiently with standard camera sensors, since it has similar aspect ratio, whereas a straight tunnel could not be covered with one sensor and many pixels would be lost. This is an important difference from existing experimental devices. The latter sometimes offer a large distance for dispersal, but the path is always straight and/or not suitable for the capture of images or videos<sup>30,31</sup>. (III) The spiralling path ensures that any potential anisotropy in the experimental conditions (lighting, temperature...) does not correlate with distance from the centre, but rather is turned into periodic noise; (IV) the spiral path ensures that there is no sharp turns or abrupt changes that would affect movement, but instead a small gradual turning angle. This improves on previous mazes that use a zig-zag pattern<sup>30</sup>. Note that these advantages could be achieved with a simple spiral path, but the double spiral design brings key additional advantages: (I) the center of the tunnel, where the dispersing individuals are introduced, is located in the middle of the set-up; and (II) the path is entirely symmetrical on both sides from the introduction point: individuals dispersing to the right or to the left experience the same topology (same direction of turn, same curvatures, and same location with respect to the entire set-up).

We describe an application of the method tailored to a species of agronomic interest: *Trichogramma* parasitic microwasps<sup>20</sup>. In our case, the cost of making a double spiral maze and investing in a camera to capture images is just under 1434€ (see Supplementary Material, Table S1). In this example, a 5.75 m long corridor (1 cm wide and 0.5 mm high) was wrapped into a rectangle of only 40 cm by 30 cm (see Methods “Presentation of the double spiral maze”). This makes it easy to place several copies in a standard experimental room, and to film the entire length of the corridor using one high-resolution photo sensor, allowing the detection of (very) small insects (less than 0.5 mm in our case). The design of such a double spiral maze is easy with open source vector graphics softwares such as Inkscape<sup>32</sup>. Once designed, it can be carved into a plate of desired thickness at low cost, for example using hot-wire cutting of Styrofoam<sup>33</sup> or, the solution we recommend here, laser cutting of PolyMethyl MethAcrylate (PMMA) plates.

High-resolution images of the entire maze are taken every minute for several hours, and the provided image analysis pipeline detects the location of each individual at each time point. Subsequent coordinate transformations and analyzes (see Fig. 2; and Methods) yield automated and accurate estimates of diffusion coefficients and dispersal kernels<sup>34,35</sup>. An original skeleton fragmentation algorithm allows to compute for each individual the linear distance from the center of the tunnel, for arbitrary shapes of the tunnel (Figs. 2, 3).

The entire sequence of analyses is automated using an ImageJ/Fiji macro and an ImageJ/Fiji plugin, available at [https://forgemia.inra.fr/ludovic.mailleret/double\\_maze\\_arena](https://forgemia.inra.fr/ludovic.mailleret/double_maze_arena). Filtering of the outputs can be conducted with an R script available at the same address.

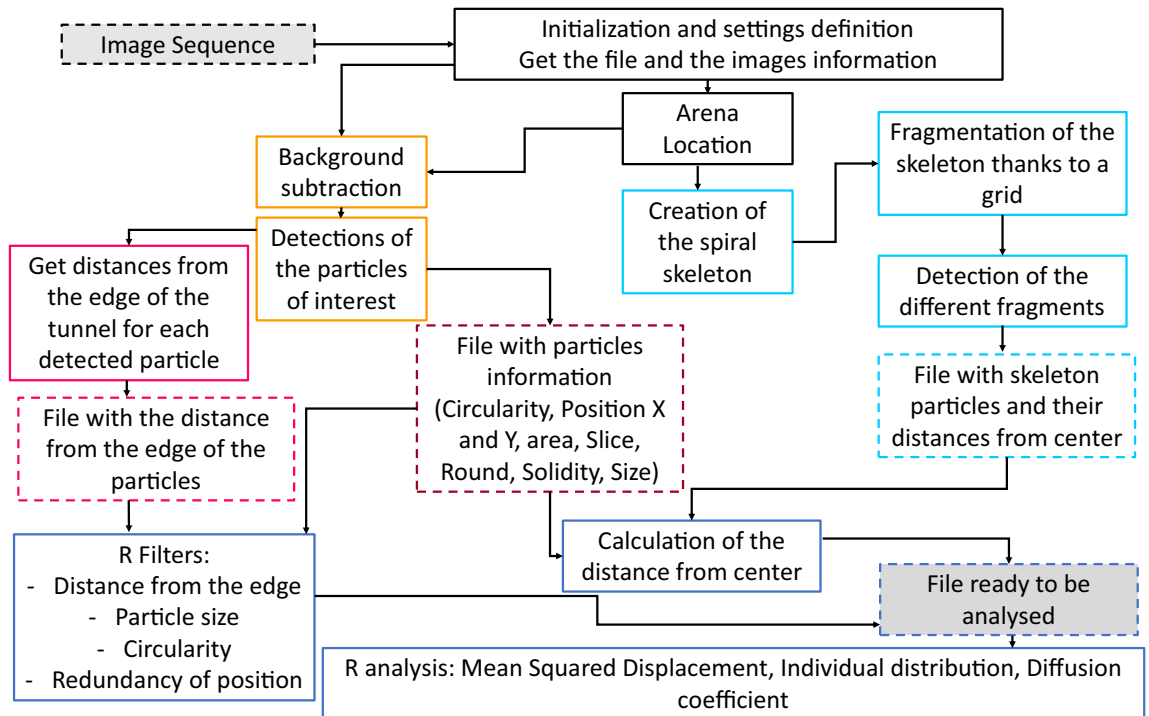


**Figure 1.** Scheme of the double spiral maze (levogyrous example). Here, the double spiral maze is included in an experimental device equipped with a LED plate, a high-resolution camera and a tracing paper with habitat features, in this case host eggs of *Ephestia kuehniella*. The high resolution camera is controlled thanks to a computer.

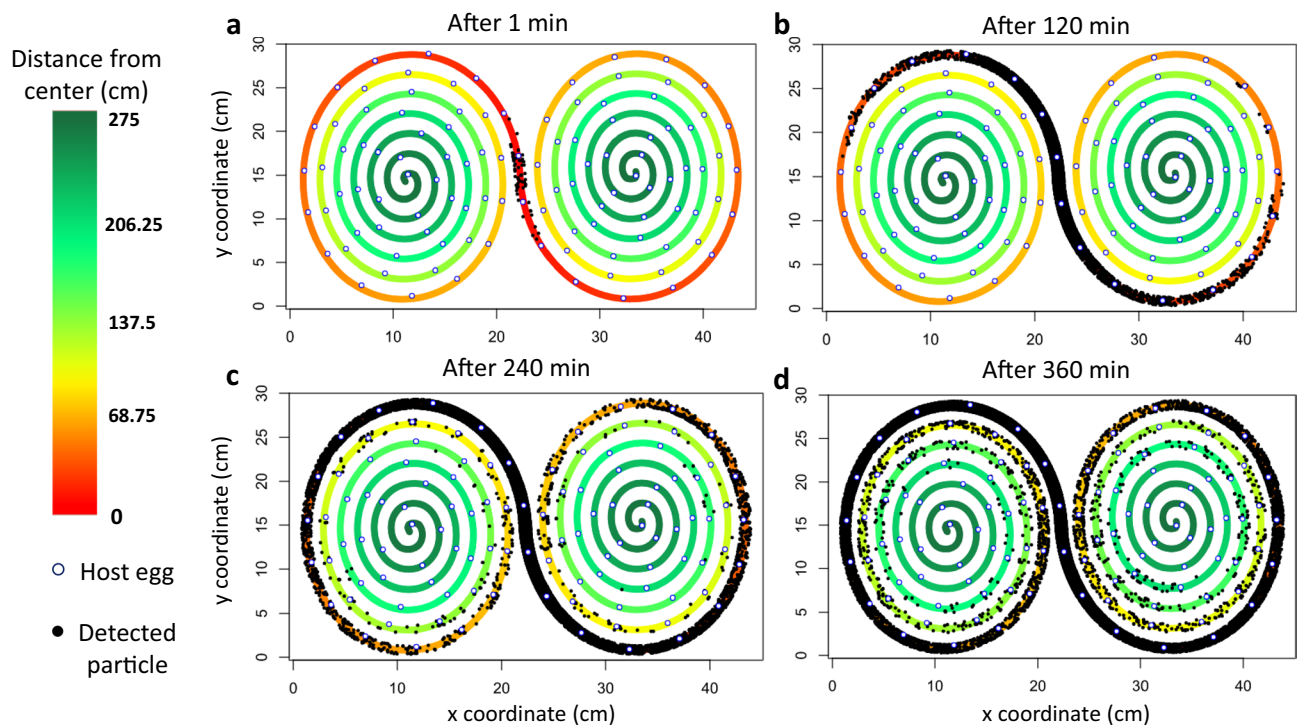
## Results

**Validation of the double spiral maze.** *Quality of sealing.* With such a device it is essential to make sure that insects have no choice but to disperse along the tunnel and no insect can ever cut across between adjacent spirals. With minute organisms, this is not an easy task, especially so when the spacing between adjacent turns is short (1 cm in our test case). To test for this, a variant of the maze was engineered with solid walls, or septa, along the double spiral tunnel, delineating 39 zones (see the Supplementary Material section “Quality of sealing” Fig. S1). Several tests were carried out during which insects were placed at high density (about a hundred individuals) in some zones, whereas the remaining zones were left free of insects but filled with about 10 eggs of *Ephestia kuehniella* (the substitute host). These host eggs served as sentinels for a possible leakage of insects between zones: any parasitized egg would be a sign of leakage. Each test lasted 48 h, and direct eye checks were also carried out every 30 min for 10 h every day. Out of 12 tests, no leakage of individuals was detected. The results table and the protocol are available in the supplementary material section (Protocol P1 and Table S2). This confirms that the device can be sealed without resorting to glue, paraffin, or any substance between the plates, which simplifies manipulation and minimizes risks of chemical interference with insect behaviour.

*Lighting homogeneity.* Back-lighting is used to maximize contrast and facilitate insect detection<sup>37</sup>. A second test of importance is that of light homogeneity. Insect movement is strongly influenced by light. Tracking performance may depend on lighting parameters so that homogeneity along the entire dispersal tunnel is therefore required. To achieve this goal, the double spiral maze was backlit with a large LED plate. A pixel value profile, i.e. light intensity, was obtained on an experimental photograph to evaluate the homogeneity of the lighting. The photographs were taken with an aperture of  $f/22$  (specifically for this test but not for the routine use of the device, see Methods) to avoid lens vignetting, so that variations in pixel value can only be attributed to the light source. A linear scaling was established between pixel value and actual light intensity level (in lux) using standard values. We could thus establish a 2D map of the light intensity, from which we can construct horizontal and vertical light profiles, as well as the profile along the tunnel (Fig. 4). The vertical profile was quite homogenous (Fig. 4b), and the horizontal profile, because of its greater length, showed some heterogeneity between the center and the extremities: the extremities were slightly less illuminated than the center (Fig. 4c). Owing to its double-spiral shape, the light profile along the tunnel was not sensitive to this long-distance trend: the average light intensity value was 9 821 lx, with no systematic variation as distance from the center increases, but rather wave-like fluctuations of more or less 14% around the average (Fig. 4d). This is a satisfying value, but of course one can further reduce these variations, if required, by purchasing a more homogeneous light source, or by applying a custom translucent mask to cancel out the heterogeneity of the source. Similarly, the value of 9 800 lx used here, which is equivalent to the light intensity in the shade in the middle of the day under a clear blue sky, can be adjusted by

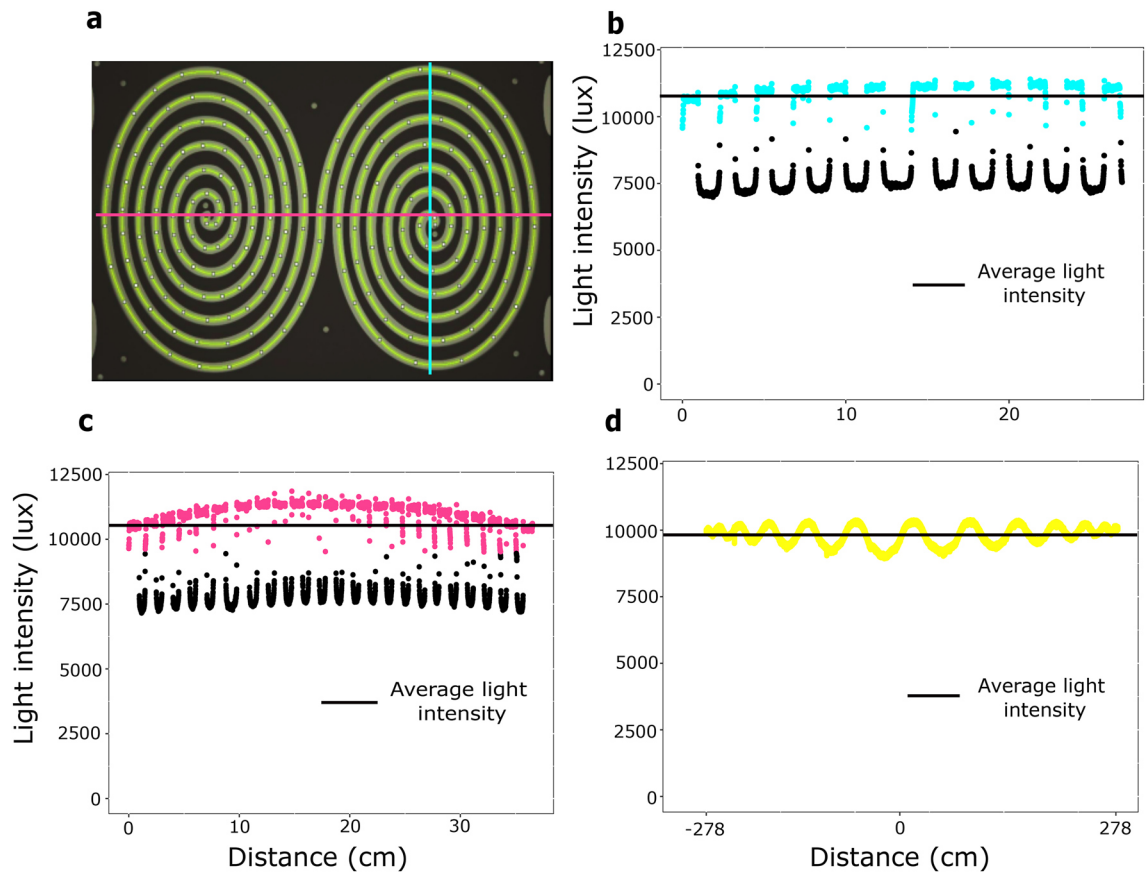


**Figure 2.** Diagram of the functioning of the automatic pipeline as well as the main steps of data processing using R software<sup>36</sup>, R V 4.0.0 (2020-04-24)—"Arbor Day", <https://cran.r-project.org/bin/windows/base/old/4.0.0/>. In black, the steps related to the initialization of the file processing with all the experimental images. In light blue, all the steps corresponding to the creation and processing of the spiral skeleton. In pink, the steps concerning the distance to the edge of the individuals. In dark blue, the processing steps with the R software<sup>36</sup>. Boxes with dotted frames correspond to files. The grey boxes with dotted lines correspond to the very first file before any analysis ("Image Sequence") and the final clean file ready to be analyzed ("File ready to be analysed").



**Figure 3.** Cumulative detections from  $t_0$  (time of introduction of *Trichogramma* individuals) to a given time. a: from  $t_0$  to 1 min; b: from  $t_0$  to 120 min; c: from  $t_0$  to 240 min and d: from  $t_0$  to 360 min; along the spiral path, application of our image analysis pipeline. *Trichogramma* are shown as black dots, while host eggs are shown as blue circles, filled with white.





**Figure 4.** (a) Schematization of the sections carried out to make the light profiles. In blue the vertical profile, in green the horizontal profile. In yellow, the path along the double spiral. (b) Vertical light intensity profile. (c) Horizontal light intensity profile. (d) Light intensity profile along the spiral path.

inflating or dimming the light source. The double spiral shape is thus able to buffer out long range lighting variations by converting them into small oscillations along the path, with no long-range trend. This is an advantage, especially since large sources of light that are perfectly homogeneous can be hard to find or quite expensive.

**Symmetry and spiralling direction.** We checked whether the shape of the maze, i.e. the rotation direction (levorotatory versus dextrorotatory mazes) and the symmetry (left versus right arms) did or didn't bias dispersal in some way. We conducted ANOVA and skewness tests, on respectively the Mean Squared Displacement and individual distribution at each minute. The obtained *p*-values have been adjusted with the Bonferroni correction (see the Methods section). For both the rotation direction and the symmetry, no significant *p*-values were found. Therefore, rotation direction has no detectable effect on the individual dispersal inside the double spiral and no significant asymmetry could be detected in the dispersal distributions with respect to the point of introduction. To this observation, we can add that if one makes an analogy between the curvature of the walls of the double spiral and the curvature of the surface of the Earth then for the *Trichogramma* individuals the walls of the spiral are thus as "curved" as the surface of the Earth is on a distance of 900 km for a human being (see the Supplementary section "Curvature of the spiral tunnel for a *Trichogramma* individual"). Therefore, it is very likely that the double spiral design does not influence the dispersal of *Trichogramma* individuals.

**Introduction of individuals.** The introduction tests were carried out with the aim of achieving swift introductions of given densities of individuals (between 150 and 200). These tests showed that it was possible to easily introduce parasitoid individuals rapidly (less than 10 s) and in numbers close to the target density. The detailed protocol for these tests and the table of results are available in the supplementary section (Protocol P2 and Table S3).

**Validation of the hi-resolution image analysis pipeline.** *Image coverage.* A comparison of the actual ground surface of the spiral with what is recorded on a photo has been performed. The double spiral has an inner surface of 504.36 cm<sup>2</sup>. In a photo, due to the height of the walls of the spiral (5 mm), and the combination between focal length (60 mm) and camera positioning (70 cm) part of the floor area remains hidden and not recorded in the photo. Under the chosen experimental conditions, the surface of the floor captured in a photography was 492.64 cm<sup>2</sup>, therefore the lost surface was only 3%, meaning that 97% of the device surface was

actually monitored with photographic captures (see the Methods section “Steps for the verification of the image coverage”). Furthermore, image coverage was not correlated with the location along the tunnel, as measured as the distance from the point of introduction of the insects.

**Detection of individuals.** Automatic detection was compared to manual detection on a subset of ten replicates: that is to say, 10 releases of *Trichogramma* females in the double spiral maze. The females were free to disperse for six hours. The data to be compared were obtained using ImageJ<sup>38</sup> (see the Methods section “Manual scoring for the validation of the hi-resolution image analysis pipeline”). We compared the data automatically obtained with the one manually obtained by focusing on three different times: after two, three and five hours, for the ten replicates. From the ground truth data, an average of 253 individuals was observed at any given time in a particular replicate. The average number of individuals introduced in these replicates was 256, suggesting we could see about 99% of individuals. The remaining 1% were presumably overlooked (even by eye, spotting *Trichogramma* is not easy at that scale) or were concealed behind wall sections (and thus absent from the image data). This suggests that there is almost no loss of information between reality and the image before analysis. From the image analysis pipeline, we recovered 1817 detections, whereas the ground truth data yielded 2535 detections (Fig. 5a). This corresponds to an overall 72% detection rate. The detection rate is a bit variable across replicates ranging from 68 to 78%, but stable over time (Fig. 5b). Finally, this proportion shows little variability along the double spiral tunnel except quite far from the introduction point but still non-significant (Fig. 5c).

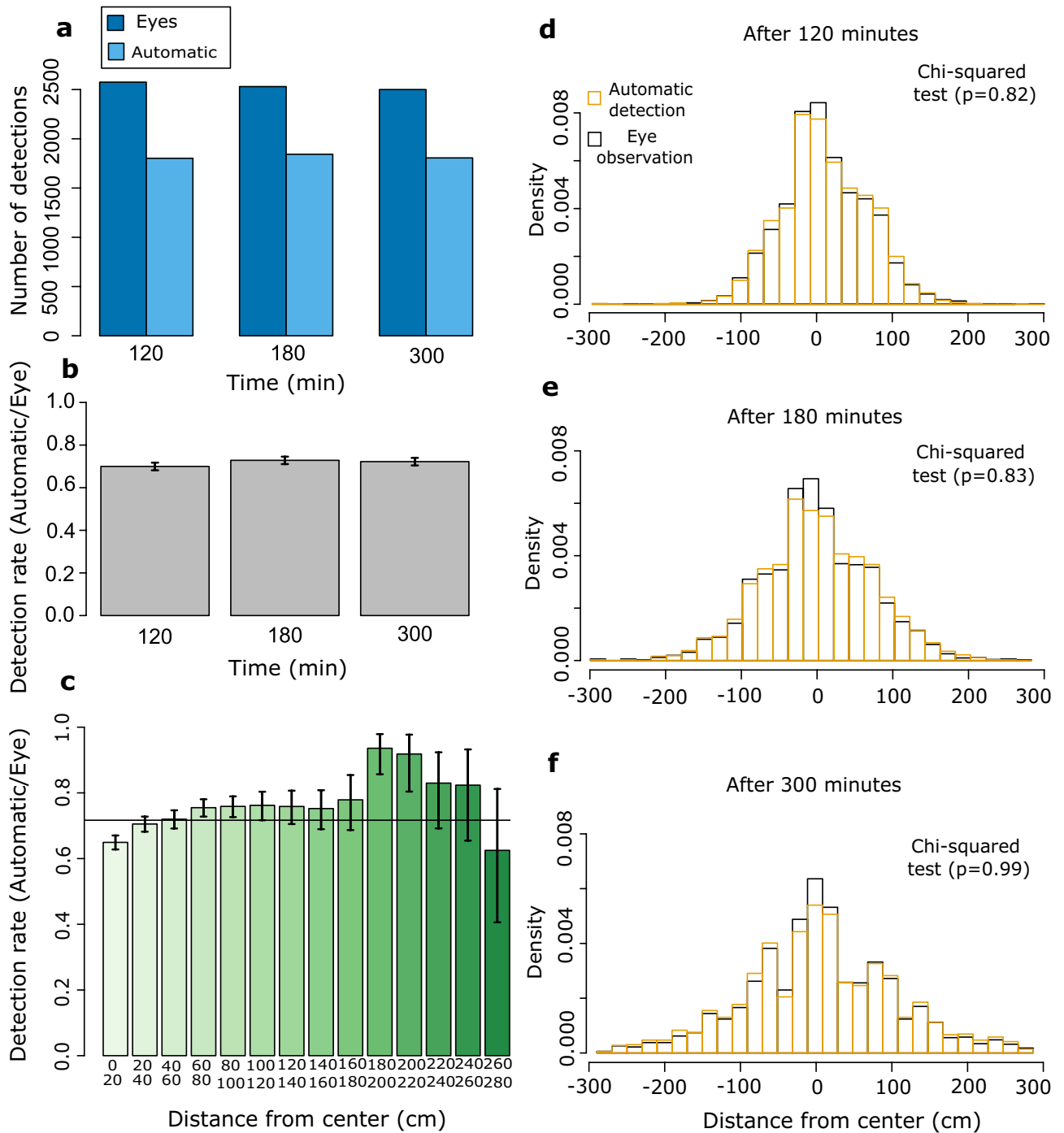
**Spatial distribution of individuals.** The automatic pipeline must be reliable in measuring the distribution of individuals, an important metric in dispersal analysis. For the ten replicates, the true distribution and the one inferred from image analysis were very similar. If we look in greater detail, at particular times, the same conclusions hold. Indeed, the two distributions were not significantly different at any time (Chi-square tests; Fig. 5d,e,f).

**Data-storage requirements and data-processing times.** For a 6-h experiment with one replicate, a minimum of 70 GB of storage space is required. The 360 photos in RAW format represent 30 GB. These photos must then be converted into TIFF format to be analyzed by the pipeline, which represents 40 GB for a transient file. The conversion of the photographs and the application of the pipeline each requires 45 min.

**Example of practical application: is dispersal by groups of *Trichogramma* diffusive?** The double spiral maze and the accompanying automatic detection method can be used to address several questions of ecological and agricultural interest, especially ones regarding dispersal<sup>39</sup>. We were here interested in assessing intraspecific variation in dispersal dynamics within species *Trichogramma cacoeciae*. This trait is often mentioned as a key determinant of biological control efficiency with *Trichogramma*<sup>4–9,40</sup>. Indeed, among the characteristics of a good biological control agent, good exploration capabilities, directly linked to high dispersal<sup>41,42</sup>, are important to ensure good coverage of the target area<sup>43</sup>. However, if the dispersal is too high and in addition coupled with low fertility rates, it can become problematic<sup>44</sup>. Still, the dispersal dynamics of *Trichogramma* species, even the most used ones, is still poorly known<sup>45</sup>. A way of understanding spatial spread is to test for its diffusivity. If we assume that the movement of *Trichogramma* individuals follows a random walk, i.e. if individuals move independently in all directions without preference, at the relevant scale, a standard diffusive dispersal is expected<sup>16</sup>. To check whether the observed dispersal is diffusive or not, one can look at the Mean Squared Displacement (MSD). For a group of individuals initially introduced at the same location, the MSD corresponds to the variance of the distribution of individuals at a given time. It should increase linearly with time in the case of a simple diffusion process<sup>34</sup>.

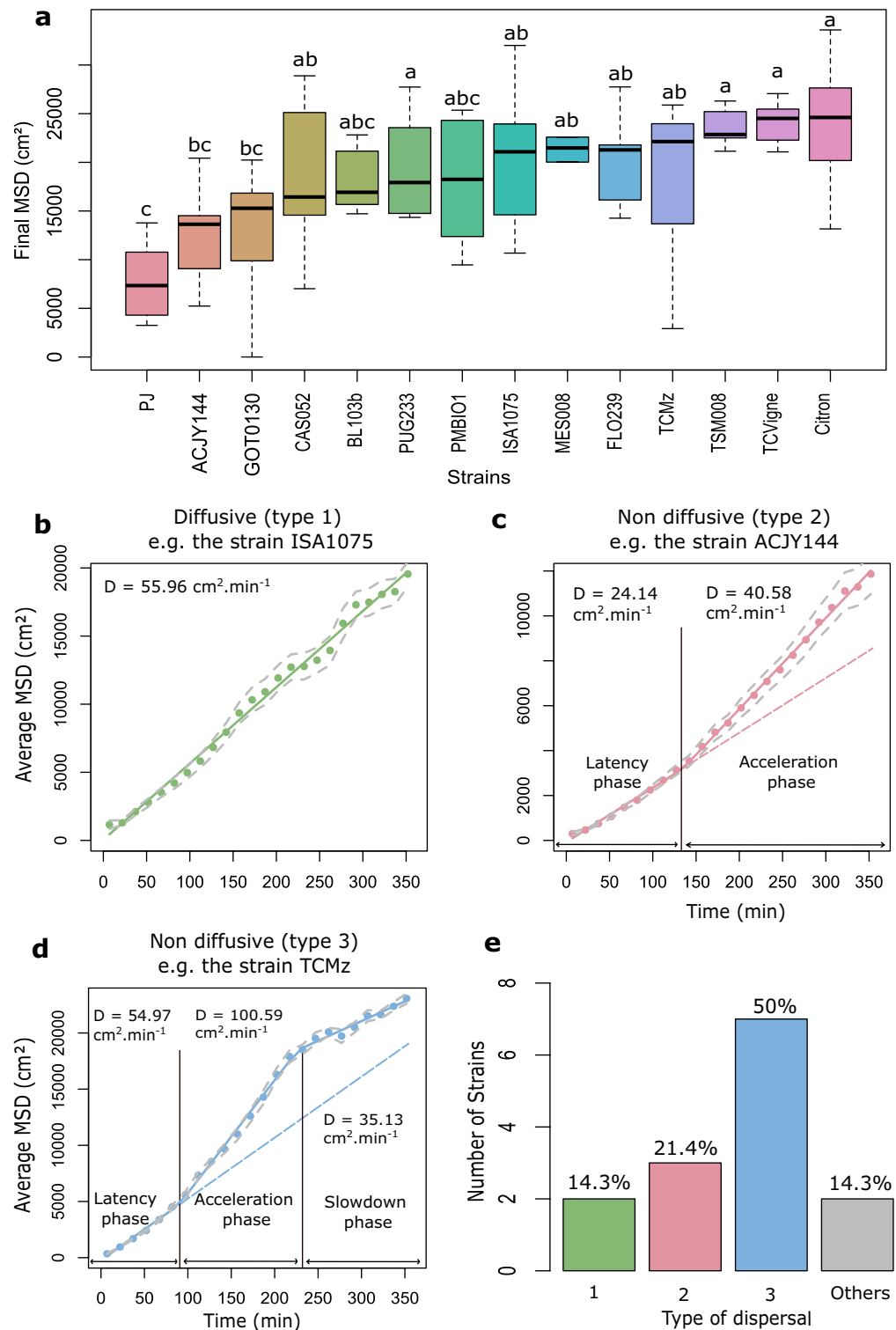
We conducted a screen of 14 strains, using female individuals from the thelytokous (clonal) species *T. cacoeciae* (see the Supplementary Material section, Table S4). All strains were sampled in France using *E. kuehniella* sentinel eggs and maintained in the laboratory under identical conditions. We evaluated each strain for dispersal with 10 replicates. In each replicate, we released 200 females on average, all aged of 24 h, so that there were active and ready to lay eggs<sup>46</sup>. Groups of females were introduced in the middle of the double spiral maze, between 8 and 8:30am. One *E. kuehniella* host egg was glued every five centimetres along the double-spiral tunnel. Females were let disperse for six hours, during which we took one high resolution (36 Mpx) image every minute. Images were analyzed using the above-described pipeline. Thanks to the compact size of the maze, four strains could be tested in parallel every day, in the same room.

From the image analysis pipeline, we computed the Mean Squared Displacement that each strain had achieved in six hours, and thus rank species in terms of their dispersal propensity (Fig. 6a). We further regressed MSD over time with simple or piecewise regressions, for each of the 14 strains (see Methods section “piecewise linear regressions, MSD and statistical tests”). Overall, there was significant inter-strain variation in MSD (ANOVA test;  $p = 1.468e-08$ ), revealing quantitative genetic variation for this phenotype: 33% of total MSD variation was attributed to the strain effect (see Methods section “piecewise linear regression”) (Fig. 6a). More interestingly, we could discover inter-strain qualitative differences in the dynamics of dispersal. Moreover, from these analyses, we identified three distinct types of dispersal dynamics (Fig. 6b,c,d). In Fig. 6, only one representative example of each type is shown. Graphs (Fig. S3) and diffusion coefficients for all strains (Table S5) are available in supplementary material (Table S5). The first type (type 1) corresponds to strictly diffusive spatial spread, as illustrated by strain ISA1075 in Fig. 6b. However, only 2/14 of the tested strains displayed this behaviour; all other strains showed a non-diffusive dispersal, which can be classified into two categories: type 2 and type 3. Type 2 is characterized by a latency phase with relatively slow spatial spread, followed by a fast phase with sustained faster spatial spread. This is illustrated for strain ACJY144 in Fig. 6c, for which the latency phase lasted about two hours. This result is consistent with the fact that the distribution of ACJY144 individuals is not normal. Indeed,



**Figure 5.** Left column: detection rates. (a) Number of eye and automatic detection at different times. (b) Evolution of the detection rate over time. Confidence intervals obtained at every time using an exact Binomial test. (c) Evolution of the detection rate along the path of the spiral. Times are pooled. Here, the right and left sides of the spiral have not been distinguished but pooled, hence the graduation from 0 to 280. Confidence intervals obtained at every distance category using an exact Binomial test. Right column: population distributions over space and time. In black, the distributions obtained with the eye’s observations. In orange, the distributions obtained with the automatic pipeline. (d) Spatial distributions after two hours. The two distributions are not significantly different (Chi-square homogeneity test;  $df=9, p=0.82$ ). e: Spatial distributions after three hours. The two distributions do not significantly differ (Chi-squared homogeneity test;  $df=19, p=0.83$ ). f: Spatial distributions after five hours. The two distributions do not differ (Chi-square homogeneity test;  $df=28, p=0.99$ ).

for simple diffusive movements the distribution of individuals at a given moment in time is a Gaussian. Type 3



**Figure 6.** (a) Boxplot of the final Mean Squared Displacement for all tested strains. Letters indicate significant differences as obtained from Tukey’s post hoc ANOVA tests. Plots representing the Mean Squared Displacement over time for strain ISA1075 (b), representing diffusive (linear) dispersal (type 1); strain ACJY144 (c) representing non diffusive dispersal with two phases (type 2); strain TCMz (d) representing non diffusive dispersal with three phases (type 3). The figure (e) represents the percentage of strains belonging to each dispersal type. In panels b–d, the coloured dots represent the raw data averaged for each time window. The solid lines correspond to the best supported piecewise regression models determined thanks to the *p*-values of Likelihood Ratio Tests performed with the *anova* function (see Methods “Piecewise linear regressions and statistical tests”). The grey dashed lines correspond to the confidence intervals calculated on the MSD means obtained by replicates. These intervals therefore account for inter-replicate variability. The black vertical lines indicate the breakpoints identified by the piecewise linear models. The dashed lines of the same colour as the regression sections correspond to the extrapolation of the linear regression of the first phase.



was the most frequent type of dispersal (7/14 strains). It is characterized by a latency phase, followed by a fast phase, but eventually the rate of spatial spread slows down again. This is illustrated for strain TCMz in Fig. 6d, for which the slow phase occurred after about four hours. A couple of strains (“Others” in Fig. 6e) had non-diffusive dispersal as well, with three distinct phases (as in type 3), but specific patterns (see the Supplementary Material section “Example of practical application: description of the category “Others” ” Fig. S2). Differences in types of dispersal were independent from differences in total MSD ( $p = 0.19$ ; Supplementary Material Fig. S4). This revealed that the vast majority of strains has more complex dispersal than the standard diffusion model commonly assumed, even in simple experimental environments. It is for now difficult to relate these dispersal patterns to what is already known about the dispersal of *Trichogramma*, owing both to the novelty of our method, and the relative scarcity of quantitative data on *Trichogramma* dispersal. Ongoing work is seeking to correlate these dispersal patterns with (i) more traditional smaller-scale behavioural studies of dispersal, and (ii) larger scale field experiments. Ideally, it would be possible to highlight which dispersal profiles are most effective for biocontrol in realistic field conditions. If such an association could be established, the time-consuming and costly field evaluations of candidate biological control agents could benefit from a pre-screening using the double-spiral maze and/or small-scale studies.

## Discussion

We developed a double spiral maze with the goal of quantifying minute insects’ dispersal metrics at spatial and temporal scales similar to those that are relevant in the field (several meters, several hours), while retaining the experimental power and throughput of ethoscopes. Indeed, currently there exists a lot of methods to monitor the movements of insects, e.g. through the use of radars, traps, or even eye observations, but those are only applicable for big enough organisms<sup>1</sup>. For smaller organisms such as *Trichogramma* parasitic wasps and similar minute insects, all these techniques fall short. As a result, their movement is often only assessed at two extreme scales: either indirectly with field trials or directly with small laboratory arenas. The former is time consuming and returns small amounts of data with considerable noise especially since dispersal is very sensitive to environmental variations<sup>1,23,47–49</sup>, whereas the latter neglects larger scale phenomena such as group dynamics or variations in activity patterns due to different extrinsic factors<sup>50</sup>. This last point can be seen as a limitation but also as an advantage since detaching from variability factors allows for more repeatability. Yet, it can also make it difficult to establish a link between laboratory observations and what is actually happening in the field. Furthermore, the two approaches are so disparate that they are often hard to reconcile. This leads to a lack of robust experimental data for analysing the dispersal of minute insects. In this context, the double-spiral maze can offer a complementary, intermediate scale of study, borrowing the experimental power of microscale laboratory studies, while reaching spatial and temporal scales close to field processes. In this sense, it is a “mesoscale” set-up.

We have shown here that our system allowed to quantify dispersal metrics with great precision and identify qualitatively different types of dispersal dynamics. The method returns high quality data, with an average detection rate greater than 70%, that is stable along the path of the double spiral maze and over time. It is straightforward, with no other change in the protocol, to increase this performance if required, by increasing the frequency of image captures (e.g. one every 10 s is totally feasible) and/or increasing image resolution (50–60 Mpx sensors already available). This would come at the expense of greater data-storage requirements and data-processing times but would provide even greater experimental power. The original shape of the double spiral maze brings decisive advantages, and we showed that it had no appreciable impact (see *Symmetry and spiralling direction* above) on the results obtained with our study system *Trichogramma cacoeciae*. Of course, such a verification should be made for any other study system, but our results suggest it would work equally with many similar organisms. We could obtain a satisfying lighting with few variations at low cost, though one could certainly reduce these variations further, if required, by purchasing more homogeneous light sources, or by applying a custom translucent mask to cancel out the heterogeneity of the source. Similarly, the light intensity of 9800 lx used here can easily be adjusted by inflating or dimming the light source. The nature of the lighting can also be adjusted; for instance, switching to IR lighting to monitor the activity of organisms at night for example, would require only minor adjustments. The use of laser cutting allows for ease and speed of production, as well as perfect reproducibility between prototypes. The double spiral maze is therefore an inexpensive and very scalable device. The technical robustness of the double spiral maze and its versatility, a direct result of its conception, allows to raise and address a broad range of biological questions.

As an example, the double spiral maze can be used to screen strains or genotypes and to quantify intraspecific and interspecific variation in dispersal. Furthermore, the possibility to add environment features such as host eggs, as we have done, offers the possibility to study parasitism rates, relate them to individual movements, and study the effects of host density and distribution on population spread. The location of individuals also permits to identify patterns of host processing and interactions e.g. the time spent on the eggs to be parasitized or the number of individuals on the hosts. It must be stressed here that we have worked on a clonal species, so that complications arising from sex differences and mating dynamics could be disregarded. However, it would be entirely possible to apply the protocol presented here to sexual species, such as *Trichogramma evanescens*. The use of the double spiral maze on sexual species would answer many questions about differential dispersal between sexes. Differences in dispersal between sexes seem frequent and variable from one species to another<sup>51</sup>. If we had worked with a sexual species, we could probably have observed that males disperse less than females<sup>52,53</sup>. Ideally, our image-analysis pipeline could be improved in order to add the possibility for automatic sex-identification of individuals, an extension we are currently pursuing.

The possibilities are rich beyond the simple application presented here. In this article, we could document intraspecific genetic variation in the final MSD after six hours, with strains dispersing significantly more (such as Citron, TCVigne, TSM008) and others being more sedentary (like PJ or ACJY144; Fig. 6a). This is the first report

of such variation in this species. Furthermore, we could demonstrate that most strains did not undergo simple diffusive dispersal (only 14% had, 2/14) but had more complex types of spatial propagation involving two or three phases (Fig. 6). This non-linearity of the MSD is consistent with the fact that the distribution of individuals was often not normal (see e.g., ACJY144 in Fig. 6), as one would expect in the case of classical diffusion<sup>34</sup>. Interestingly, the type of dynamics was unrelated to the final MSD, and so strains with similar final MSD could exhibit different temporal dynamics of spread: this was the case for strains Citron (type 2) and TCVigne (type 3). The type of dynamics is thus an additional, independent, component of the dispersal phenotype, and one that could only be characterized with the continuous tracking that our imaging pipeline permits.

Several mechanisms could explain the existence of these different types of dispersal. Type 2 is characterized by a latency phase with relatively slow spatial spread, followed by a sustained phase of faster spatial spread. The latency phase can be as long as two hours and fifteen minutes (strain ACJY144). This is much longer than typical small scale and behavioural experiments, stressing the difficulty to scale-up from short-term observations and the importance of studying spatial spread at larger scales. Type 3 is also characterized by a latency phase followed by a fast phase, but eventually the rate of spatial spread slows down again after several hours. Individuals did not reach the tips of the maze in six hours: this occurred very rarely (a few individuals, in only two out of 140 replicates). Therefore, type 3 dispersal cannot be accounted for by a boundary effect. The slowdown phase may rather reflect the fact that females have already parasitized several hosts by that time, and therefore switch to a different exploration pattern<sup>54</sup>. Additionally, a relationship between egg load and activity rate has already been described in other parasitoid species, and attributed to “ovarian pressure”<sup>55,56</sup>. Of course, these differences in dispersal dynamics might also incorporate potential variations in diurnal patterns of activity among strains. Elucidating the behavioural mechanisms responsible for these different types of dispersal and their genetic basis is beyond the scope of this article but opens many interesting research questions. Also, it is important to keep in mind that these dispersal patterns were identified in a particular experimental context. We worked at high density (more than a hundred individuals introduced). We obviously cannot exclude that working at even higher or even lower densities, the patterns would be different. This has also been highlighted on *T. cacoeciae*. Indeed, higher population density promotes population spread<sup>33</sup>. Since our objective here was more technical and methodological than biological, we chose to set our working densities first. We could of course study the effects of density with our device. Finally, regarding our results, it is essential to realize that when using the double spiral maze with small insects such as *Trichogramma* individuals, the apparent impossibility of flying is actually not a problem. In fact, *Trichogramma* individuals fly very little, they are essentially walking insects. They can eventually make a few small jumps that can be observed even with the dimensions of the spiral used here.

The system can easily be adapted to other small walking organisms, such as acari, ants, aphids or carabids, or even larger organisms for which the use of the double spiral would facilitate experiments and the obtention of larger amounts of data. Indeed, its ease of design and fabrication allows for easy modification of its dimensions. Laser cutters that can readily cut dimensions as large as  $3 \times 2$  meters<sup>57</sup>, so that mazes that are broader and/or longer are straightforward to build. For instance, we are currently working with a larger parasitoid species, using a double spiral maze 2 cm in width and height, and 11 m in total length. The analysis pipeline is otherwise unchanged. Obviously, the dimensions must be suited to the scale and biology of the study organism. Even more spectacular scales could be attained using other construction methods, with larger organisms, including those for which dispersal is much studied, such as the common lizard<sup>58,59</sup>. It is also straightforward to alter the shape of the tunnel and, for instance, to engineer large sections along it, separated by narrower sections (in the vein of the approach in Fig. S1), to mimic a linear sequence of connected habitat patches. Beyond terrestrial organisms, the double spiral maze can be adapted to aquatic organisms with minor adjustments, as questions of movement and dispersal are also widely addressed in such organisms, from aquatic micro-organisms to fish<sup>60,61</sup>. Despite its many advantages, our system comes with limitations. Indeed, its dimensions can easily prevent insects from flying. But once again, due to the flexibility of the design, it is quite straightforward to change the height of the spiral walls so that they are high enough to allow short-range flight behaviours. However, it could then become more complicated to couple the maze to an imaging device as we have done.

To conclude, we introduced a new type of ethoscope and analysis pipeline that helps bridge the gap between small and large scales in experimental studies of movement and dispersal. This opens new perspectives to extend our understanding of dispersal in different groups of living organisms. This is true in particular for very small insects, an under-studied yet important groups for which other methods based on the use of sensors are not adapted<sup>27,29</sup>. From a more applied point of view, the spiral offers an easy way to quantify Mean Squared Displacements, which must otherwise be inferred indirectly from laborious field experiments. A first attempt at scaling-up with a small and simple arena evidenced in a correlation between the movement speed of *T. maidis* females and the dispersal capacity in the field<sup>62</sup>. Dispersal ability in the laboratory and in the field was also compared using the zig-zag arena of Honda et al., 1999 in species *T. cordubensis* and *T. deion*, although in qualitative terms only<sup>63</sup>. With organisms such as *Trichogramma* that are used in biocontrol, the double spiral maze offers the possibility of reducing greenhouse or field experiments necessary to select the species and strains, and to conduct high-throughput screenings on larger sets of candidate species and strains. Selection on searching capacity would thus not be secondary anymore<sup>64</sup>.

## Methods

**Micro wasps.** *Trichogramma cacoeciae* individuals used in this study were supplied by the INRAE biological resource centre “EggParasitoids Collection” (CRB EP-Coll, Sophia Antipolis) which continuously rears a panel of *Trichogramma* strains. The strains used in these experiments were collected in France in different geographical locations, and on various plant species, between 1987 and 2016. These strains have been raised on sterilised (UV irradiated) *Ephestia khueniella* eggs, on a 14 days development cycle at 25 and 18 °C.

Approximately 200 parasitized eggs of *Ephestia khueniella* stuck on strips were isolated 36 h before the experiments in small PCR tubes for each strain to be tested 36 h later. A drop of honey was placed in each of these tubes. These tubes were then placed at 25 degrees so that the females would emerge and be one day old. On the day of the experiment, the strips with the eggs from which the females emerged were removed in order to allow the introduction of the individuals in the double spiral mazes. Thus, an average of 185 female individuals were introduced in each replicate. Females were therefore 24 h old, ready to disperse and to lay eggs, as they are born with their stock of eggs<sup>46</sup>.

**Construction and assembly of the double spiral maze.** Here we present in detail how the device is designed. It consists of three superimposed plates:

- An intermediate plate in white opaque Polymethylmethacrylate (PMMA, Plexiglas) of 330 × 440 mm in which the double spiral has been laser cut with a laser cutting machine Trotec Speedy 100. The double spiral thus cut forms a 5.75 m tunnel, 1 cm wide and 0.5 cm high. The height/width ratio of the device was chosen to match that of the photo sensor used (24 × 36 mm) during the experiments, and thus maximise the use of the sensor pixels. The length of the tunnel was limited by the size of the device, which we wanted to be sufficiently compact to be photographed with a single 36 Mpx sensor, by the width of the path that we set ourselves, (1 cm), and by the width of the walls separating each path in order to limit the possibilities of individuals escaping between the different spires of the spiral. In relation to this size and after successive trials, we found that the dispersal of *Trichogramma* individuals never exceeded the proposed length, after six hours. For other organisms, and/or longer experiments, the design of the spiral must of course be scaled appropriately.
- Two transparent PPMA plates, framing the double spiral plate at the bottom and top. The top plate also has a central hole through which the individuals under study can be inserted. The three Plexiglas plates are pierced at eight points, which constitute the clamping points that hold the three plates together and ensure that the device is airtight, but above all that it is airtight to the individuals that disperse in it. The entire device is illuminated from below by a LED plate (119.5 × 59.5 cm), which induces a backlighting effect, thus creating a stronger contrast between the insects studied and the rest of the lighting (light tunnel of the spiral). Dextrogyre and levogyre mazes have been created in case the direction of rotation influences the observed results. No significant effect has been detected (see "Methods"). In the experiments we conducted, a tracing paper sheet with *E. khueniella* eggs has been added between the lowest PMMA plaque and the double spiral path.

It is important to note that to assemble the whole device, only three plates of PMMA, a quick and easy design with the free software Inkscape<sup>32</sup> and access to a laser cutting machine are necessary. This allows for easy customization and fast/cheap replication.

In our case, experiments were performed using the previously described double spiral maze device and its lighting system. Individuals were introduced as described in the introduction test protocol. The mazes were placed under NIKON D810 cameras equipped with an AF-S Micro NIKKOR 60 mm f/2.8G ED lens, at a height of 70 cm, maximizing the use of the sensor pixels. The system as presented here offers a resolution of 36 Mpx.

The double spiral maze was surrounded by a box preventing stray light. This box is an empty rectangle with 4 walls covered with black canson paper, with a height of 8 cm.

The focus, camera settings adjustments, and camera trigger were made using the free *DigiCam Control 2* software<sup>65</sup>, V.2.0.0. The following settings were used to optimize the exposure of the image: ISO 125, Shutter speed 1/125 and aperture f/11.0.

Once all the adjustments were made, the image capture sequence was launched for six hours (one photograph taken every minute). Images were saved in RAW format (for storage efficiency) and transformed to TIFF format using Darktable software<sup>66</sup> (V 2.4.2-1), prior to analysis. Converted images were then analyzed with the ImageJ/R pipeline we provide and describe below.

**Image analysis pipeline for the automatic detection of individuals through time.** The image analysis pipeline can be found at [https://forgemia.inra.fr/ludovic.mailleret/double\\_maze\\_arena](https://forgemia.inra.fr/ludovic.mailleret/double_maze_arena) under the name "Principal\_Macro". The pipeline can be easily run in ImageJ (V 1.51q-1) using the following sequence of actions:

*Plugins > Macros > Run*

Then select the macro file to be used ("Principal\_Macro").

The image analysis pipeline starts by a conversion of the images into grayscale (8-bit). Then the moving particles are detected by the calculator function. A threshold is then chosen so that the moving particles detected correspond only to insects, not artifacts. The analysis of the particles is then launched, yielding the coordinates of each particle detected.

The automatic pipeline for image analysis is applied to all the images obtained during the experimentation, i.e. 360. To reduce the needs in memory, images are loaded by packs of 60 images, in a sliding window manner (adjustable parameter). Here is the main sequence of actions carried out in ImageJ by our pipeline:

- *File > Import > Image Sequence*: Importation of the image sequence to be analyzed.
- *Image > Type > 8-bit*: conversion of the images in 8-bit, i.e., in shades of grey. The software assigns to each pixel a value from 0 (black) to 255 (white).
- *Image > Stacks > Z project*: tracking and analysis of the particles of an image over time to define a still background image, on which the particles move. The background image is subtracted from the actual image to distinguish the moving particles.

- *Process > Image calculator*: particles tracking on each image, based on the background calculated previously. During this process, the background is removed to leave only mobile particles (the "Subtract" option must be chosen and "32-bit (float)" must be used).
- *Image > Adjust > Threshold*: Definition of the threshold on the images from which the background has been subtracted, to consider only the trichograms. Simply uncheck "Dark Background" and set the sliders so that only the trichograms are detected in red.
- *Analyze > Set Measurements*: Step to select the set of parameters that will be measured with the *Analyze particles* function. We have selected shape parameters: circularity for which a value of 1 indicates a perfect circle and 0 an elongated shape, solidity to make an area selection convex, area of the detected particle in square pixels and the aspect ratio which corresponds to the description of the ratio of the width and height of a given pixel.
- *Analyze > Analyze Particles*: Launching the analysis, based on the parameters previously set.

Upstream, the skeleton of the spiral (line tracing the center of the path of the double-spiral maze) is realized on each image sequence. The macro to realize the skeleton is available at [https://forgemia.inra.fr/ludovic.maillret/double\\_maze\\_arena](https://forgemia.inra.fr/ludovic.maillret/double_maze_arena) under the name "Macro\_Skeleton" and needs the installation of the plugin "Spi\_rou" available at the same address. The skeleton is realized on the calculated background:

*Process > Binary > Skeletonize*. This "skeletonize" is used to create a skeleton along the double spiral path. The resulting skeleton is then cut into small particles using a grid that creates a cut point at each meeting point between it and the skeleton to create a particle. The center of the spiral is then defined by drawing the diagonals of the spiral. It is therefore possible to obtain for each particle its position relative to the center, giving us the possibility to access its distance to the center. Later, in R, we will be able to give a position to each detected particle by associating its distance to the associated skeleton particle thanks to an orthogonal projection.

The last step of this image analysis pipeline is realised with the R software<sup>36</sup>. The data obtained from the automatic particle detection are cleaned thanks to different filters to obtain particles which only correspond to *Trichogramma* individuals (Fig. 4):

- A filter on redundancy, assuming that one trichogramma cannot be twice at the same spot over time.
- A filter on particle size, knowing the average size of a *Trichogramma* individual.
- A filter on their distance from the edge of the spiral path.
- A filter on the shape of the particles detected using a circularity value, knowing that *Trichogramma* individuals are quite circular particles.

**Validation of distribution symmetry and effect of rotation direction.** To check whether the shape of the maze, i.e., the rotation direction (levo-versus dextrogyrous mazes) and the symmetry (left versus right arms) did not bias dispersal in some way. We conducted tests on 14 strains of *Trichogramma cacoeciae*, at each minute of time. Therefore, to all the *p*-values obtained for both rotation direction and symmetry, a Bonferroni correction has been applied. For the rotation direction, ANOVA analyses have been run on simple linear models, with the Mean Squared Displacement as the explained variable and the rotation direction as the explanatory variable. For the symmetry of the repartition of the individuals inside the maze, the *skewness.norm.test* function from the *normtest* package (V 1.1)<sup>67</sup>, which compares the skewness of the distribution to the theoretical value of 0, has been used.

**Steps for the verification of image coverage.** In order to compare the real surface of the double spiral maze path with the surface of what is actually photographed, we performed a calculation of the surface of the double spiral path on a photograph using Image J software<sup>38</sup>, as well as an area calculation on the spiral cutting drawing in Inkscape software (V1.1.1).

In the ImageJ software<sup>38</sup>, after having calibrated the scale in cm, we thresholded the image using the "Color Threshold" tool in order to obtain a thresholding selecting only the interior of the spiral path. Then we created a binary version of the image. Finally, using the "Analyze particles" function of ImageJ, we could obtain the area of the thresholded part.

At the same time, with the Inkscape software<sup>32</sup>, we simply selected the interior of the spiral path and with the menu Extension, Visualize path, Measure path, we selected as the variable to be measured the area.

The two areas thus obtained were compared using a ratio.

**Manual scoring for the validation of the hi-resolution image analysis pipeline.** To assess the performance of the automatic detection of individuals, we performed a manual scoring of individuals present in the maze on ten replicates at three different times: after two, three and five hours. After this, the location of all the manually tagged individuals on all images was automatically recovered using an ImageJ macro. The manually annotated (x,y) coordinates of *Trichogramma* individuals were transformed into « distance from the introduction hole » by projecting them onto the skeleton of the spiral as previously explained. This provided the ground truth for this set of images, which could be compared to the corresponding results obtained using the automatic image analysis pipeline.

**Piecewise linear regressions, Mean Square Displacement and statistical tests.** To ensure data independence, MSDs measured at each minute were averaged across replicates over 15 min time windows. Therefore, instead of having 360 measurement points, 24 averaged measurements remained. The time window



of 15 min was chosen after previously testing different times: 2, 5 and 10 min. The autocorrelation between successive residuals (lag 1) was checked with the *acf* function applied on the residuals of each section. The time window was extended until all lag1 autocorrelation was no longer significant. With 10 min, there was still 23% autocorrelation.

Once the time window was chosen, averages on the time window were calculated for each strain and replicate and finally averaged to have one value per 15 min for each strain. On these data, simple regressions, with the *lm* function, as well as piecewise regressions with two or three pieces, with the *segmented* function from the package *segmented* (V 1.60-2)<sup>68</sup>, were generated for each strain. Likelihood Ratio Tests were performed with the *anova* function, to assign the best regression to each strain.

By obtaining these data we were then able to investigate how much of the variability in final MSD was explained by differences between strains. To do so, an ANOVA model was performed on the final MSD with the following explanatory variable: Replicate which accounts for the variability associated with the days of experience; the number of detections by the pipeline for each replicate, the orientation of the double spiral maze (levogyrous or dextrogyrous) and finally the strain. As outputs, we recovered the sum of squares of the treatment “Strain” (SST(1)) and the sum of squares of the residual (SSR) error, as well as the sum of squares of the other treatments (SST(2)) to calculate the following ratio:  $SST(1)/(SSR + SST(1) + SST(2))$ .

## Data availability

Code to use the image analysis pipeline and to filter the obtained data is found at [https://forgemia.inra.fr/ludovic.mailleret/double\\_maze\\_arena](https://forgemia.inra.fr/ludovic.mailleret/double_maze_arena) with a GNU general public license. An R script that generates all the results in this paper, from figures to statistical tests, is also included. The complete dataset used for the results is also available in a compressed format. The script has been used with R V 4.0.0 (2020-04-24) – “Arbor Day”.

Received: 23 September 2022; Accepted: 15 March 2023

Published online: 30 March 2023

## References

- Osborne, J., Loxdale, H. & Woivod, I. Monitoring insect dispersal: Methods and approaches. *undefined/paper/Monitoring-insect-dispersal%3A-methods-and-approaches-Osborne-Loxdale/3a4e69a3736f5e1ba47cb2556c35d63bf1ac765* (2002).
- Bowler, D. E. & Benton, T. G. Causes and consequences of animal dispersal strategies: Relating individual behaviour to spatial dynamics. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* **80**, 205–225 (2005).
- Clobert, J., Danchin, E., Dhondt, A. A. & Nichols, J. D. *Dispersal* (Oxford University Press, 2001).
- Hawltzky, N. La lutte biologique à l'aide de Trichogrammes. (1982).
- van Lenteren, J. Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. *Biol. Plant Health Prot. Ser. Prog. Zool.* **32**, 31–56 (1986).
- Hegazi, E. *et al.* Dispersal and field progeny production of *Trichogramma* species released in an olive orchard in Egypt. *Biocontrol* **57**, 481–492 (2012).
- Cronin, J. T. & Reeve, J. D. Host–parasitoid spatial ecology: A plea for a landscape-level synthesis. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **272**, 2225–2235 (2005).
- Van Driesche, R., Hoddle, M. & Center, T. *Control of Pests and Weeds by Natural Enemies: An Introduction to Biological Control* (Blackwell Publishing, 2008).
- Oliveira, R. C. M. *et al.* Dispersal of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in cabbage, cucumber, and sweet corn. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020190412> (2020).
- Ronce, O. How does it feel to be like a rolling stone? Ten questions about dispersal evolution. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **38**, 231–253 (2007).
- Pielou, E. C. Crosscurrents in biogeography: Vicariance biogeography. A Critique. Papers from a symposium, May 1979. Gareth Nelson and Donn E. Rosen, Eds. Columbia University Press, New York, 1981. xviii, 594 pp., illus. \$35. *Science* <https://doi.org/10.1126/science.213.4505.324> (1981).
- Asplen, M. K. Dispersal strategies in terrestrial insects. *Current Opin. Insect Sci.* **27**, 16–20 (2018).
- Croteau, E. *Causes and Consequences of Dispersal in Plants and Animals* | Learn Science at Scitable. <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/causes-and-consequences-of-dispersal-in-plants-15927714/> (2010).
- Eggleton, P. & Belshaw, R. Insect parasitoids: An evolutionary overview. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **337**, 1–20 (1992).
- Souza, A., Giustolin, T., Querino, R. & Alvarenga, C. natural parasitism of Lepidopteran eggs by *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in agricultural crops in Minas Gerais, Brazil. *Florida Entomologist* **99**, 221–225 (2016).
- Naïbo, B. & Druesne, C. Pour limiter les usages des produits phytosanitaires, tout en protégeant efficacement les cultures, des méthodes de lutte alternatives existent. C'est le cas du trichogramme, un petit hyménoptère qui détruit les populations de pyrale dans les champs de maïs. Une méthode qui a fait ses preuves à grande échelle. 3 (2008).
- Varley, M. J., Copland, M. J. W., Wratten, S. D. & Bowie, M. H. Parasites and predators. In *Video Techniques in Animal Ecology and Behaviour* (ed. Wratten, S. D.) 33–63 (Springer, 1994). [https://doi.org/10.1007/978-94-011-0699-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0699-3_3).
- van Lenteren, J. Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. *Biol. Plant Health Prot. Ser. Progress Zool.* **32**, 31–56 (1986).
- Wang, K. & Shipp, J. Effect of release point density of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on control efficacy of *Keiferia lycopersicella* (Walsingham) (Lepidoptera: Gelechiidae) in greenhouse tomato. *Biol. Control* **30**, 323–329. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2004.01.016> (2004).
- Cònsoli, F. L., Parra, J. & Zucchi, R. *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma* (Springer, 2010). <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9110-0>.
- Oliveira, R. C. M. *et al.* Dispersal of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in cabbage, cucumber, and sweet corn. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **92**, e20190412 (2020).
- Morales, J. M. *et al.* Building the bridge between animal movement and population dynamics. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **365**, 2289–2301 (2010).
- Chen, L., Enkegaard, A. & Sørensen, J. G. Temperature affects biological control efficacy: A microcosm study of *Trichogramma achaeae*. *Insects* **12**, 95 (2021).
- Geissmann, Q. *et al.* Ethoscopes: An open platform for high-throughput ethomics. *PLoS Biol.* **15**, e2003026 (2017).
- Branson, K., Robie, A. A., Bender, J., Perona, P. & Dickinson, M. H. High-throughput ethomics in large groups of *Drosophila*. *Nat. Methods* **6**, 451–457 (2009).

26. Gliessman, S. R. Integrating agroecological processes into cropping systems research. *J. Crop Improv.* **11**, 61–80 (2004).
27. Batsleer, F. *et al.* The neglected impact of tracking devices on terrestrial arthropods. *Methods Ecol. Evol.* **11**, 350–361 (2020).
28. Kays, R., Crofoot, M. C., Jetz, W. & Wikelski, M. Terrestrial animal tracking as an eye on life and planet. *Science* **348**, aaa2478 (2015).
29. Kenward, R. in *A Manual for Wildlife Radio Tagging* 2nd edn. <https://www.elsevier.com/books/a-manual-for-wildlife-radio-tagging/kenward/978-0-08-057420-2> (2000).
30. Honda, J. Y., Silva, I. M. M. S., Vereijssen, J. & Stouthamer, R. Laboratory bioassay and greenhouse evaluation of *Trichogramma cordubensis* strains from Portugal. *Biocontrol* **44**, 1–11 (1999).
31. Tung, S. *et al.* Simultaneous evolution of multiple dispersal components and kernel. *Oikos* **127**, 34–44 (2018).
32. Harrington, B. *et al.* *Inkscape*. <http://www.inkscape.org/>. (2004–2005)
33. Burte, V., Cointe, M., Perez, G., Mailleret, L. & Calcagno, V. *When Complex Movement Yields Simple Dispersal: Behavioural Heterogeneity, Spatial Spread and Parasitism in Groups of Micro-wasps*. 2022.09.14.507936. Preprint at <https://doi.org/10.1101/2022.09.14.507936> (2022).
34. Turchin, P. *Quantitative Analysis of Movement: Measuring and Modeling Population Redistribution in Animals and Plants* (Sinauer, 1998).
35. Lewis, M. A., Maini, P. K. & Petrovskii, S. V. *Dispersal, individual movement and spatial ecology. Lecture Notes in Mathematics (Mathematics Bioscience Series)* Vol. 2071 (Springer, 2013).
36. R Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing* (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020). <https://www.R-project.org/>.
37. Dell, A. I. *et al.* Automated image-based tracking and its application in ecology. *Trends Ecol. Evol.* **29**, 417–428 (2014).
38. Rasband, W. S. *ImageJ*. <https://imagej.nih.gov/ij/docs/index.html>. (1997).
39. Pak, G. A. Inundative release of *Trichogramma* for the control of cruciferous Lepidoptera: Preintroductory selection of an effective parasitoid, vol 12 (2003).
40. Heimpel, G. E. & Mills, N. J. *Biological Control: Ecology and Applications* (Cambridge Core, 2017). <https://www.cambridge.org/core/books/biological-control/0C7E4E84AAB030EB1CD06D93EA288C95>. <https://doi.org/10.1017/9781139029117>.
41. Murdoch, W., Chesson, J. & Chesson, P. Biological control in theory and practice. *Am. Nat.* **125**, 344–366 (1985).
42. Vandermeer, J. The ecological basis of alternative agriculture. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **26**, 201–224 (1995).
43. Corbett, A. & Rosenheim, J. A. Quantifying movement of a minute parasitoid, *Anagrus epos* (Hymenoptera: Mymaridae), using fluorescent dust marking and recapture. *Biol. Control* **6**, 35–44 (1996).
44. Heimpel, G. E. & Asplen, M. K. A ‘Goldilocks’ hypothesis for dispersal of biological control agents. *Biocontrol* **56**, 441–450 (2011).
45. Ivezić, A., Rugman-Jones, P., Malausa, T., Ris, N. & Ignjatović-Ćupina, A. Molecular identification of *Trichogramma* species parasitizing *Ostrinia nubilalis* in corn and pepper in south–east border of Europe. *Int. J. Pest Manag.* **67**, 346–357 (2021).
46. Volkoff, A. N. & Daumal, J. Ovarian cycle in immature and adult stages of *Trichogramma cacoeciae* and *T. brassicae* (Hym.: Trichogrammatidae). *Entomophaga* **39**, 303–312 (1994).
47. Keller, M. A. Influence of leaf surfaces on movements by the hymenopterous parasitoid *Trichogramma exiguum*. *Entomol. Exp. Appl.* **43**, 55–59 (1987).
48. Zhou, J.-C. *et al.* Optimal clutch size for quality control of bisexual and *Wolbachia*-infected thelytokous lines of *Trichogramma dendrolimi* Matsumura (Hymenoptera: Trichogrammatidae) mass reared on eggs of a substitutive host, *Antheraea pernyi* Guérin-Méneville (Lepidoptera: Saturniidae). *Pest Manag. Sci.* **76**, 2635–2644 (2020).
49. Babendreier, D., Schoch, D., Kuske, S., Dorn, S. & Bigler, F. Non-target habitat exploitation by *Trichogramma brassicae* (Hym. Trichogrammatidae): what are the risks for endemic butterflies?. *Agric. Forest Entomol.* **5**, 199–208 (2003).
50. Fournier, F. & Boivin, G. Comparative dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in relation to environmental conditions. *Environ. Entomol.* **29**, 55–63 (2000).
51. Martel, V. & Boivin, G. Premating dispersion in the egg parasitoid *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Environ. Entomol.* **33**, 855–859 (2004).
52. Forse, E., Smith, S. M. & Bourchier, R. S. Flight initiation in the egg parasitoid *Trichogramma minutum*: Effects of ambient temperature, mates, food, and host eggs. *Entomol. Exp. Appl.* **62**, 147–154 (1992).
53. Stern, V. M., Schlinger, E. I. & Bowen, W. R. Dispersal studies of *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) tagged with radioactive phosphorus<sup>32</sup>. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **58**, 234–240 (1965).
54. Pompanon, F., Fouillet, P. & Bouletreau, M. Physiological and genetic factors as sources of variation in locomotion and activity rhythm in a parasitoid wasp (*Trichogramma brassicae*). *Physiol. Entomol.* **24**, 346–357 (1999).
55. Collins, M. D. & Dixon, A. F. G. The effect of egg depletion on the foraging behaviour of an aphid parasitoid. *J. Appl. Entomol.* **102**, 342–352 (1986).
56. Rosenheim, J. A. & Rosen, D. Foraging and oviposition decisions in the parasitoid *Aphytis lingnanensis*: Distinguishing the Influence of egg load and experience. *J. Anim. Ecol.* **60**, 873 (1991).
57. abaqueplast. Découpe laser du plastique (plexi, pmma, Altuglas, plexiglas, plexiglass). <https://abaqueplast.fr/content/20-decoupe-au-laser-du-plastique>.
58. Léna, J.-P., Clobert, J., de Fraipont, M., Lecomte, J. & Guyot, G. The relative influence of density and kinship on dispersal in the common lizard. *Behav. Ecol.* **9**, 500–507 (1998).
59. Cote, J., Clobert, J., Brodin, T., Fogarty, S. & Sih, A. Personality-dependent dispersal: characterization, ontogeny and consequences for spatially structured populations. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **365**, 4065–4076 (2010).
60. Walter, T. & Couzin, I. D. TRex, a fast multi-animal tracking system with markerless identification, and 2D estimation of posture and visual fields. *Elife* **10**, e64000 (2021).
61. Fronhofer, E. A., Klecka, J., Melián, C. J. & Altermatt, F. Condition-dependent movement and dispersal in experimental metacommunities. *Ecol. Lett.* **18**, 954–963 (2015).
62. Bigler, F., Bieri, M., Fritschy, A. & Seidel, K. Variation in locomotion between laboratory strains of *Trichogramma maidis* and its impact on parasitism of eggs of *Ostrinia nubilalis* in the field. *Entomol. Exp. Appl.* **49**, 283–290 (1988).
63. Silva, I. M. M. S. *et al.* Biological control potential of *Wolbachia*-infected versus uninfected wasps: Laboratory and greenhouse evaluation of *Trichogramma cordubensis* and *T. deion* strains. *Biocontrol Sci. Technol.* **10**, 223–238 (2000).
64. Myint, Y. Y. *et al.* Selection of the most effective *Trichogramma* strains (Hymenoptera: Trichogrammatidae) from myanmar to control Asian Corn Borer, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae). *J. Econ. Entomol.* **115**, 81–92 (2022).
65. Istvan, D. *digiCamControl*. (2023).
66. Dartable Community. Getting started. *GitHub* <https://github.com/darktable-org/darktable/wiki/Getting-started>.
67. Gravilov, I., & Pusev, R. *Normtest: Tests for Normality*. (R package version 1.1, 2014). <https://CRAN.R-project.org/package=normtest>.
68. Mugge, V. M. R. Estimating regression models with unknown break-points. *Stat. Med.* **22**, 3055–3071 (2003).

## Acknowledgements

We warmly thank all the members of the “SoFAB” (the FabLab of Sophia Antipolis) who helped us to develop the double spiral maze by sharing with us their knowledge and their know-how with the laser cutting machine.

Fundings are from INRAE (SPE Department) and Université Côte d'Azur (UCA-JEDI; ANR-15-IDEX-01) which supported M. Cointe's PhD.

### Author contributions

M.C., V.C., L.M., G.P. and V.B. designed the experiments. M.C. and G.P. performed the experiments. M.C. and V.C. analysed the data. M.C. and V.C. wrote the manuscript with inputs from all authors.

### Competing interests

The authors declare no competing interests.

### Additional information

**Supplementary Information** The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31630-8>.

**Correspondence** and requests for materials should be addressed to M.C.

**Reprints and permissions information** is available at [www.nature.com/reprints](http://www.nature.com/reprints).

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2023

## Supplementary material: a double-spiral maze and hi-resolution tracking pipeline to study dispersal by groups of minute insects

Cointe, M.<sup>a\*</sup>, Burte, V.<sup>a</sup>, Perez, G.<sup>a</sup>, Mailleret, L.<sup>ab</sup> & Calcagno, V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Université Côte d'Azur, INRAE, CNRS, Institut Sophia Agrobiotech, Sophia Antipolis, France

<sup>b</sup> Université Côte d'Azur, Inria, INRAE, CNRS, Sorbonne Université, Biocore, Sophia Antipolis, France

\*Author for correspondence: [melina.cointe@inrae.fr](mailto:melina.cointe@inrae.fr)

### Supplementary Material

Material	Number of units	Unit price (€)	Total price (€)	Commercial reference
Opaque Plexiglas plate of 1000x1000 mm	1	34.4	34.4	Richardson
Transparent Plexiglas plate of 1000x1000 mm	2	40.95	40.95	Richardson
Camera Nikon D810	1	1298	1298	Idealo.fr
Use of a LASER cutting machine hourly rate	1	60	60	SoFab Sophia Antipolis
			<b>1433.4</b>	

**Table S1.** Evaluation of the cost of production and use of the double spiral maze. The dimensions of the sold plates actually allow the production of two double spiral mazes.



Strain	Test Duration (hours)	Mean number of individuals in the tested zones	Leaks observed by eye	Parasitized sentinel eggs	Tested zones
PMBIO1	48	78	None	0	17,16,11,19,31,27,37
PMBIO1	48	46	None	0	6,8,16,17,19,22,26,37
ACJY144	48	128	None	0	1,3,13,21,25,29,39
PMBIO1	48	71	None	0	10,2,35,28
PJ	48	60.5	None	0	5,15,7,30,36,20
PUG029	48	64.2	None	0	32,38,24,12,9,14
PUG029	48	73	None	0	17,16,11,19,27,34
PMBIO1	48	61	None	0	6,8,22,37,31
ACJY144	48	44.4	None	0	33,1,3,13,21,25,23,39
PMBIO1	48	65,2	None	0	10,2,35,28,15
PMBIO1	48	86	None	0	5,15,7,30,36,20
PMBIO1	48	76.5	None	0	32,38,24,12,9,14

**Table S2.** Results of the quality of sealing test

Strain	Introduced Individuals	Remaining individuals inside the tube	Total of individuals	Number of eggs on a strip introduced in the tube	Introduction Rate
PMBIO1	45	38	83	100	54.2
PMBIO1	78	51	129	150	60.5
ACJY144	99	60	159	220	62.3
PJ	109	45	154	600	70.8
PMBIO1	166	48	214	500	77.6
PMBIO1	96	60	156	200	61.5
PMBIO1	92	65	157	200	58.6
PMBIO1	63	27	90	200	70
PMBIO1	62	24	86	200	72.1
PMBIO1	92	70	162	200	56.8
PMBIO1	90	73	163	200	55.2
PMBIO1	80	40	120	200	66.7
PMBIO1	79	30	109	200	72.5

Table S3. Results of the introduction of individuals test

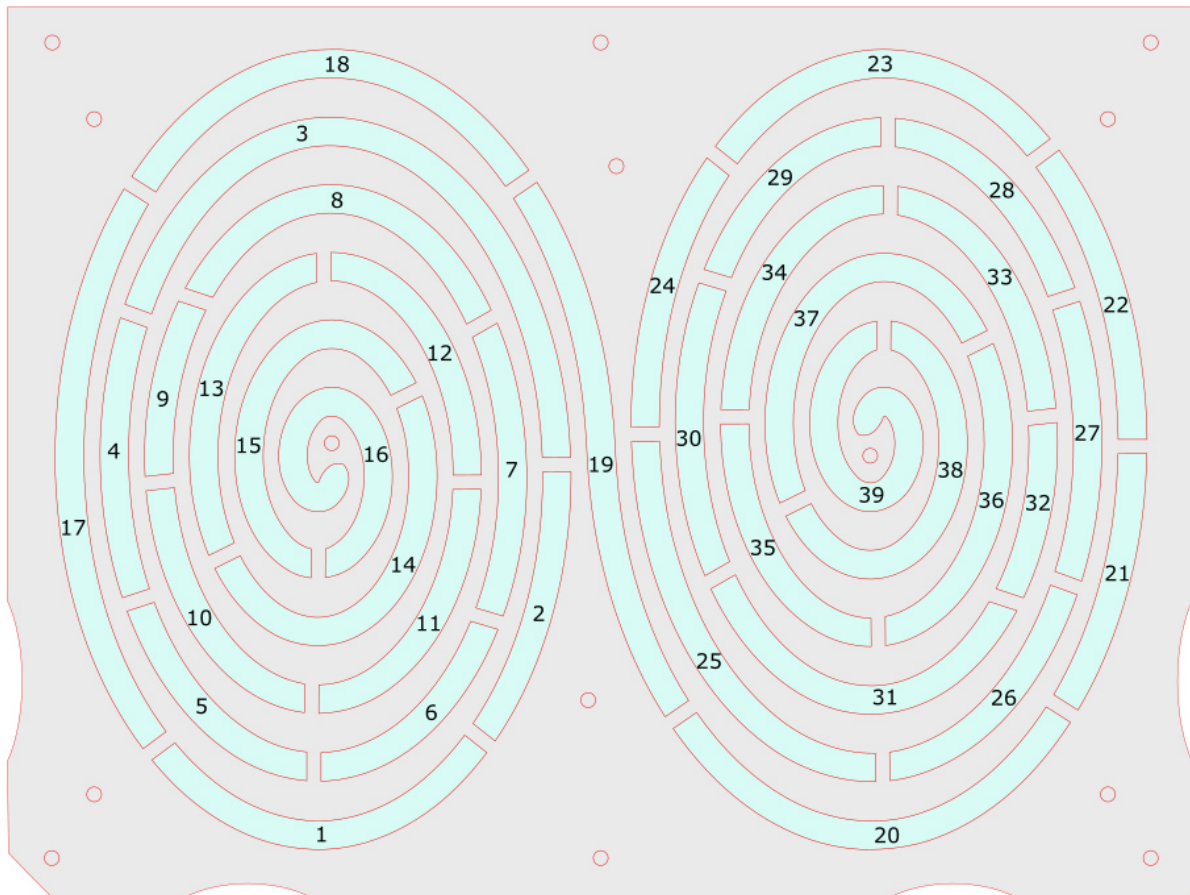
Strain	Sample Location	Capture Plant	Sampling year
ACJY144	Aime, France	Ash tree	2015
BL103b	Le Change	Primrose	2016
CAS052	Castellane	Boxwood	2016
Citron	Grasse	Lemon tree	2012
FLO239	Le Crouzet	Rose bush	2016

GOT0130	Gotheron	Apple tree	2016
ISA1075	Maurice de Beynost	Plum tree	2015
MES008	Beaumat	Maple tree	1987
PJ	France	Laboratory strain	2015
PMBIO1	France	Unknown	2014
PUG233	La Pugère	Apple tree	2015
TCMz	France	Unknown	1987
TCVigne	France	Unknown	1987
TSM008	Tours sur Meymont	Apple tree	2015

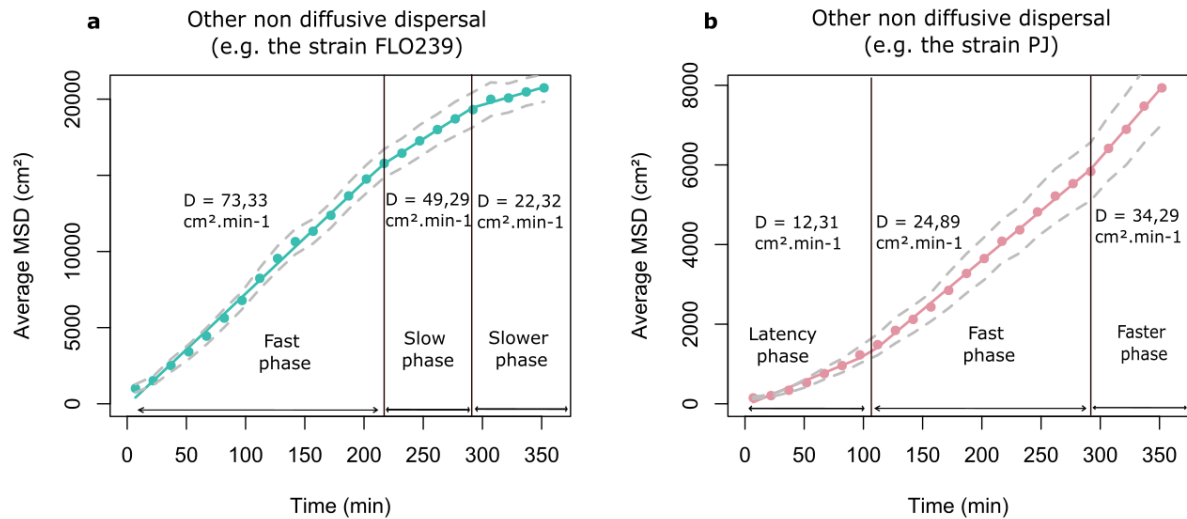
**Table S4.** Information on the 14 strains used in the results section: their name, their sampling location, the plant on which they were captured and their sampling year.

Strain	Diffusion Coefficient_1	Diffusion Coefficient_2	Diffusion Coefficient_3	Breakpoint_1	Breakpoint_2
TCVigne	36,8	85,95	44,33	45,84	255,88
TSM008	78,35	64,9	43,09	172,5	294,13
CAS052	28,89	71,53	37,53	31,09	217,89
PUG233	41,97	65,99	35,07	61,87	215,09
GOT0130	33,3	43	29,67	71,06	314,01
MES008	40,44	71,57	43	76,36	316,1
TCMz	54,97	100,59	35,13	90,16	227,1
PJ	12,31	24,89	34,29	106,12	292,51
Citron	29,66	69,37	None for type2	45,18	None for type2
PMBIO1	35,54	54,86	None for type 2	80,58	None for type 2
Strain	Diffusion Coefficient	Constant			
BL103b	49,49	149,87			

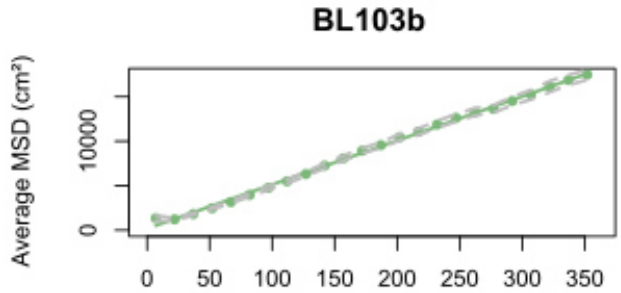
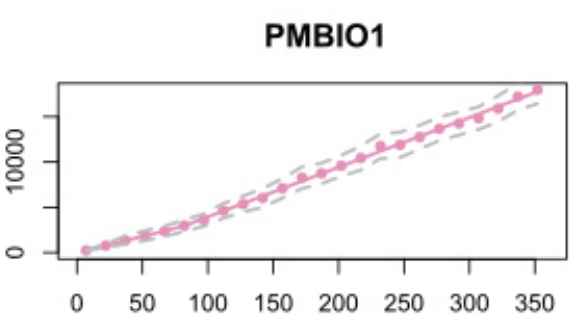
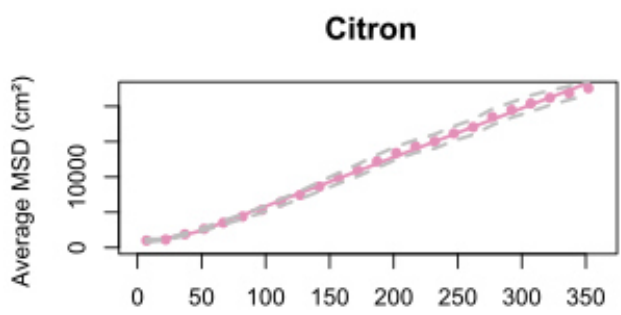
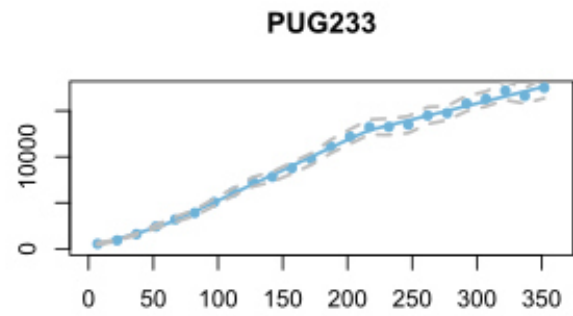
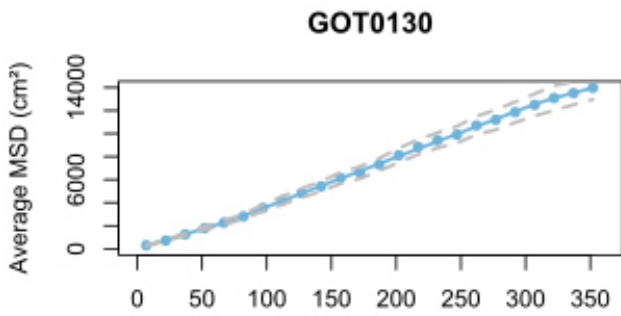
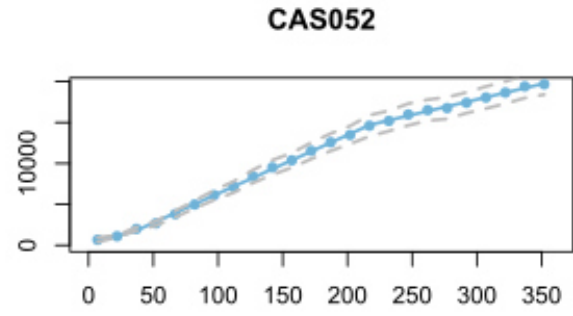
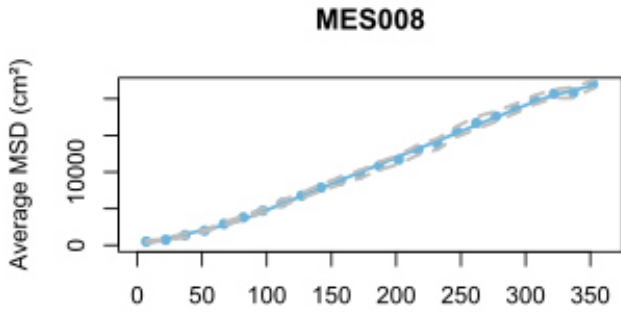
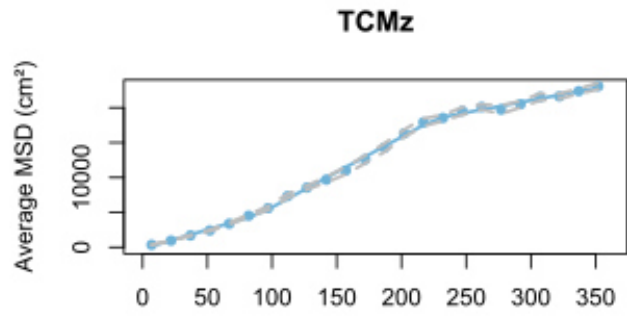
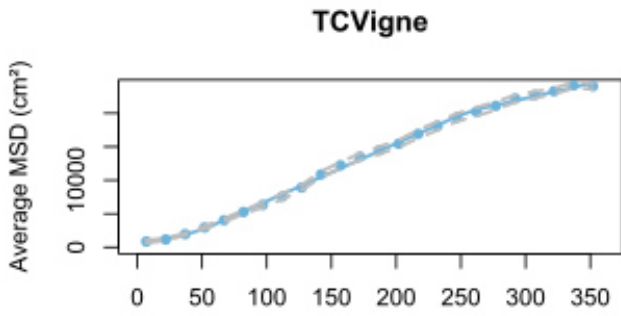
**Table S5.** Summary of diffusion coefficients and breakpoints for all remaining strains not shown in the main figures. "Citron" and "PMBIO1" represent the remaining type 2 strains, "BL103b" represents the remaining linear strain, and all the other strains represent type 3 strains.



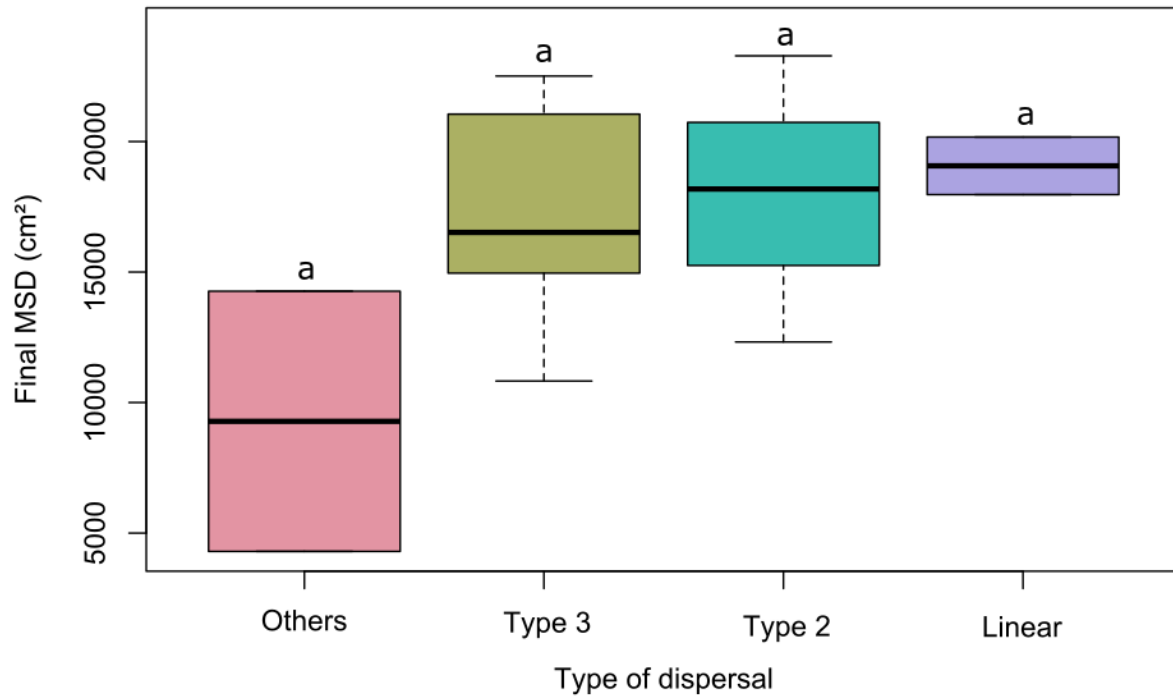
**Figure S1.** A variant of the (levogyrous) double-spiral maze that was engineered with solid walls (5mm width), or septa, along the tunnel, in order to test for the quality of sealing. This was designed with the Inkscape software, delineating 39 isolated zones (in light blue on the scheme). The numbers correspond to the zones called in table 2. An SVG file ready for laser-cutting is available as Supplementary File.



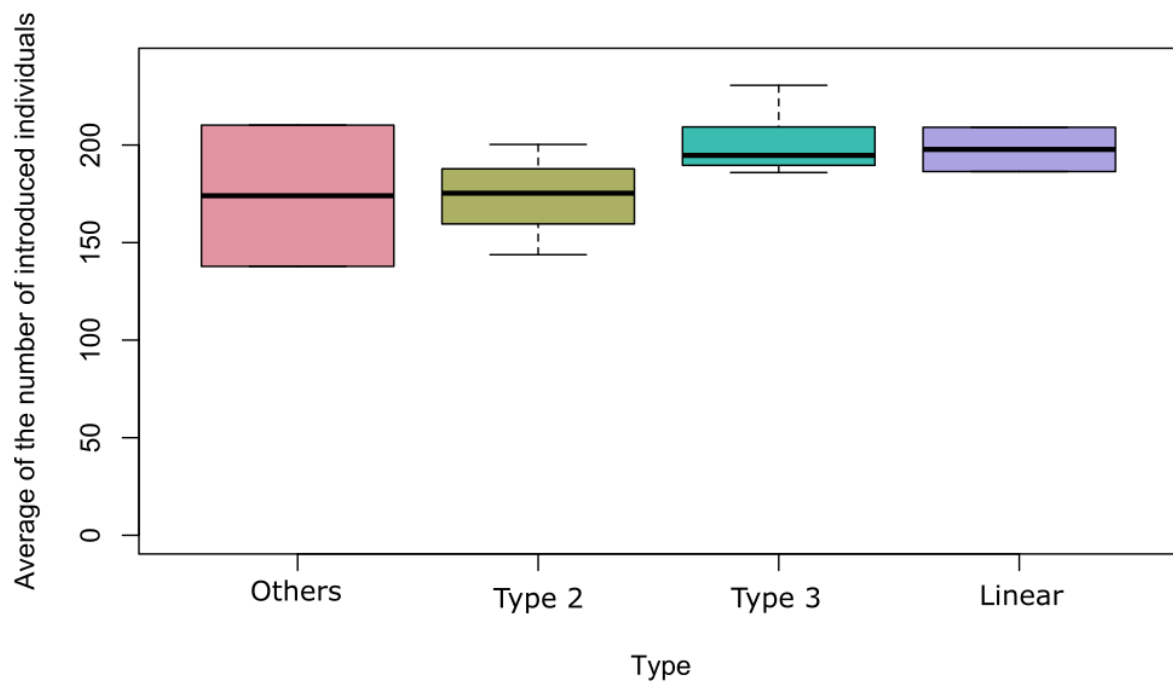
**Figure S2.** The two strains of the category “Others” in figure 6E which have a non-diffusive dispersal as with three distinct phases as in type 3, but specific patterns: FLO239 (a) is characterized by a first fast phase and then two successive slow phases. PJ (b), on the contrary, is characterized by a latency phase and two successive fast phases. Remark: we used piecewise linear regressions to test for deviations from linearity, but in those cases, it is possible that changes in diffusion coefficients are gradual rather than discrete: i.e. panel (a) might represent a gradual deceleration of spread, whereas panel (b) may feature a gradual acceleration of spread.



Time (min)



**Figure S4.** Boxplot of the final MSD according to the type of dispersal (anova;  $p = 0,19$ )



**Figure S5.** Boxplot of the average number of introduced individuals according to the type of dispersal. (anova;  $p=0.33$ )

## Protocol P1

### Quality of sealing

#### Materials

- A double spiral maze with a compartmentalized pathway in several zones (see Fig.S1)
- *Trichogramma* individuals ready to emerge
- Fresh and irradiated eggs of *Ephestia kuehniella* (surrogate host used for *Trichogramma* individuals rearing)
- A fine brush and a larger brush
- A preparation of Rubafix glue diluted with 2/3 water

#### The step-by-step protocol

1) Preparation of patches of eggs parasitized by *Trichogramma* individuals to be introduced in the areas for which sealing is to be tested.

The day before the emergence of *Trichogramma* individuals, cut a breeding strip in 6 or 7 pieces of 1cm by 0.5 cm. On average, if the eggs of *Ephestia kuehniella* have been deposited and that the parasitism has gone well (i.e. at least 80% of the deposited eggs have blackened), these cuts contain about 90 parasitized eggs.

2) Preparation of the maze

Take care of the cleaning of the maze, use ethanol to clean it and the two plexiglass plates which frame it.

First place the first Plexiglas plate, then a sheet of tracing paper cut to the right dimensions (those of the plates), then the spiral plate. The tracing paper must be carefully placed because it must be pierced by the clamping screws without creating an opening larger than the diameter of the screws in order not to compromise the proper conduct of the experiment. Then place the cuttings of the breeding strip in the different zones of the maze chosen. As the objective is to test for leaks, it is necessary to ensure that the areas to be tested are not too close to each other so that the identification of the possible leak is possible (no confusion possible as to the area where the leak comes from). In areas where no egg patches have been deposited, spread glue with the broad brush and deposit a few non-parasitized *E. Kuehniella* eggs, with the fine brush, (between 10 and 30 depending on the size of the area, evenly distributed) in the area. These will serve as "sentinel" eggs. If there is no leakage, they should not blacken, if there is leakage, they should be (at least for some of them) parasitized and therefore blacken.

Once this last action is done, cover the two previous plates with the last Plexiglas plate. Screw it on. Leave the experimental device at 25°C until emergence the next day.

3) Beginning of the observations

The next day, recover the plate and leave it under a magnifying glass (exposed to the ambient temperature, in handling this one was of 20°C on average) in order to observe every 30min if possible, leaks did not take place. During these observations, it is possible that the leaking



*Trichogramma* individuals are in fact hidden between a plexiglass plate and the spiral plate or that a leakage has occurred in the half hour of beating and that the trichogram has returned to the tested area. It is to compensate for what escapes the eye that sentinel eggs are used. But these regular observations are still useful because if an escape is detected, it will be possible to estimate the time from which it took place.

#### 4) End of the test

After 48 hours, place the device in the cold (freezer) for about 10 minutes in order to immobilize the individuals still alive in the tested zones. Then recover the device, open it, clean the plates with water and ethanol. Before delicately removing the tracing paper on which the sentinel eggs are located, using a paper moistened with ethanol, recover the individuals immobilized by the cold in the tested zones. Once this is done, the tracing paper can be removed and set aside, under protection, for at least 5 days at 25°C, in order to see if the eggs blacken or not. The fact of having glued the eggs on the tracing paper and not having left them free, will allow a posteriori deduction of the possible areas of leakage.

After five days, recover the tracing paper and check the state of the eggs, if blackened, they have been parasitized.

### Protocol P2

#### Introduction of individuals

##### Materials

- An introduction tube with individuals that emerged the day before
- A double spiral maze

The day before an experimental session with the double spiral maze device, the individuals to be used are isolated in a tube whose diameter is adapted to the diameter of the introduction hole (in our case so that the individuals are 24 hours old).

On the day of the test, the tube containing the individuals to be introduced is opened at one end. The open end is inserted into the insertion hole provided for this purpose. It is then necessary to tap the tube vigorously and repeatedly to drop the individuals into the device. According to the introduction tests carried out, the average rate of introduction of individuals is 65%. It is imperative to take this information into account in order to count enough individuals in the introduction tube to reach the population density to be studied in the device. Once the individuals have been introduced, the device is closed with a piece of glass that plugs the introduction hole.

The individuals introduced are then counted, as well as those remaining in the introduction tube, in order to deduce the introduction rate. In order to estimate the quantity of *E. Kuehniella* eggs from which *Trichogramma* individuals are ready to emerge necessary to reach a satisfactory density of individuals, the parasitized (black) eggs are counted a posteriori under a binocular magnifying glass.

Avant d'aborder l'ensemble des résultats relatifs à la dispersion des trichogrammes dans l'arène en double spirale, je vous propose un court état des lieux des détections automatiques et du nombre de trichogrammes introduits lors des expériences. Cela, dans le but d'appuyer certains des choix d'analyse, notamment l'utilisation de la variable « Détections » comme une variable explicative dans les modèles utilisés sur le Déplacement Quadratique Moyen.

## II.2 Utilisation du dispositif en double spirale pour caractériser la dispersion des 17 souches de *Trichogramma cacoeciae*

### *II.2.1 Taux de détection et nombre d'individus introduits*

#### **Méthode**

##### Calculs

Les taux de détections moyens sur la durée totale d'une expérience (360 minutes) ont été calculés pour chaque souche et par réplicat en appliquant le calcul suivant :

$$\text{Taux de détection} = \frac{\sum_{\text{minute}=1}^{360} \text{Nombre de détections}}{\text{Nombre de trichogrammes introduits} \times 360}$$

Dans le calcul précédent, le nombre de trichogrammes introduits est multiplié par 360 puisque l'expérience dure six heures, soit 360 minutes, et qu'au numérateur les détections pour chacune des minutes sont additionnées, ce qui correspond à 360 valeurs.

Nous avons également calculé le taux de détection par minute rendant ainsi compte du degré de stabilité des détections au cours du temps avec la formule suivante :

$$\text{Taux de détection par minute} = \frac{\text{Nombre de détections pour une minute donnée}}{\text{Nombre de trichogrammes introduits}}$$

##### Analyses statistiques

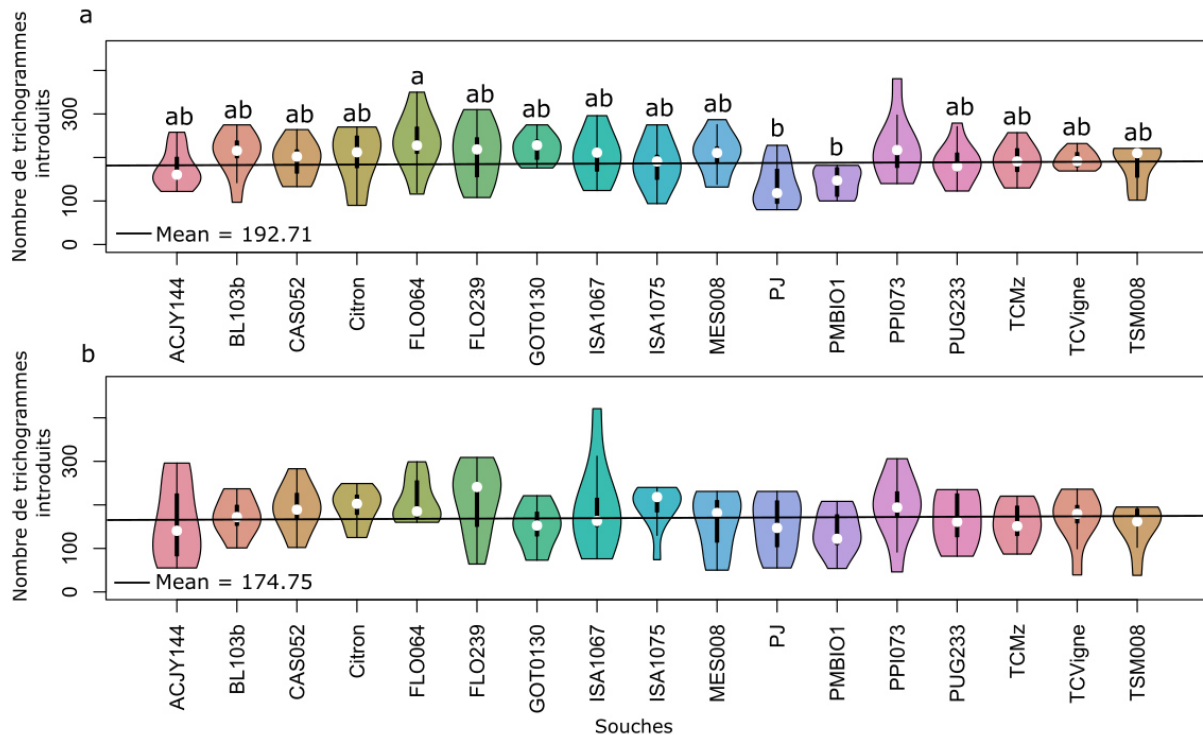
Pour les variables « taux de détection » : taux de détection par minute et nombre de trichogrammes introduits, les conditions de normalité, d'homogénéité et d'indépendance des résidus étant vérifiées, des tests anova avec la fonction *aov* du package stats (V 4.0.0) (R Core Team 2020) ont été effectués afin de tester la variabilité inter-souches. En cas d'effet « souche » significatif, des tests post-hoc de Tukey ont été effectués afin de déterminer la significativité des différences entre les souches deux à deux, à l'aide de la fonction *HSD.test* du package agricolae (V1.3-5) (Mendiburu 2021).

Les comparaisons de moyennes deux à deux, entre 2021 et 2022 (trichogrammes introduits ou taux de détection) ont été effectuées à l'aide de tests de Student réalisés avec la fonction *t.test* du package stats (V 4.0.0). En effet, les conditions de normalité n'étaient pas systématiquement vérifiées.

Nous nous sommes également intéressés au lien entre le nombre de trichogrammes introduits et le nombre de trichogrammes détectés. Etant donné que l'ensemble des conditions d'application d'un modèle linéaire n'était pas satisfait, nous avons utilisé une corrélation de Spearman, nécessitant uniquement l'indépendance des données pour chacune des variables (Badea, Vlad 2006), ce qui est ici le cas. Les corrélations de Spearman ont été calculées à l'aide de la fonction *cor.test* du package Stats (V 4.0.0) (R Core Team 2020).

## Résultats

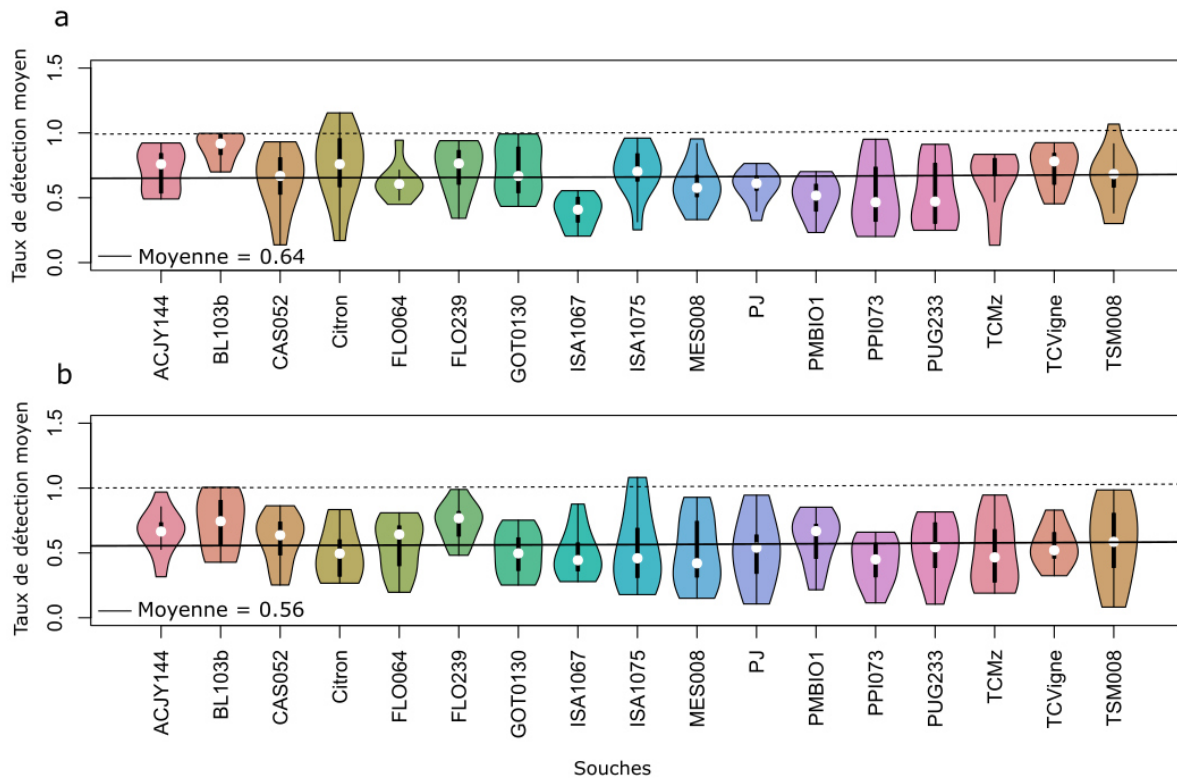
Le nombre de trichogrammes introduits par souche est assez variable, aussi bien en 2021 qu'en 2022 quelles que soient les souches. En effet, en 2021, le plus petit premier quartile est de quasiment 100 trichogrammes et le plus grand troisième quartile est de quasiment 400 trichogrammes. En 2022, le plus petit premier quartile est d'une cinquantaine de trichogrammes et le plus grand troisième quartile est d'un peu plus de 400 trichogrammes. Une variabilité entre les souches est également à souligner dans les deux cas, avec un effet souche significatif en 2021, différenciant notamment les souches PMBIO1 et PJ d'un côté, et FLO064 de l'autre (Fig.1). En revanche, les moyennes globales du nombre de trichogrammes lâchés en 2021 et en 2022 sont relativement proches, étant respectivement égales à 192.71 et 174.75, mais néanmoins significativement différentes (test de Student,  $p = 8.7E-3$ ).



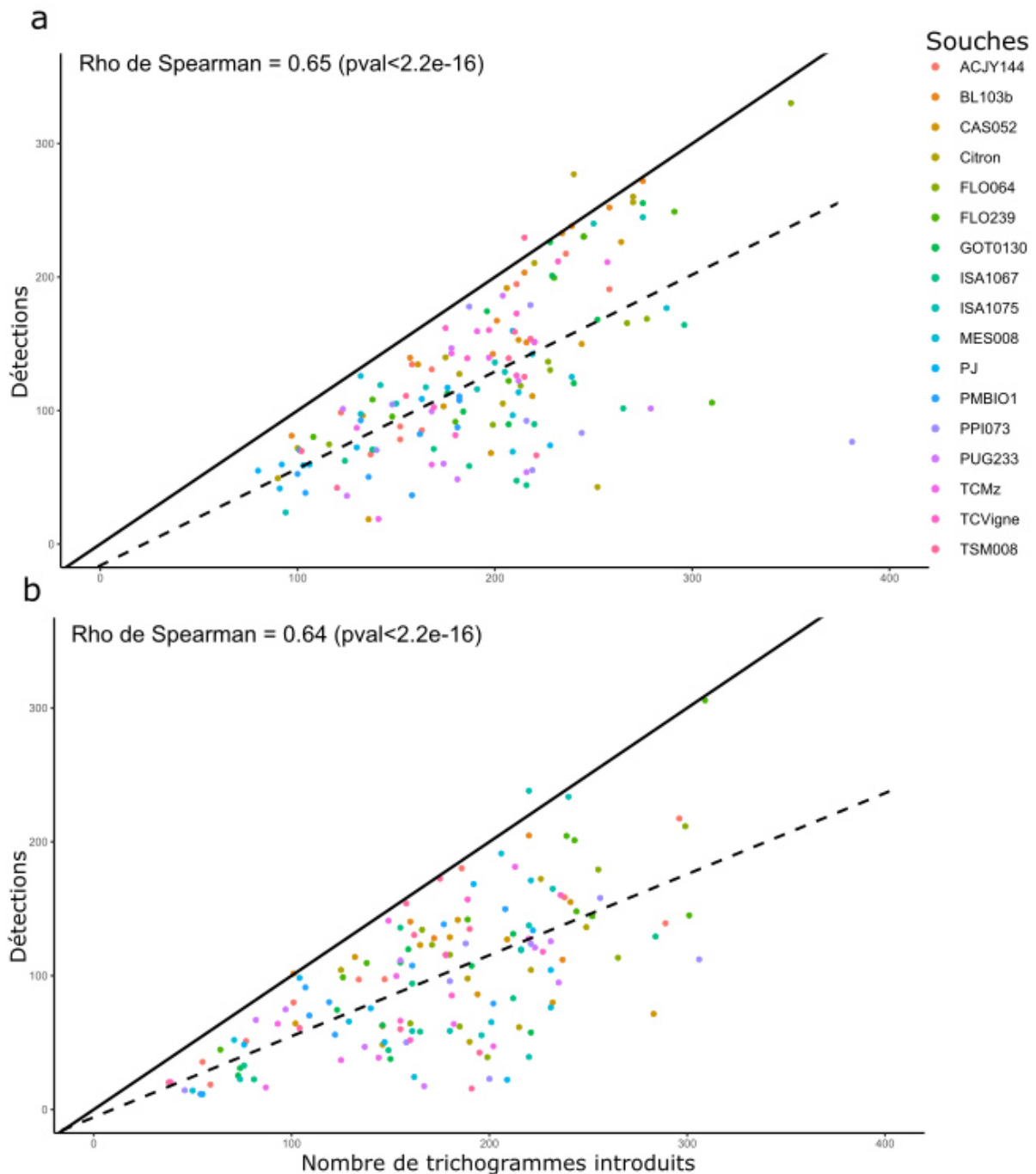
**Figure 1.** Diagrammes en violon représentant le nombre de trichogrammes introduits au cours des expériences dans les arènes en double spirale pour les années 2021 (a) et 2022 (b), respectivement (anova ;  $df = 16$ ,  $p = 0.0074$  et anova ;  $df = 16$ ,  $p = 0.33$ ). La ligne horizontale représentée permet de situer le nombre moyen de trichogrammes globalement introduits. Cette moyenne a été obtenue en ajoutant l'ensemble des trichogrammes introduits pour les réplicats de chaque souche et en divisant par le nombre total de réplicats effectués, en 2021 et en 2022.

Les taux de détections, comme les nombres de trichogrammes introduits, sont variables à la fois pour chaque souche et entre les souches (Fig.2) La variabilité intra souche est plus marquée en 2022. Mais cela ne semble pas dû au nombre de réplicats dont le taux de détection est supérieur à 1. En effet, que ce soit en 2021 ou 2022, seuls deux réplicats présentent des taux de détection supérieurs à 1. Mais la variabilité intersouche est significative uniquement en 2021 pour ce qui est du taux de détection moyen. La moyenne de ce taux de détection moyen en 2021 est de 0.64 et significativement différente de celle de 2022 (test de Student,  $p = 2e-3$ ), égale à 0.56. En 2021, avec le travail méthodologique effectuée sur ACJY144, nous avons dans la publication “*A double-spiral maze and hi-resolution tracking pipeline to study dispersal by groups of minute insects* », un taux de détection moyen de 72% allant de 64 à 78 %. La valeur obtenue ici en 2021 sur la totalité des souches reste donc dans l'intervalle de ces précédentes valeurs. En revanche, le taux de détection moyen pour 2022 est plus faible.

De plus, il existe une monotonie positive significative entre le nombre de trichogrammes introduits et le nombre de détections obtenues avec la macro de détection automatique, sur les deux années, respectivement :  $\rho = 0.65$  ;  $p < 2.2 \times 10^{-16}$  et  $\rho = 0.64$   $p < 2.2 \times 10^{-16}$  (Fig.3). Aussi, l'ensemble des points se situe sous la première bissectrice 1 :1. Par conséquent, les détections automatiques sous-estiment le nombre de trichogrammes effectivement introduits.



**Figure 2.** Diagrammes en violon représentant les taux de détection moyennés sur le temps d'expérimentation pour les années 2021 (a) et 2022 (b), respectivement (anova ;  $df = 16$ ,  $p = 1.81 \times 10^{-4}$  et anova ;  $df = 16$ ,  $p = 0.30$ ). La ligne noire horizontale en trait plein correspond au taux global de détection. Il a été obtenu en moyennant les taux de détection obtenus pour l'ensemble des réplicats effectués, en 2021, puis en 2022. La ligne noire en pointillés situe le maximum que les valeurs des taux de détection peuvent normalement atteindre.



**Figure 3.** Nuage de points représentant le nombre de détections automatiques en fonction du nombre de trichogrammes introduits. Un point correspond à un réplicat pour une souche donnée. La droite en trait plein représente la première bissectrice 1 :1. La droite en pointillés représente les équations des régressions linéaires entre le nombre de trichogrammes introduits et le nombre de détections. Les conditions n'ayant pas été vérifiées, elles permettent uniquement une visualisation d'une éventuelle régression. L'équation du panel (a) est :  $0.74x - 16.55$ , l'équation du panel (b) est :  $0.61x - 6.44$ .

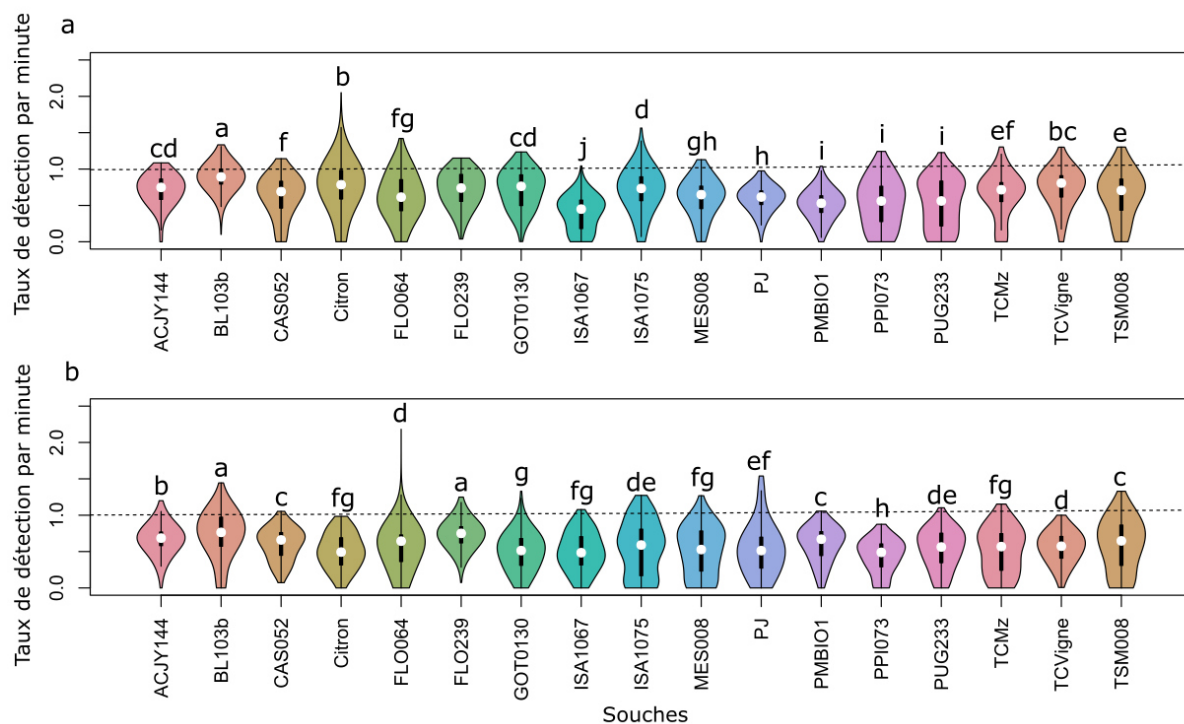
Dans la publication dans Sci.Rep, nous ne nous sommes pas intéressés à la détection par minute puisque l'objectif premier était d'abord d'étudier la qualité de la détection automatique en la comparant à la détection manuelle qui était difficilement réalisable à toutes les minutes.

Or, s'intéresser à ce taux de détection en particulier, nous apporte un degré supplémentaire d'évaluation du fonctionnement de la détection automatique. Les diagrammes en violon (Fig.4) mettent en avant que les taux de détections par minute atteignent plus souvent des valeurs extrêmes que nous ne retrouvons pas avec la première méthode de calcul moyennée sur toutes les minutes. En effet, il y a plus régulièrement des taux de détection supérieurs à 1 ou égaux ou très proches de 0, en 2021 comme en 2022. Les détections proches ou égales à zéro sont plus fréquentes en 2022 que celles supérieures à 1. C'est le constat inverse qui est vrai en 2021. En 2021, la moyenne des fréquences moyennes de taux de détection égaux à zéro est de 2.16 % ; tandis que la moyenne des fréquences moyennes de taux de détection supérieurs à 1 est de 7.69 %. En 2022, la moyenne des fréquences moyennes de taux de détection égaux à zéro est de 4.27 % ; tandis que la moyenne des fréquences moyennes de taux de détection supérieurs à 1 est de 3.94 %. Les moyennes des fréquences moyennes de taux de détection supérieurs à 1 et les moyennes des fréquences moyennes de taux de détection égaux à zéro n'apparaissent pas comme significativement différentes entre les deux années (test de Wilcoxon, p respectivement égales à : 0.14 et 0.34). Une table récapitulative des fréquences de taux de détection supérieurs à 1 et des fréquences de taux de détection égaux à zéro est disponible (Table1).

Souches	Fréquences moyennes des taux de détections égaux à zéro (%)		Fréquences moyennes des taux de détections supérieurs à 1 (%)	
	2021	2022	2021	2022
<b>ACJY144</b>	0,33	0.056	2.5	3.64
<b>PMBIO1</b>	0.028	0.139	0.0833	0.47
<b>PJ</b>	0,028	5.39	0	6.19
<b>TCVigne</b>	0,21	0	6.36	0
<b>TSM008</b>	2,87	8.08	11.6	11.7
<b>Citron</b>	5.58	21.9	20.9	0
<b>CAS052</b>	1,19	0	4.69	0.31
<b>MES008</b>	0,55	4.81	2.56	3.75
<b>TCMz</b>	6,64	7.22	5.86	3.08
<b>PPI073</b>	7,08	4.92	6.14	0
<b>PUG233</b>	6,97	1.25	2.83	0.22
<b>FLO239</b>	0	0	10	6.36
<b>FLO064</b>	1.39	0.40	11.2	0.53
<b>ISA1075</b>	0,99	10.5	10,4	14.5
<b>ISA1067</b>	2.78	2.86	0,028	0.25
<b>BL103b</b>	0	2.66	24.5	14.1
<b>GOT0130</b>	0	2.42	11	1.92

**Table 1.** Table récapitulative des fréquences de taux de détection supérieurs à 1 et des fréquences de taux de détection égaux à zéro.





**Figure 4** : Diagrammes en violon représentant les taux de détection par minute au cours des expérimentations dans les arènes en double spirale pour les années 2021 (a) et 2022 (b), respectivement (anova ; df = 16, p = 2.2 e-16 et anova ; df = 16, p = 2.2 e-16)

## Discussion

Les variabilités constatées sur le nombre de trichogrammes introduits ainsi que sur les taux de détection permettent de conforter le choix que nous avons fait d'inclure dans les modèles de régression linéaire par morceaux des Déplacements Quadratiques Moyens, la variable « Détections » (aussi bien dans « *A double-spiral maze and hi-resolution tracking pipeline to study dispersal by groups of minute insects* », que dans les autres analyses à venir). Ces constats soutiennent également la pondération par cette même variable du calcul par minute des Déplacements Quadratiques Moyens. Si les taux avaient été très stables dans le temps, il aurait été possible de s'abstenir de cette pondération.

Ces variations de taux de détections peuvent avoir plusieurs explications. D'abord, à l'image, certaines zones du chemin sont parfois sujettes à des « effets murs », conséquence directe des murs du chemin en double spirale. Donc, lorsque les trichogrammes se déplacent au bord des murs et qu'ils sont ainsi cachés, ils sont potentiellement moins bien détectés que lorsqu'ils marchent au centre du chemin, voire pas détectés du tout. Ce phénomène est d'autant plus probable que les trichogrammes expriment une tendance au thigmotactisme i.e. une



tendance à se déplacer en suivant les structures physiques présentes dans l'environnement (Babendreier et al. 2003 ; Brodeur, McNeil 1990). Une autre hypothèse pouvant expliquer les faibles taux de détections se tient dans la difficulté à effectivement séparer les particules à détecter lorsque ces dernières sont agrégées. C'est notamment le cas en début d'expérience puisqu'une grande densité d'individus, quasiment 200 en moyenne, est lâchée dans un espace restreint. Lorsque des particules sont agrégées, la séparation des individus entre eux est très limitée de telle sorte qu'au lieu de détecter plusieurs particules, seule une plus grosse particule est considérée (McKenna et al. 2000). Cela a donc pour conséquence d'amoindrir le taux de détections ou même le nombre de détections absolu, comme nous avons pu le constater précédemment, notamment avec les taux de détection par minute (Fig.8).

Mais il n'y a pas seulement des taux de détections très bas qui ont été identifiés, il y a également une récurrence de taux de détection supérieurs à 1. Ces taux de détections anormalement hauts peuvent, dans un premier temps, s'expliquer par cette fois-ci, non pas une absence de séparation des particules mais, au contraire, une séparation abusive. En effet, il est possible que certains trichogrammes, par leur forme, leur couleur, la façon dont ils apparaissent à l'image finissent par être scindés en deux entraînant ainsi une double détection. Un autre phénomène pouvant causer ces sur détections, sont les ombres des trichogrammes. En effet, lorsque les trichogrammes se déplacent en étant proches des bords, leur ombre, selon la lumière, peut être visible telle que cette dernière peut être considérée comme une particule et ainsi détectée, créant une fois de plus une fausse détection, engendrant donc une sur détection. Il peut également y avoir des détections de particules de poussières ou autres dépôts. Ces particules immobiles, sont normalement éliminées du champ de détection en étant intégrées à l'arrière-plan. Mais certaines peuvent échapper à cette définition de l'arrière-plan et ainsi être détectées parmi l'ensemble des particules effectivement mouvantes. Cela ajoute donc des détections supplémentaires erronées.

Les taux de détection trop faibles ou trop importants peuvent ainsi entraîner des sous estimations ou des sur estimations de la dispersion étudiée. Et les premiers ne sont pas forcément associés à des sous estimations et les deuxièmes à des sur estimations. En effet, cela va dépendre de leur localisation sur le chemin de dispersion en fonction du temps. Par exemple, en début d'expérience, des détections très lointaines ne sont pas attendues. Or, si à cet instant, de « fausses » particules sont détectées à ces distances éloignées, alors les variables de dispersion peuvent se retrouver sur estimées.

## II.2.2 Utilisation de l'arène en double spirale et identification de différents profils de dispersion

### Méthode

#### Détermination post-expérimentation de l'état de parasitisme des œufs

Pour chaque expérimentation avec les arènes en double spirale, un papier calque recouvert d'œufs d'*Ephestia kuehniella* était disposé au sein du dispositif (cf Méthode (Cointe et al. 2023)). Les œufs collés le long du chemin de l'arène en double spirale, tous les cinq centimètres, nous ont permis de calculer le Déplacement Quadratique Moyen que chaque souche a réalisé en six heures, à partir de l'information indirecte de la distance parcourue, indiquée par l'état, parasité ou non, de chacun des œufs. Après chaque expérience, les arènes étaient nettoyées et les papiers calques recouverts des œufs étaient débarrassés des trichogrammes et conservés à 25°C pendant cinq jours. A cette température, après cinq jours, les œufs ayant été parasités noircissent. Ainsi, les 108 œufs de chaque calque étaient examinés à l'œil et identifiés comme parasités ou non.

#### Calcul du déplacement quadratique moyen et du coefficient de diffusion

Le matériel et les méthodes, aussi bien concernant le protocole expérimental ou les analyses statistiques effectuées sur les données de détection automatique des trichogrammes, se réfèrent à l'article intitulé « *A double-spiral maze and hi-resolution tracking pipeline to study dispersal by groups of minute insects* » (Cointe et al. 2023).

#### Calcul du déplacement quadratique moyen à partir du parasitisme des œufs et du taux de parasitisme global

Sur les données de parasitisme des œufs, le déplacement quadratique moyen et le taux de parasitisme global ont été calculés. La premier correspond à la somme du carré de la distance de parasitisme multipliée par le pourcentage de parasitisme standardisé pour chaque distance.

$$DQM_{\text{œufs}} = \sum d^2 \times FPN_d$$

Où  $d$  correspond à la distance à laquelle se trouve l'œuf à parasiter par rapport au point de lâcher dans l'arène en double spirale et  $FPN_d$  correspond à la Fréquence de parasitisme normalisée à chaque distance et est définie comme suit : c'est pour chaque souche, et chaque réplicat, la fréquence de parasitisme à une distance donnée soit

$Freq_d = \frac{\text{Nombre d'œufs parasités}}{\text{Nombre d'œufs total}}$  divisée par la somme des fréquences de parasitisme à chaque distance. Ce qui donne

$$FPN_d = \frac{Freq_d}{\sum_d Freq_d}$$

Dans le cas des expérimentations menées dans les arènes en double spirale, le nombre d'œuf total était toujours égal à 1. Ainsi,  $Freq_d$  était soit égale à 1, soit égale à 0. Cette variable permet de prendre en compte la notion de distance contenue dans la définition de la dispersion. La seconde variable, le taux de parasitisme global, reflète plutôt la performance des souches par rapport à leur capacité de parasitisme et complète ainsi l'approche de la dispersion. Le taux de parasitisme global a été calculé pour chaque réplicat en additionnant tous les œufs identifiés comme parasités et en les divisant par le nombre total d'œufs collés sur un papier calque.

Les résultats basés sur ce calcul qui vont être présentés sont à considérer sachant les éléments qui vont suivre. Pour certaines souches, j'ai pu constater que malgré de forts taux de parasitisme des œufs dans l'arène en double spirale, la première dizaine d'œufs avait été renseignée comme non parasitée, modifiant ainsi la distribution en cloche du parasitisme attendu et entraînant une distribution avec deux pics et un creux entre 0 une cinquantaine de centimètres le long du chemin. J'ai rapidement attribué ce surprenant résultat aux conséquences d'un superparasitisme (van Dijken, Waage 1987). En effet, les hautes densités avec lesquelles j'ai travaillé augmentent la probabilité que les femelles se retrouvent en même temps sur un même œuf ou tout simplement parasitent un œuf déjà visité et parasité par une ou des autres femelles. Or, lorsqu'un œuf hôte a été superparasité, le développement des trichogrammes à l'intérieur de l'œuf se voit souvent avorté conduisant ainsi à une coloration anormale de l'œuf i.e. il ne noircit pas comme attendu dans le cas d'un parasitisme concluant (Hawlitzky 1982). Ils deviennent plutôt marrons avec un aspect rabougri. Lors de la lecture de l'état parasité ou non des œufs, j'ai utilisé une catégorisation telle que :

- Soit l'œuf avait une coloration bien noire et bombé alors je le déclarais donc comme parasité.
- Soit l'œuf était toujours blanc, je le déclarais donc comme non parasité.
- Soit l'œuf était marron et rabougri, une description pouvant à la fois faire référence à un œuf non viable et déjà très vieillissant ou à un œuf superparasité. Dans ce cas, j'ai choisi de caractériser ces œufs comme non parasités.

Par conséquent, le calcul du Déplacement Quadratique moyen tel qu'il a été réalisé, est surestimé pour les souches présentant cette distribution à deux pics (en 2021 : PMBIO1, TSM008, FLO064, ISA1067, ISA1075, TCMz ; en 2022, quasiment toutes les souches ont une

distribution à deux pics ou très proche, sauf PJ et ISA1067) dans le cas où le creux entre les deux pics serait effectivement dû à du superparasitisme.

### Analyses statistiques

Afin de déterminer si une variabilité intraspécifique s'exprime sur ces variables, nous avons, en 2021, sur le Déplacement Quadratique Moyen, effectué un test de Kruskal-Wallis du fait du non-respect des conditions d'application d'un modèle ANOVA, suivi si nécessaire d'un test de comparaisons multiples avec une correction de Bonferroni. En 2022, les conditions étant vérifiées pour appliquer un test ANOVA, nous avons utilisé, pour tester la variabilité intraspécifique, la fonction *anova* du package *stats* (V 4.0.0) (R Core Team 2020). La variabilité intraspécifique sur le taux de parasitisme global a quant à elle été testée en 2021 et en 2022 à l'aide de tests non paramétriques de Kruskal Wallis effectués avec la fonction *kruskal.test* du package *stats* (V 4.0.0) (R Core Team 2020).

L'association entre le déplacement quadratique moyen des détections automatiques et celui obtenu à partir de la lecture du parasitisme des œufs a été étudiée en effectuant un test de rang de Kendall entre les médianes des DQM finaux par détection automatique et les médianes des DQM par lecture de parasitisme. Le test de rang a été effectué avec la fonction *cor.test* du package *stats* (V 4.0.0) (R Core Team 2020).

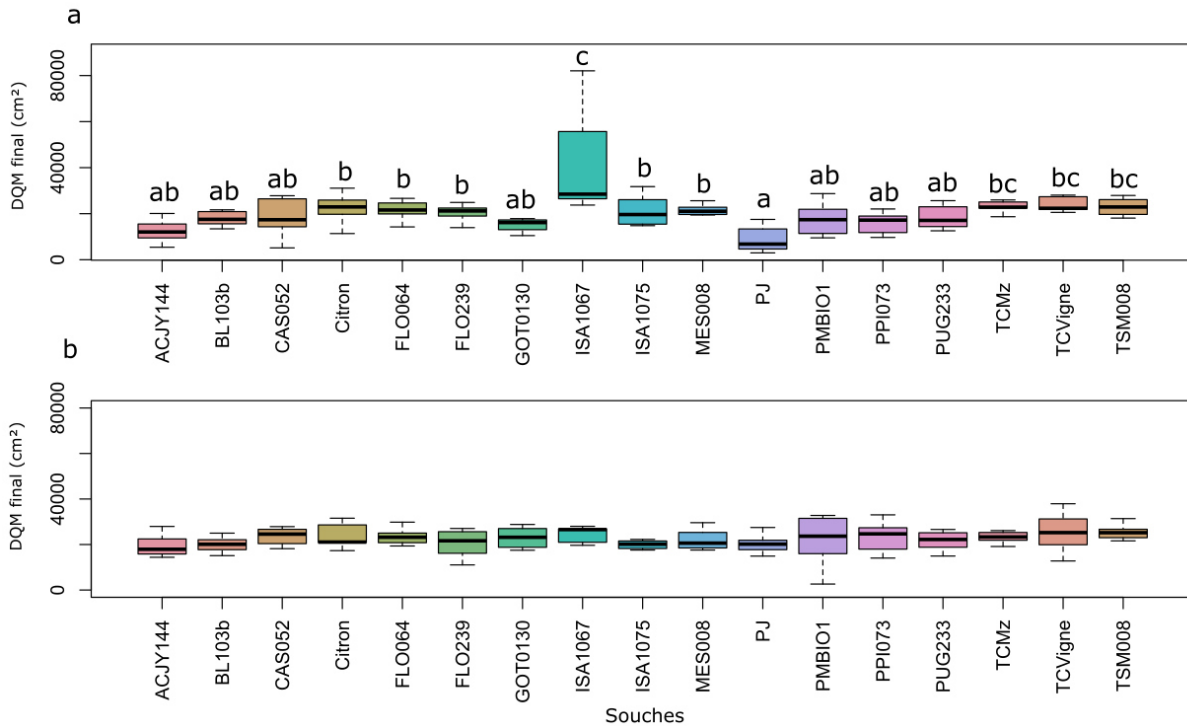
### **Résultats**

Dans cette restitution de résultats, je m'intéresserai au Déplacement Quadratique Moyen Final. En effet, ce dernier rend compte des performances de dispersion des souches quel que soit leur profil de dispersion. S'intéresser aux coefficients de diffusion est plus compliqué sachant que ces derniers varient en nombre selon les profils de dispersion qui vont être présentés. Et choisir de se focaliser sur les coefficients de diffusion des premiers tronçons ou des derniers tronçons met de côté une partie de la donnée. Tandis que le DQM final lui, est bien la conséquence de tout ce qui s'est passé pendant les six heures de dispersion, quel que soit les profils.

### **Le déplacement quadratique moyen et les typologies de dispersion via la détection automatique des individus**

Dans l'ensemble, la variation inter-souches du DQM est significative en 2021 (test ANOVA sur modèle linéaire ;  $p=6.049e-08$ ), révélant une variation génétique quantitative pour ce phénotype : 42% de la variation totale du DQM peut être attribuée à l'effet de la souche. En

revanche, en 2022, la variation inter-souches du DQM est non significative (test ANOVA ;  $p=0.44$ ). Ainsi, il ne semble pas y avoir de part de variation du DQM significativement attribuable à de la variation génétique (Fig.5).



**Figure 5.** (a) Boxplot du déplacement quadratique moyen final pour les 17 souches testées en 2021. Les lettres indiquent les différences significatives obtenues à partir des tests ANOVA post hoc de Tukey effectués avec la fonction *HSD.test* du package *agricolae* (test ANOVA ;  $p=6.049e-08$ ). (b) Boxplot du déplacement quadratique moyen final pour les 17 souches testées en 2022 (test ANOVA ;  $p=0.44$ ).

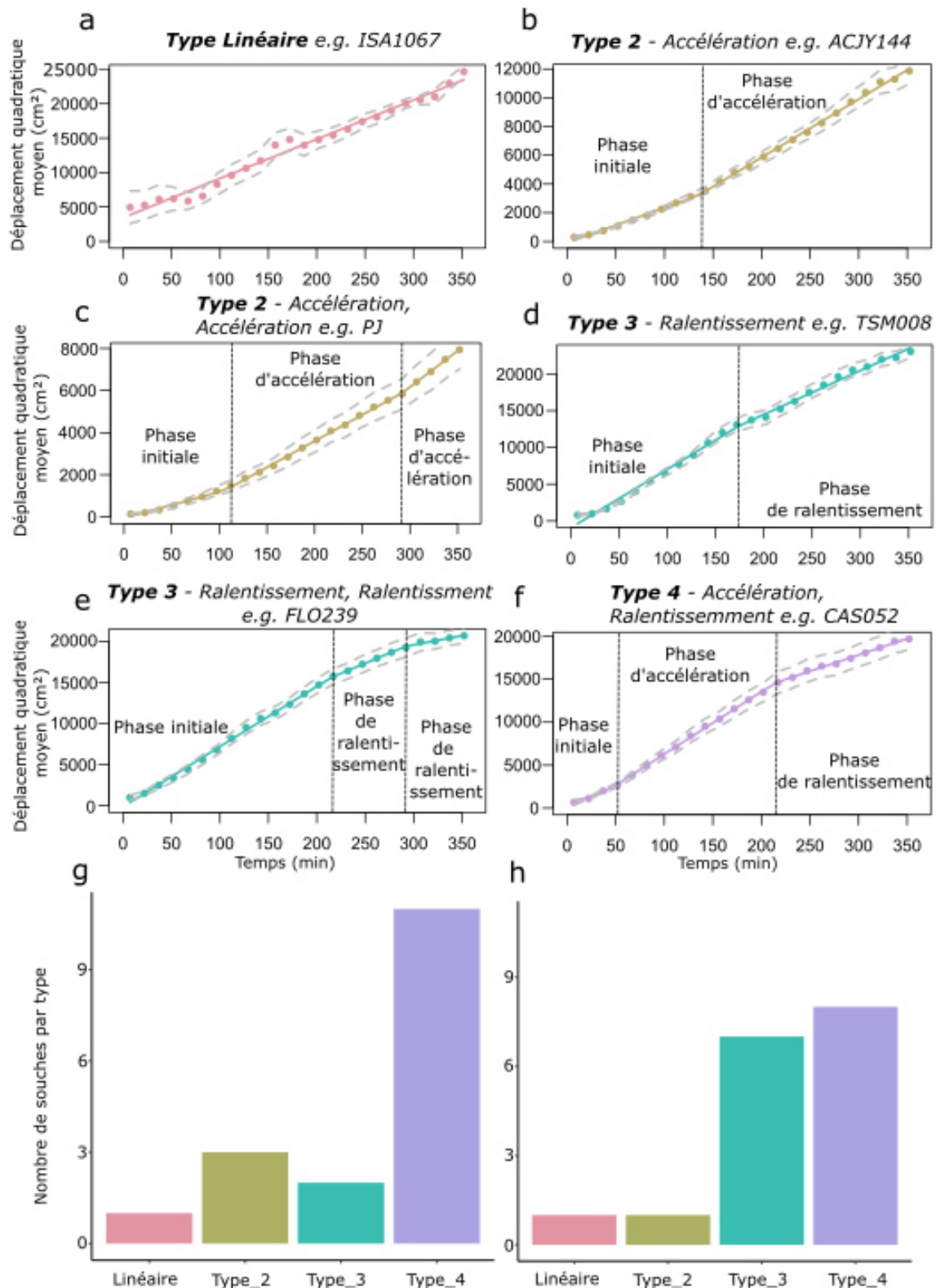
En plus de ces différences quantitatives, nous avons, pour les deux années, découvert des différences entre les souches relatives à leur dynamique de dispersion. Nous avons ainsi identifié quatre types de dispersion, distincts par les caractéristiques de leurs phases et/ou leur nombre de phases (Fig.6 et Table 2). Cette classification est valable aussi bien pour les données de 2021 que pour les données de 2022. Il y a ainsi des souches ne présentant qu'une seule et unique phase, que nous considérons comme le type linéaire. Ensuite, il y a le type 2 défini par une première phase initiale puis une ou deux phases successives d'accélération. Il y a ensuite le type 3, à l'inverse du type 2, qui se caractérise par une ou deux phases successives de ralentissement. Enfin, le dernier type, le type 4 qui combine les caractéristiques des types 2 et 3. En effet, les souches appartenant à ce dernier type, présentent une phase initiale, suivie d'une phase d'accélération et d'une dernière phase de ralentissement. Nous pouvons constater qu'en 2021, comme en 2022, le type dominant est le type 4, avec respectivement, 11 souches sur 17

et 8 souches sur 17. L'attribution des différents types aux 17 souches étudiées, en 2021 et en 2022, sont disponibles dans la table 2. Il est intéressant de constater que le deuxième type dominant en 2021 est le type 2 : accélérant et représentant 17,6% des souches. A l'inverse, en 2022, le deuxième type dominant est le type 3 : ralentissant, représentant 41,2% des souches.

Si l'on s'intéresse au DQM final en fonction des différents types (Fig.7) alors il est possible de constater que les performances finales en 2022 apparaissent tout juste significativement différentes en fonction des différents types (test de Kruskal-Wallis ;  $df = 3$  ;  $p = 0.048$ ). Cette différence n'apparaît en revanche pas lorsqu'un test post-hoc de comparaison multiple est effectué. En revanche, il y a des différences significatives en 2021 entre les DQM finaux des différents types (test de Kruskal-Wallis ;  $df = 3$  ;  $p = 3.8e-09$ ). Le souche ISA1067, seule souche du type linéaire a dispersé de telle sorte qu'elle a réalisé une performance finale meilleure que celles appartenant aux autres types.

2021			
Linéaire	Type_2 : Accélération	Type_3 : Ralentissant	Type_4 : Accélération puis ralentissant
<b>ISA1067</b>	PJ	TSM008	BL103b
	ACJY144	FLO239	CAS052
	PMBIO1		Citron
			FLO064
			GOT0130
			ISA1075
			MES008
			PPI073
			PUG233
			TCVigne
		TCMz	
2022			
<b>ISA1075</b>	ACJY144	CAS052	BL103b
		Citron	FLO239
		PUG233	GOT0130
		TCVigne	MES008
		TCMz	PJ
		FLO064	TSM008
		PPI073	ISA1067
			PMBIO1

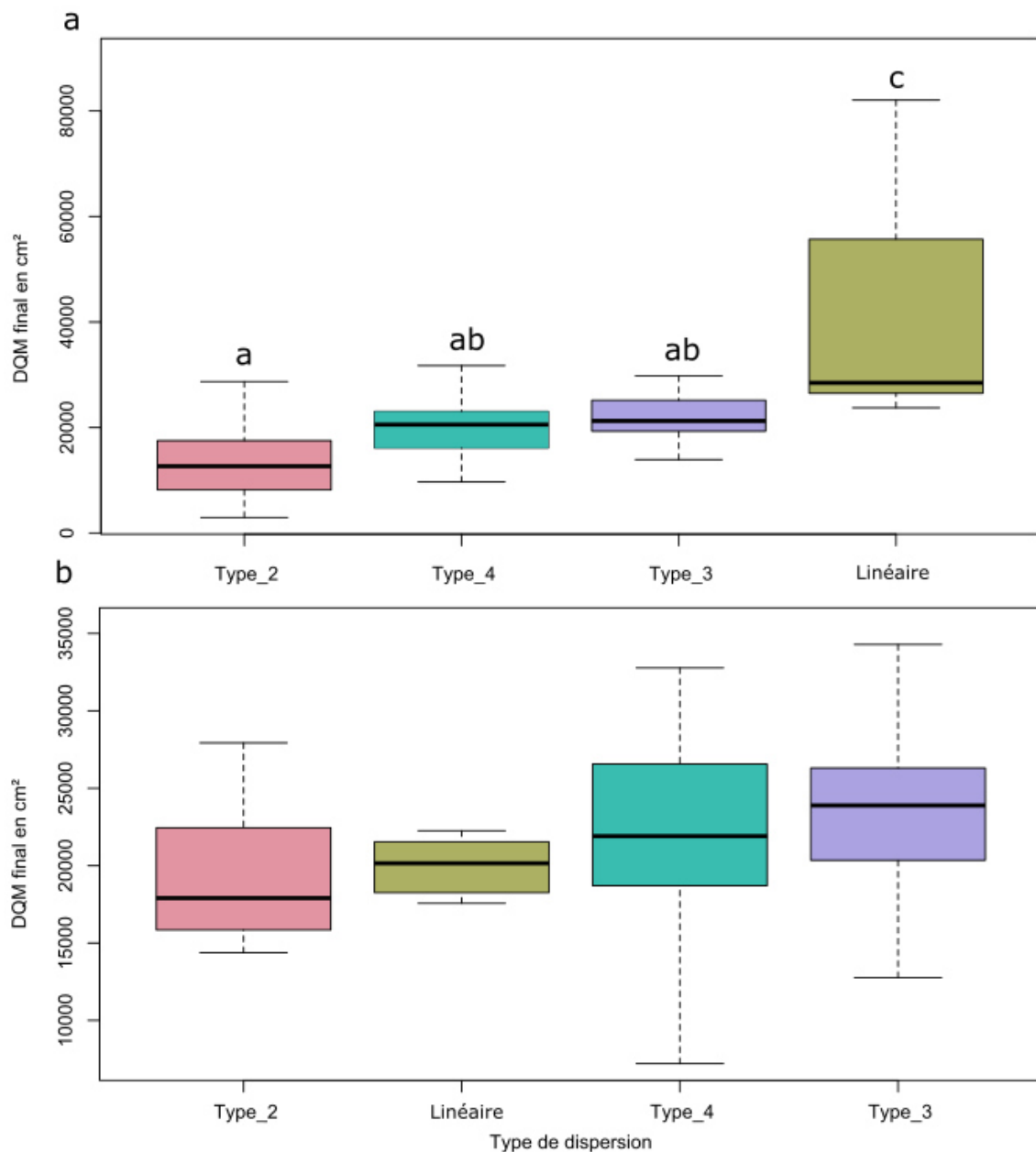
**Table 2.** Table récapitulative de la répartition des différentes souches dans les types de dispersion identifiés



**Figure 6.** Graphique représentant le déplacement quadratique moyen en fonction du temps pour la souche ISA1067 (a), représentant la dispersion linéaire (type 1) ; la souche ACJY144 (b) représentant la dispersion de type 2 avec deux phases, une phase initiale et une phase d'accélération ; la souche PJ (c) représentant la dispersion de type 2 avec trois phases, une phase initiale, une première phase d'accélération suivie d'une seconde; la souche TSM008 (d) représentant la dispersion de type 3 avec deux phases, une phase initiale et une phase de



ralentissement; la souche FLO239 (e) représentant la dispersion de type 3 avec une phase initiale et deux phases de ralentissement. La figure (f) représente la souche CAS052 de type 4, avec une première phase initiale puis une phase d'accélération suivie d'une phase de ralentissement. Les figures (g) et (h) représentent le pourcentage de souches appartenant à chaque type de dispersion, respectivement en 2021 et en 2022. Dans les panneaux a-f, les points de couleur représentent les données brutes moyennées pour chaque fenêtre temporelle de 15 minutes. Les lignes pleines correspondent aux modèles de régression par morceaux les mieux adaptés, déterminés grâce aux valeurs p des tests de rapport de vraisemblance effectués avec la fonction *anova*. Les lignes pointillées grises correspondent aux intervalles de confiance calculés sur les moyennes des DQM obtenues par réplicat. Ces intervalles tiennent donc compte de la variabilité inter-réplicats. Les lignes verticales noires indiquent les points de rupture identifiés par les modèles linéaires par morceaux. Les souches utilisées pour illustrées les différents types sont issues de la classification obtenues en 2021.



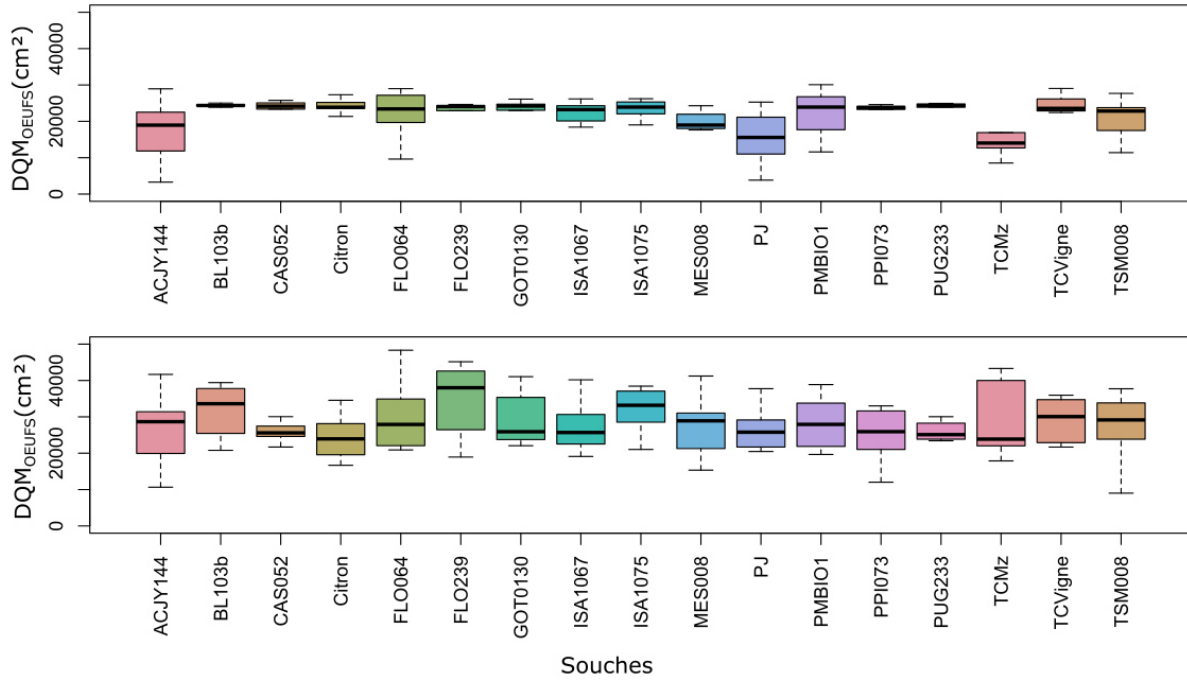
**Figure 7** : Boxplots des DQM finaux en cm<sup>2</sup> en fonction du type de dispersion, en 2021 (a) et en 2022 (b). Respectivement test de Kruskal-Wallis ; df = 3, p = 3.8 e-9 et test de Kruskal-

Wallis ;  $df = 3$ ,  $p = 0.048$ , pas de différence significative entre les types mise en avant avec le test post-hoc.

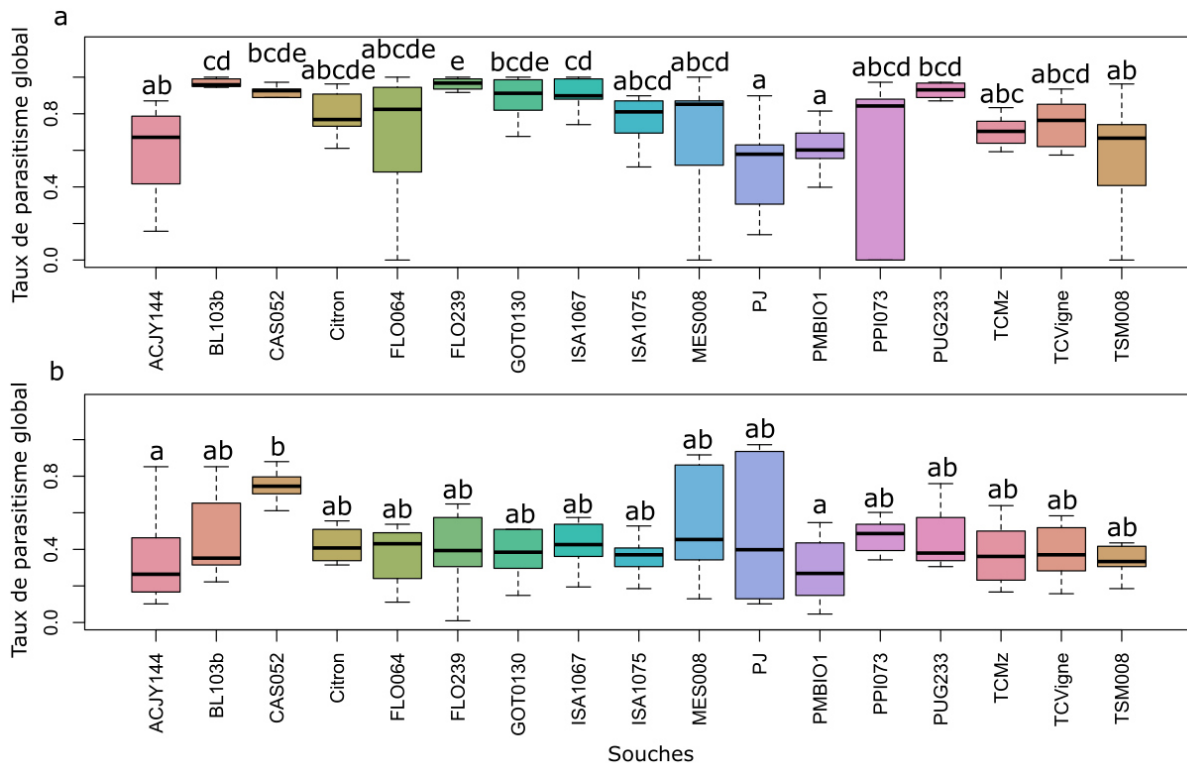
### **Déplacement quadratique moyen à partir du parasitisme des œufs et du taux de parasitisme global**

En 2021, avec un test de Kruskal-Wallis du fait du non-respect des conditions d'application d'un modèle ANOVA, l'effet souche apparaît significatif (test de kruskal wallis ;  $df = 16$  ;  $p=7,165e-03$ ) (Fig.8). Néanmoins le test de comparaisons multiples avec une correction de Bonferroni, effectué à la suite, ne met en avant aucune différence significative entre les différentes souches. En 2022, les conditions étant vérifiées pour appliquer un test ANOVA, nous avons utilisé, pour tester la variabilité intraspécifique, la fonction anova et nous avons obtenu une non-significativité de l'effet souche (test ANOVA ;  $df = 16$  ;  $p =0.28$ ). La variabilité du  $DQM_{OEUF}$  mesurée sur l'information portée par les œufs ne semble donc pas pouvoir être expliquée par des différences inter-souches significatives.

En revanche le parasitisme global révèle un effet souche significatif et cela pour les deux lots de 17 souches, en 2021 (test de Kruskal Wallis ;  $df = 16$  ;  $p=9.457e-09$ ) et en 2022 (test de Kruskal Wallis ;  $df = 16$  ;  $p=0.006318$ ) (Fig.9). Pour les deux années, il y a essentiellement deux groupes extrêmes qui se distinguent de façon significative, et un groupe moyen regroupant l'essentiel des souches testées. En 2021, il y a notamment le groupe constitué des souches : PJ, PMBIO1, ACJY144 et TSM008 qui est significativement différent du groupe constitué des souches : BL103b et FLO239, présentant un parasitisme global supérieur. En 2022, le groupe constitué des souches PMBIO1 et ACJY144 se distingue significativement de la souche CAS052, ayant un parasitisme global quasiment trois fois plus grand.



**Figure 8.** (a) Boxplot du déplacement quadratique moyen final pour les 17 souches testées en 2021, calculé à partir des données de parasitisme des œufs présents dans l'arène en double spirale. (b) Boxplot du déplacement quadratique moyen final pour les 17 souches testées en 2022, calculé à partir des données de parasitisme des œufs présents dans l'arène en double spirale. Les différences entre les souches sont non significatives.



**Figure 9.** (a) Boxplot du parasitisme global moyen pour les 17 souches testées en 2021. (b) Boxplot du parasitisme global moyen pour les 17 souches testées en 2022. Dans les deux cas,

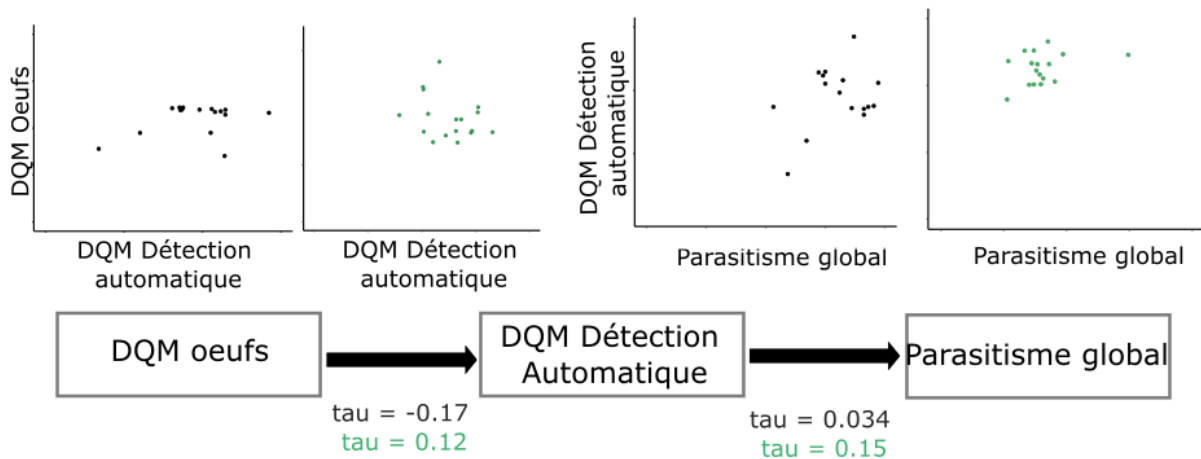
les lettres indiquent les différences significatives obtenues à partir des comparaisons multiples effectuées avec la fonction *kruskal* du package agricolae (Mendiburu 2021) et une correction de Bonferroni, à la suite d'un test de kruskal effectué avec la fonction *kruskal.test* du package stats (V 4.0.0) (R Core Team 2020). En 2021, test de Kruskal Wallis ;  $df = 16$  ;  $p=9.457e-09$  ; en 2022, test de Kruskal Wallis ;  $df = 16$  ;  $p=0.006318$ .

### **Lien entre le Déplacement quadratique moyen des détections automatiques et celui obtenu à partir de la lecture du parasitisme des œufs**

Le déplacement quadratique moyen obtenu à partir des données de détection a l'avantage de représenter une lecture directe de la dispersion des individus tandis que celui obtenu à partir du parasitisme est une mesure indirecte. En effet, il se pourrait que les femelles aient été loin sans parasiter, dans un tel cas la distance de dispersion serait sous-estimée via la lecture du parasitisme des œufs. Il n'est donc pas impossible qu'une corrélation négative apparaisse entre ces deux métriques. Afin d'évaluer l'association entre ces deux variables, nous avons mesuré la corrélation des rangs en utilisant le tau de Kendall avec la fonction *cor.test* du package stats (V 3.6.2) (R Core Team 2020). En 2021, la valeur du tau de Kendall est de -0.17 avec une valeur p de 0.35. En 2022, la valeur du tau de Kendall est de -0.12 avec une valeur p de 0.27. Les valeurs p n'étant pas significatives et non comprises entre 1 et 10%, qu'il est impossible de conclure à une quelconque corrélation entre dispersion physique des individus et du parasitisme des œufs (Fig.10).

### **Lien entre le Déplacement quadratique moyen des détections automatiques et le taux de parasitisme global**

Les corrélations de rang avec le tau de Kendall n'indiquent aucun lien particulier entre les taux de parasitisme globaux et les déplacements quadratiques moyens obtenus à partir de la détection des individus, aussi bien pour 2021 (tau = 0.034 ;  $p = 0.57$ ), que pour 2022 (tau = 0.15 ;  $p = 0.81$ ) (Fig.10).



**Figure 10.** Corrélations de rang de Kendall entre le Déplacement Quadratique Moyen obtenu via la détection automatique des individus, le Déplacement Quadratique Moyen calculé à partir du parasitisme des œufs et le parasitisme global dans les spirales. Chaque point correspond à une souche. Les nuages de points noirs correspondent aux données 2021 et les nuages de points verts, aux données 2022. Ce code couleur est conservé pour les valeurs des tau indiquées. Pour l'ensemble de ces corrélations, les p-valeurs sont toutes supérieures à  $\alpha = 0.05$ .

### Discussions et perspectives

Plusieurs mécanismes peuvent expliquer l'existence des différents types de dispersion qui ont été identifiés. D'abord, la phase de ralentissement peut refléter le fait que les femelles ont déjà parasité plusieurs hôtes à ce moment-là, et qu'elles passent donc à un modèle d'exploration différent (Pompanon, Fouillet, Bouletreau 1999). En outre, une relation entre la charge en œufs et le taux d'activité a déjà été décrite chez d'autres espèces de parasitoïdes et attribuée à la "pression ovarienne" (Collins, Dixon 1986; Rosenheim, Rosen 1991). Bien entendu, ces différences dans la dynamique de dispersion pourraient également intégrer des variations potentielles dans les schémas d'activité diurnes entre les souches. En effet, l'activité des trichogrammes apparaît comme étant largement soumise à un rythme circadien, et cela de façon variable, aussi bien entre espèces, qu'entre souches au sein d'une même espèce (Pompanon et al. 1993; Pompanon, Fouillet, Bouletreau 1995; Pompanon, Fouillet, Bouletreau 1999). Nous avons également pu le constater dans le chapitre précédent, avec un effet marqué pour certaines souches de la période de la journée (matin versus après-midi) ou, de la température (24 ou 28°C) sur trois proxies liés à la dispersion : la vitesse, le taux d'activité ainsi que la sinuosité de leur mouvement. Aussi, il est possible que les différentes souches n'adoptent pas les mêmes stratégies d'exploitation de leur environnement conséquemment de leurs réponses à d'autres variables ou état physiologique. Certaines pourraient plutôt privilégier une exploitation plus locale et passer plus de temps dans l'environnement proche des œufs qu'elles

rencontrent sur leur chemin, quand d'autres auraient plutôt tendance à être à la recherche de nouveaux sites d'oviposition et ainsi être caractérisées par des activités et des vitesses plus importantes (Pompanon, Fouillet, Bouletreau 1999). Il est également important de garder à l'esprit que ces schémas de dispersion ont été identifiés dans un contexte expérimental particulier. Nous avons travaillé à haute densité (plus d'une centaine d'individus introduits). Nous ne pouvons pas exclure qu'en travaillant à des densités plus élevées ou plus faibles, les schémas seraient différents. Cela a été mis en évidence chez *T. cacoeciae*. En effet, une densité de population plus élevée favorise la propagation de la population (Burte et al. 2023a).

L'étude de l'association entre le DQM obtenu par la détection automatique des individus et celui calculé à partir du statut du parasitisme des œufs, n'indique pas d'association significative entre ces deux variables. Ce résultat permet d'exprimer un regard critique quant à la mesure de dispersion effectuée sur le terrain, souvent réalisée par la lecture de l'état de parasitisme de plaquettes d'œufs sentinelles. Rappelons que cette méthode est intéressante dans le cadre de la lutte biologique puisqu'elle permet non seulement de rendre compte des capacités de contrôle à proprement parler des ravageurs par les trichogrammes, et aussi, elle rend compte, de façon indirecte, des capacités de propagation spatiale des trichogrammes. Cette mesure indirecte pourrait être le reflet parfait de la propagation spatiale des individus à condition que les individus qui dispersent trouvent effectivement les œufs et qu'une fois les œufs trouvés, les femelles y pondent. Or sur le terrain, ou même dans l'arène en double spirale, il est possible, respectivement, que les femelles ne trouvent pas les œufs mais dispersent quand même à d'importantes distances ou que les femelles ne prennent pas le temps d'exprimer un comportement de ponte du fait de l'importante densité en individus dans ces arènes. Il est également probable qu'après plusieurs heures à disperser et à parasiter les premiers œufs le long du chemin de l'arène en double spirale, les femelles subissent une diminution de leur charge ovarienne telle qu'elles dispersent finalement moins rapidement et ne ressentent plus le besoin de pondre. Mais ce fait est à nuancer. En effet d'autres études suggèrent des tendances inverses. En effet, les travaux de Victor Burte, dans une arène en double spirale, dispositif similaire ayant précédé celui qui a été mis en place durant ma thèse, ont montré que les femelles de *T. cacoeciae* ne ralentissent pas dans la spirale lorsque des œufs sont présents mais le font en l'absence d'œufs (Burte et al. 2023b). L'autre possibilité relève plus simplement de l'existence d'un trade-off largement recensé dans la littérature entre fécondité et dispersion. En effet, dans la revue de (Tigreros, Davidowitz 2019), sur les 68 études recensées, quasiment 60% d'entre elles témoignent d'un trade-off entre ces deux traits. Cependant l'étude de ce trade-off demeure très

peu référencée chez *Trichogramma sp* (Guicharnaud et al. 2023). En effet, les études existantes portent surtout sur les compromis entre reproduction et longévité (Bennett et al. 2009). Et les données que j'apporte ici, ne permettent pas de renseigner plus avant sur l'existence de ce compromis entre fécondité et dispersion chez trichogramme.

L'absence de corrélation entre la propagation spatiale des individus et leur propagation via le parasitisme des œufs pose question quant au choix de la propagation spatiale comme un trait supplémentaire pour la sélection des trichogrammes comme agents de biocontrôle.

La surestimation du  $DQM_{OEUF}$  en lien avec l'absence de parasitisme notamment sur le début du chemin dans l'arène en double spirale, m'encourage à revenir sur le protocole expérimental choisi. En effet, lorsque nous avons choisi de travailler à haute densité avec un œuf tous les cinq centimètres le long du chemin de la spirale, nous n'avons à aucun moment pensé à la possibilité d'obtenir des données biaisées par un phénomène de superparasitisme. Afin d'éviter cela, le protocole des expérimentations dans les arènes en double spirale, pourrait être revu de façon à soit réduire le nombre de femelles trichogrammes introduites, soit réduire la pression de femelles par œuf, en remplaçant chaque œuf par un patch avec plusieurs œufs.

Mais dans l'idéal, il faudrait pouvoir lever le voile sur l'hypothèse du superparasitisme, qui reste à confirmer, afin de conclure de façon certaine et ainsi appliquer les corrections nécessaires pour les souches concernées, c'est-à-dire, combler les creux observés dans la distribution du parasitisme en fonction de la distance, lorsque celui-ci est effectivement dû à du superparasitisme.

Les DQM obtenus en 2021 et en 2022, nous permettent également de revenir sur la discussion concernant la conservation de l'identité génétique des souches au cours du temps. En effet, avec les données obtenues en 2021, nous sommes parvenus à mettre en avant une variabilité expliquée à hauteur de 42% par la diversité génétique des souches testées. En revanche, en 2022, aucune variation génétique quantitative pour ce phénotype n'est apparue. Ce résultat est compatible avec l'hypothèse selon laquelle les souches ont pu être mélangées pendant les périodes d'élevage, ou bien contaminées par l'espèce *T.oleae*. Ces phénomènes pourraient avoir réduit la variabilité génétique entre souches qui existait en 2021.

### III- Caractérisation de la dispersion des trichogrammes en serres

#### **Article 3: An evaluation of the parasitism efficiency and dispersal distance of 12 *Trichogramma cacoeciae* strains under greenhouse conditions**

Cointe, M.<sup>a\*</sup>, Launay, M., Lheureux, M., Perez, G.<sup>a</sup>, Fresnoy, C.<sup>c</sup>, Mailleret, L.<sup>ab</sup> & Calcagno, V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Université Côte d'Azur, INRAE, CNRS, Institut Sophia Agrobiotech, Sophia Antipolis, France

<sup>b</sup> Université Côte d'Azur, Inria, INRAE, CNRS, Sorbonne Université, Biocore, Sophia Antipolis, France

<sup>c</sup> Bioline Agrosiences

\*Author for correspondence: [melina.cointe@inrae.fr](mailto:melina.cointe@inrae.fr)

#### **Introduction**

Sustainability i.e., the principle that we must be able to meet our present needs without compromising future generations in meeting theirs, is nowadays the main focus for agronomy (Lichtfouse *et al.*, 2009). Agricultural pests cause massive damage, as historically they have been responsible for 50 to 80% of total agricultural losses (Oerke, 2006). However, classical ways of controlling pests are not sustainable anymore for several reasons, including human health concerns and environmental impact issues such as the reduction in the number of species and varieties cultivated, the increase in the greenhouse effect by emitting greenhouse gases through ploughing, nitrogen fertilizer losses and anthropogenic eutrophication (Carson, 1962 ; Cordell *et al.*, 2009 ; Malézieux *et al.*, 2022). Reducing the use chemical pesticides is therefore a major challenge for sustainable agriculture.

To achieve this objective, various strategies and methods can be implemented, including for instance, the use of biological control. (Smith, 1996), an American entomologist, defined it as “the use of natural enemies (whether introduced or otherwise manipulated) to control insect pests. Numerous biological control strategies have been developed both in the field and in greenhouses (Legner, 2008). In this context, the oophagous parasitoids *Trichogramma sp.* became one of the most used and commercialized agents against some pests such as the corn borer (Corrigan et Laing, 1994 ; Naïbo et Druésne, 2008). They are micro-Hymenoptera which lay their eggs inside the eggs of their insect-hosts. Their ease of rearing on alternative hosts, and their wide geographic distribution make them interesting biological control agents (Souza *et al.*, 2016). However, to achieve successful biological control, it is necessary to make sure



that the most suitable and efficient *Trichogramma* species are selected (Losey et Calvin, 1995). Screening and selection methods of biocontrol agents therefore need to be developed on traits of interest. So far, this selection is mainly based on laboratory experiments which are most of the time conducted to assess the following characteristics: the ability of the species to parasitize and develop in the target host egg, the preference for the targeted pest, the total egg mortality caused by parasitism, and female longevity (Cascone *et al.*, 2015 ; Knutson, 1998 ; Lundgren et Heimpel, 2003 ; van Lenteren, 1986). These criteria are well-known and the most commonly used but are not always suitable for confidently selecting the best biocontrol agents (Garipey *et al.*, 2015). However, another one does exist but is less studied: dispersal (Pak, 2003).

Dispersal is indeed often mentioned as a key element for efficient biological control with trichogramma (Cronin et Reeve, 2005 ; Hawlitzky, 1982 ; Hegazi *et al.*, 2012 ; Oliveira *et al.*, 2020 ; Van Driesche *et al.*, 2008 ; van Lenteren, 1986). Indeed, among the characteristics which make a biological control agent a good one, there is the high searching ability, directly linked to dispersal capacity (Murdoch *et al.*, 1985 ; Vandermeer, 1995) to make sure the target area over which control is desired is well covered (Corbett et Rosenheim, 1996). However, the dispersal of *Trichogramma* individuals, even for the most used species, is still poorly known (Ivezić *et al.*, 2021). Despite its undisputed importance, dispersal remains an ambiguous term (Pielou, 1981 ; Ronce, 2007), going from the simple increase of the distance between individuals of a group or population (Asplen, 2018), to the settlement and reproduction, excluding forms of movements related to foraging or seasonal migrations (Croteau, 2010). Here, we address the following definition: the spatial spread of individuals (dispersal *sensu lato*), that can have consequences on reproduction and gene flow (dispersal *sensu stricto*).

For minute insects, the relevant scale for the study of such dispersal is that of a few meters. Indeed, unless dispersal is passive i.e. the individuals are carried along by the wind, in the field or in greenhouses, *Trichogramma* individuals mostly disperse from 0 to 5 metres (Bueno *et al.*, 2012 ; Oliveira *et al.*, 2020 ; Sharma et Aggarwal, 2015). Here we propose a field study conducted in pepper plants greenhouses since they constitute a suitable environment for the development of efficient biocontrol strategies such as inundative releases (van Lenteren et Woets, 1988). We worked on pepper plants because they are often grown in greenhouses and they are of great agronomic interest, being subject to a strong demand from consumers (Dubon, 2020 ; Kultive, 2020). They are also susceptible to be attacked by pests for which *Trichogramma* individuals have proven to be effective, such as *Tuta absoluta* (Gayraud, 2020).

In these greenhouses, we released 12 different asexual strains of *Trichogramma cacoeciae* in 2021 and 2022. We considered these two batches of strains as independent from one year to the other in order to prevent the risk of mixing the strains over one year of rearing.

In this study, we will look at variables classically studied when investigating the performance of *Trichogramma* individuals as biocontrol agents: parasitism rate and egg discovery rate. We will also propose a more original assessment, based on their dispersal capacities. Our objectives are therefore to determine whether the tested strains can indeed differ significantly on parasitism and a movement trait such as dispersal, and whether there is a preference in the canopy, rather up or down, for laying eggs, knowing that *Trichogramma* individuals may tend to express preferences in canopies (Burbutis *et al.*, 1977). Dispersal has been assessed by using host sentinel eggs placed at known distances. We are also interested in the influence of different biotic (number of released individuals, height of the plants) or abiotic factors (humidity, temperature, location of the site of parasitism) since dispersal is subject to the influence of many parameters. We will also pay attention to the link between variables related to dispersal and others related to parasitism allowing us to answer the following question: are the strains with a high dispersal rate also the ones that lay the most eggs?

## **Materials and methods**

### *Presentation of the 12 strains of T.cacoeciae*

We worked with 12 strains of *Trichogramma cacoeciae* that were sampled in France, between 1987 and 2016 and supplied by the INRAE biological resource centre “EggParasitoids Collection” (CRB EP-Coll, Sophia Antipolis) (Table 1).

Strain	Sample Location	Capture Plant	Sampling year
ACJY144	Aime, France	Ash tree	2015
CAS052	Castellane	Boxwood	2016
Citron	Grasse	Lemon tree	2012
FLO239	Le Crouzet	Rose bush	2016
GOT0130	Gotheron	Apple tree	2016
ISA1075	Maurice de Beynost	Plum tree	2015
PJ	France	Laboratory strain	1987
PMBIO1	France	Unknown	2014
PPI073	Sophia Antipolis	Unknown	2016
PUG233	La Pugère	Apple tree	2015
TCVigne	France	Unknown	1987
TSM008	Tours sur Meymont	Apple tree	2015

**Table 1.** Information on the 12 strains used in the results section: their name, their sampling location, the plant on which they were captured and their sampling year.

#### *Laboratory mass-rearing of T. cacoeciae*

*Trichogramma* individuals were reared on the surrogate host *E. kuehniella*, specifically UV-irradiated eggs supplied by Bioline Agrosiences and stored at  $3 \pm 1^\circ\text{C}$ , RH  $75 \pm 5\%$ . This stock of eggs was renewed every week. They were then attached on cardboard strips (4.5cm x 1cm) with the same glue described above for the preparation of sentinel egg patches, so that *Trichogramma* females could lay their eggs on this cardboard. We had four batches of the twelve strains tested in order to have emerging females the day before each release. *Trichogramma* females were reared over 14-day cycles: 6,5 days at  $18 \pm 1^\circ\text{C}$  and 7.5 days at  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 12:12 h L:D photoperiod and  $70\% \pm 10\%$  RH.

#### *Greenhouse trials*

Trichogramma individuals were released on pepper plants (*Capsicum annuum* Lamuyo F1 organic variety) in two separate greenhouses (Fig.1). In each of the two compartments, four rows of 15 peppers in pots, on tablars, were arranged so as to be 25cm apart (stem to stem distance). Between each row, a distance of 25cm was maintained. The peppers were automatically watered twice a day, at 8 am and 2 pm. A single dose of retardant fertilizer was used after planting the pepper plants. Twelve strains of *Trichogramma cacoeciae* were released and each one of them was tested four times each year. The releases were carried out in July and August 2021, and late June to mid-August 2022. In 2021 and 2022, respectively, average thermal and hydrometric conditions were as follows:  $24.9 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$ ;  $75.3 \pm 5.9\%$  and  $27.5 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$ ;  $63.5 \pm 8.4\%$

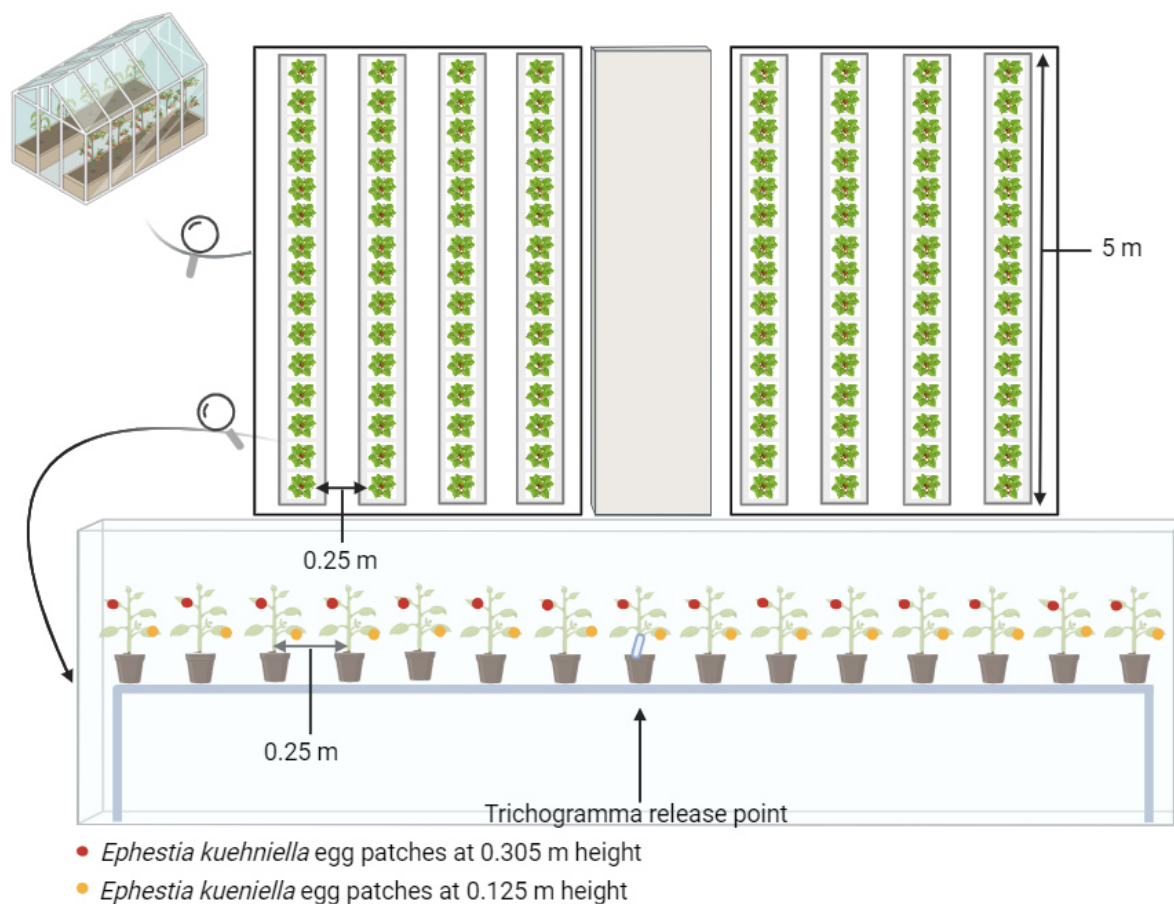
Four strains were released simultaneously in one week, in each of the two compartments, one compartment at the beginning of the week and another compartment at the end of the week. Each compartment had four rows of bell peppers. Each row corresponded to a replicate. In order to isolate the rows from each other and to allow for the simultaneous release of different strains, muslin cloths were laid out to isolate plant rows from one another. The muslins reached to the ground, which ensured isolation from below. Between each release in the same compartment, a sanitary vacuum of 6 days has been considered. The 6-day period was deemed sufficient, with patches of sentinel eggs to be parasitized after 6 days post-release of *Trichogramma* individuals. These patches were then collected and stored at  $25^{\circ}\text{C}$  to determine whether they had been parasitized. No parasitized eggs were found in this test.

At the end of the afternoon prior to a release, 1cm square patches with irradiated *Ephestia kuehniella* sentinel eggs were placed in the rows. The eggs were attached to the patches using glue ( $\frac{1}{3}$  of transparent Rubafix glue without solvent +  $\frac{2}{3}$  of distilled water). On average, in 2021,  $248 \pm 32$  eggs were glued to the patches, and  $217 \pm 38$  eggs in 2022. The patches were placed on each pepper plant at two different heights: 12.5 cm and 30.5 cm (i.e., the first quarter and third quarter of the average height of the pepper plants). The patches were placed on the underside of the leaves and hung with pins.

The next morning, at 9:00 am, tubes filled with 24-hour-old trichogramma females (Plastic tubes with straight edges, round bottom, Dimensions (inner  $\text{\O}$  x outer  $\text{\O}$  x H.): 13.5 x 16 x 95 mm) were placed at the foot of the median plant of each row. The number of *Trichogramma* females actually released was determined after each release by recovering from the release tubes the cardboard from which they had emerged. All black eggs (the blackening of the egg being indicative of parasitism) that were visually empty were counted as an emerged female. In 2021,  $2229 \pm 230$  females on average have been released, and  $2306 \pm 173$  in 2022.

Once the tube was placed in a row, a temperature sensor (TFA Dostmann Log32 T) was activated and placed on the board in the middle of the row. Hygrometry was measured by a weather station suspended in the centre of the compartment.

Trichogramma females were let free to disperse for 24 hours. The sentinel egg patches were then collected the next morning and stored at 25°C for 5 days, i.e., the time needed for the parasitized eggs to blacken. The patches were then placed under a binocular magnifying glass in order to count all the eggs as well as the parasitized eggs. The height of the plants was measured once a week in each release compartment using a meter, starting from the foot of the plant to the highest leaf.



**Figure 1.** Diagram of greenhouse experiments. Two compartments each containing 4 rows of 15 pepper plants, separated by other compartments represented by a light grey block. A focus on one row is shown at the bottom of the diagram. The row is shown surrounded by the muslin that isolated the rows from each other. A black arrow points to the middle plant, which served as a release point. The release tube is shown at the foot of this plant. The orange dots represent the lower sentinel egg patches (12.5 cm) and the red dots represent the upper patches (35 cm).

## Statistical analyses

In order to qualify the parasitism performances and the dispersal of the different *Trichogramma* strains, we worked on four variables of interest: (i) The global parasitism rate, (ii) the Mean Squared Displacement, (iii) the global discovery rate and (iv) the global parasitism rate for discovered patches only.

The first variable rather reflects the performance of the strain in relation to their capacity to parasitize in the field and thus complements the approach to dispersal by approaching the second counterpart of the definition we have proposed, link to the gene flow. The overall parasitism rate was calculated for each replicate by summing all the eggs identified as parasitized and dividing them by the sum of the eggs on all patches.

The second variable, the Mean Squared Displacement corresponds to the sum of all the squared distances from the release point i.e., the different distances shown in Fig.2, multiplied by the standardized parasitism rate at each of these distances.

$$MSD = \sum d^2 \times NPF_d$$

Where  $d$  is the distance from the release point of a patch to be parasitized, and  $NPF_d$  is the normalized parasitism frequency at each distance  $d$  and it is defined as follows: it is for each strain, each replicate, the frequency of parasitism at a given distance i.e. The number of parasitized eggs on patch ( $NBe$ ) divided by the total number of eggs on this same patch ( $Te$ ):  $Freq_d = \frac{NBe}{Te}$ . Then,  $Freq_d$  is divided by the sum of parasitism frequencies at the different distances in a row, for each strain and each replicate. This gives:

$$NPF_d = \frac{Freq_d}{\sum_d Freq_d}$$

The third variable accounts for exploratory skills, like the MSD does, but it emphasizes the discovery of patches (regardless of their exploitation). Indeed, some strains could have parasitized a lot without having discovered many patches, and vice versa. This overall discovery rate was computed as follows: whenever there was at least one parasitized egg on a patch, it was considered to be discovered, and assigned the value 1 to the "discovery" variable. When no eggs were parasitized on a patch, it was classified as undiscovered, and assigned the value 0

to the "discovery" variable. We then averaged these values over all patches considered. Note this variable underestimates the true discovery rate, since it is possible that patches were discovered but yet unparasitized. However, this scenario is probably rare, and thus the metric can be considered a good approximation.

All variables were calculated for top and bottom patches separately, as well as for all patches together.

For each variable, the objective was to understand the set of factors that effectively explain the observed differences between strains. Firstly, is it possible to quantify intraspecific variability using the strain as an explanatory variable, and secondly other parameters can be used as explanatory variables to embrace the other sources of variation impacting the studied variables. Therefore, for each of these three variables, we ran Generalized Linear Mixed Models model with the function *glmmTMB* from the package of the same name (version 1.1.2.3) (Brooks *et al.*, 2017), with the following fixed explanatory variables: Strain, in interaction with Patch (a binary variable with the values High or Low, depending on the position of the patch on the plant), plus a set of environmental variables (Hygrometry, Temperature, Plant height, and Number of individuals introduced).

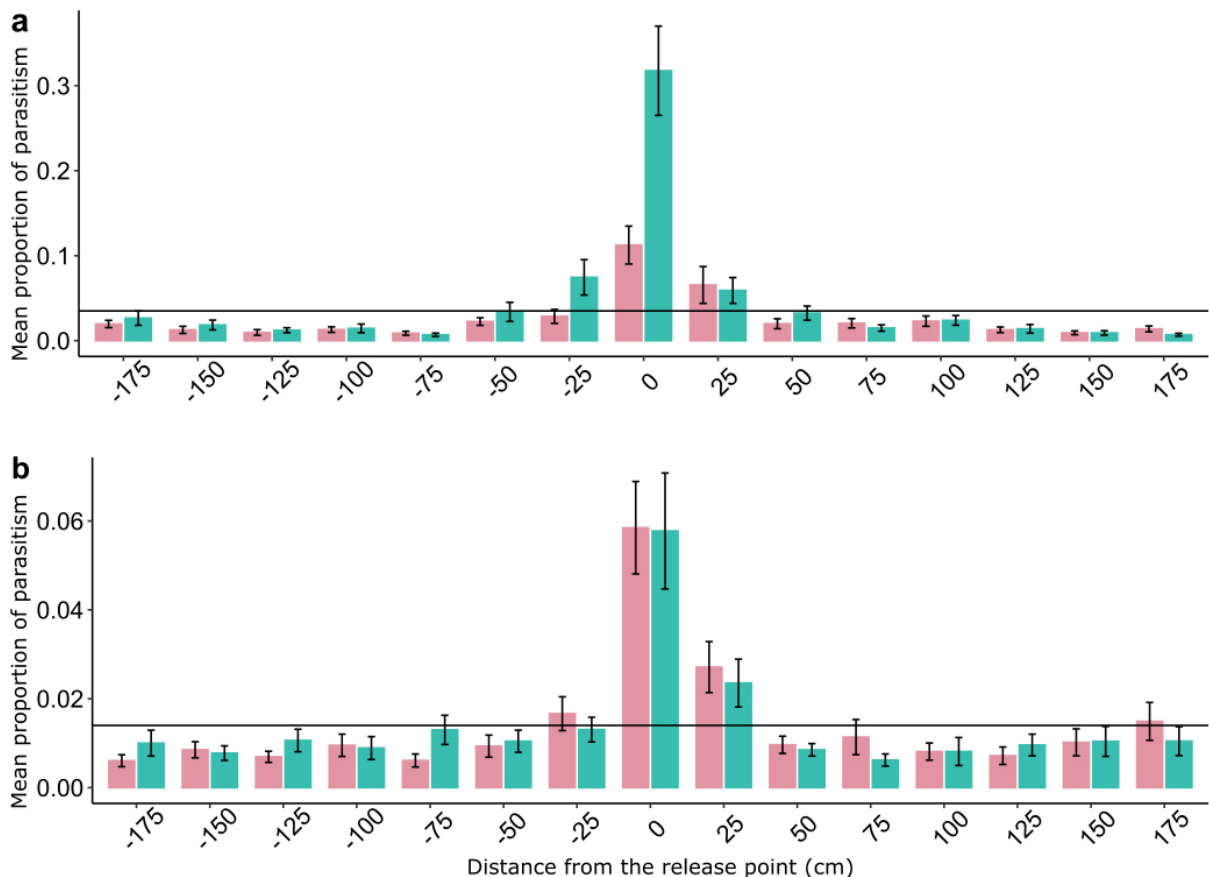
The changes in environmental variables over weeks are presented graphically in the supplementary material (Fig.S1). In order to overcome model convergence problems related to the large differences in scale between variables, these were normalised using the *scale* function available in R software (R Core Team, 2020). The families of models were adapted according to the observed distributions of the dependent variables. Some transformations were applied in order to correct for skewness to be able to work with gaussian distributions.

A random structure with Rank nested in Week was added to correct for possible autocorrelations or unmeasured variables (such as light intensity). In case of a significant effect, post-hoc tests were conducted with the *emmeans* function of the package of the same name (version 1.7.0) (Lenth *et al.*, 2023), with a correction for multiple tests using the False Discovery Rate method (Storey, 2010). The fit quality of the models (normality and homogeneity of residuals) has been checked with the function *simulateResiduals* of the package DHARMA (version 0.4.6) (Hartig, 2022). (See Fig.S2, Fig.S3 and Fig.S4). In order to obtain p-values associated with each tested variable (fixed effect or interactions), the *anova* function of the car package (version 3.0-12) (Fox et Weisberg, 2019) has been used. A table summarizing these results is available in the supplementary material (Table S1).



For each of the following variables: global parasitism rate, global parasitism rate for discovered patches only, MSD and discovery rate, overall means (without distinction between patches) were compared between 2021 and 2022, using Mann-Whitney tests (data being independent and not normally distributed) thanks to the *wilcoxon.test* function with the "paired" parameter set to "FALSE", from the package *stats* (version 4.0.0) (R Core Team, 2020).

Finally, in order to determine the existence of pairwise correlations between the different variables studied, we performed Kendall correlations due to the non-normality of the distribution of most of the variables studied, with the function *cor.test* from the package *stats* (version 4.0.0) (R Core Team, 2020). As you will see in the results that follow, since the strain effect appeared to be significant for certain variables only, and the post hoc tests showed little difference, we decided not to consider an average point per strain for each of the variables, but one point per replicate, i.e., 48 values in total, for each of the variables studied. It also allowed us to have access to more statistical power. The p-values associated with each test were corrected using the "False Discovery Rate" (Storey, 2010), set in the *cor.test* function using the "adjust" parameter.



**Figure 2.** Barplots representing the mean percentage of parasitism (no distinction between strains) for each patch height as a function of the distance in 2021(a) and in 2022 (b). In green are the barplots for the bottom patches. In pink are the barplots for the top patches. The error



bars correspond to the standard deviation. The horizontal black lines correspond to the overall averages of the global parasitism for each year (0.035 in 2021 and 0.014 in 2022).

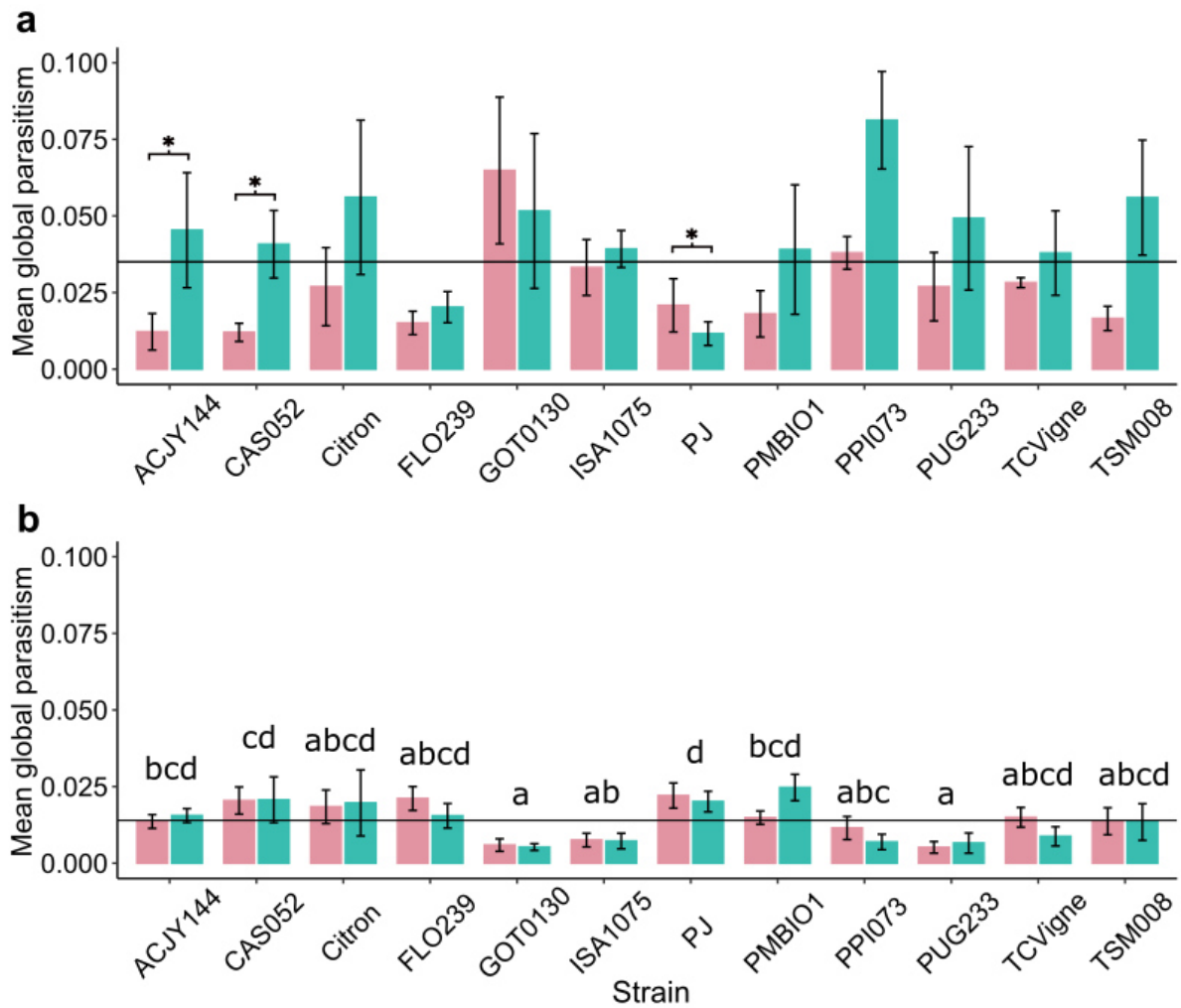
### *Global parasitism rate*

In 2021, the global parasitism rate was significantly impacted by the number of *Trichogramma* individuals released ( $DF = 1, p = 1.29e-02$ ): the more individuals released the higher the global parasitism rate. Moreover, the overall parasitism rate was significantly higher for patches located at the bottom of the plant ((Fig.3a);  $DF = 1, p = 4.92e-03$ ).

The effect of strain was significant, in interaction with patch height. Thus, the strains ACJY144, CAS052 and PJ, showed a significant difference between the average parasitism rate of the upper patches and that of the lower patches. But the differences were not similar for all three strains. Indeed, for ACJY144 and CAS052, the lower patches are significantly more parasitized than the upper ones, while for PJ, on the contrary, it's the upper patches that are significantly more parasitized. The other variables do not significantly impact the global parasitism rate.

In 2022, the overall parasitism rate is significantly impacted by the size of the plants: the larger the plants, the higher the overall parasitism rate ( $DF = 1, p = 7.70e-03$ ). Also, this metric significantly differed across strains ( $DF = 11, p = 5.57e-03$ ) (Fig.3b). The strains can be divided into two main groups: those with fairly low overall parasitism rates, often below the global average, and other strains with higher overall parasitism rates, often around the global average or a bit higher. There is no significant effect of the patch unlike 2021, or other variables.

The means of the overall parasitism rates for 2021 and 2022 (without distinction between patches) were compared and are significantly different (Mann and Witney test,  $p = 1.2e-08$ ). Performance in 2022 are lower than that measured in 2021. These significantly lower overall parasitism rates in 2022 could be due either to a lower discovery rate due to faster dispersal, but resulting in some patches not being found, or to a reduction in female fecundity between 2021 and 2022. The next variables studied will enable us to provide some answers.



**Figure 3.** Barplots representing global parasitism rate for each strain and for each patch height in 2021(a) and in 2022 (b). In green are the barplots for the bottom patches. In pink are the barplots for the top patches. The error bars correspond to the standard deviation. The stars correspond to the posthoc test performed with the *emmeans* function. The letters correspond to the posthoc test performed with the *emmeans* function and indicate which strains are significantly different from each other. The horizontal black lines correspond to the overall averages of the global parasitism for each year (0.035 in 2021 and 0.014 in 2022).

### Mean Squared Displacement

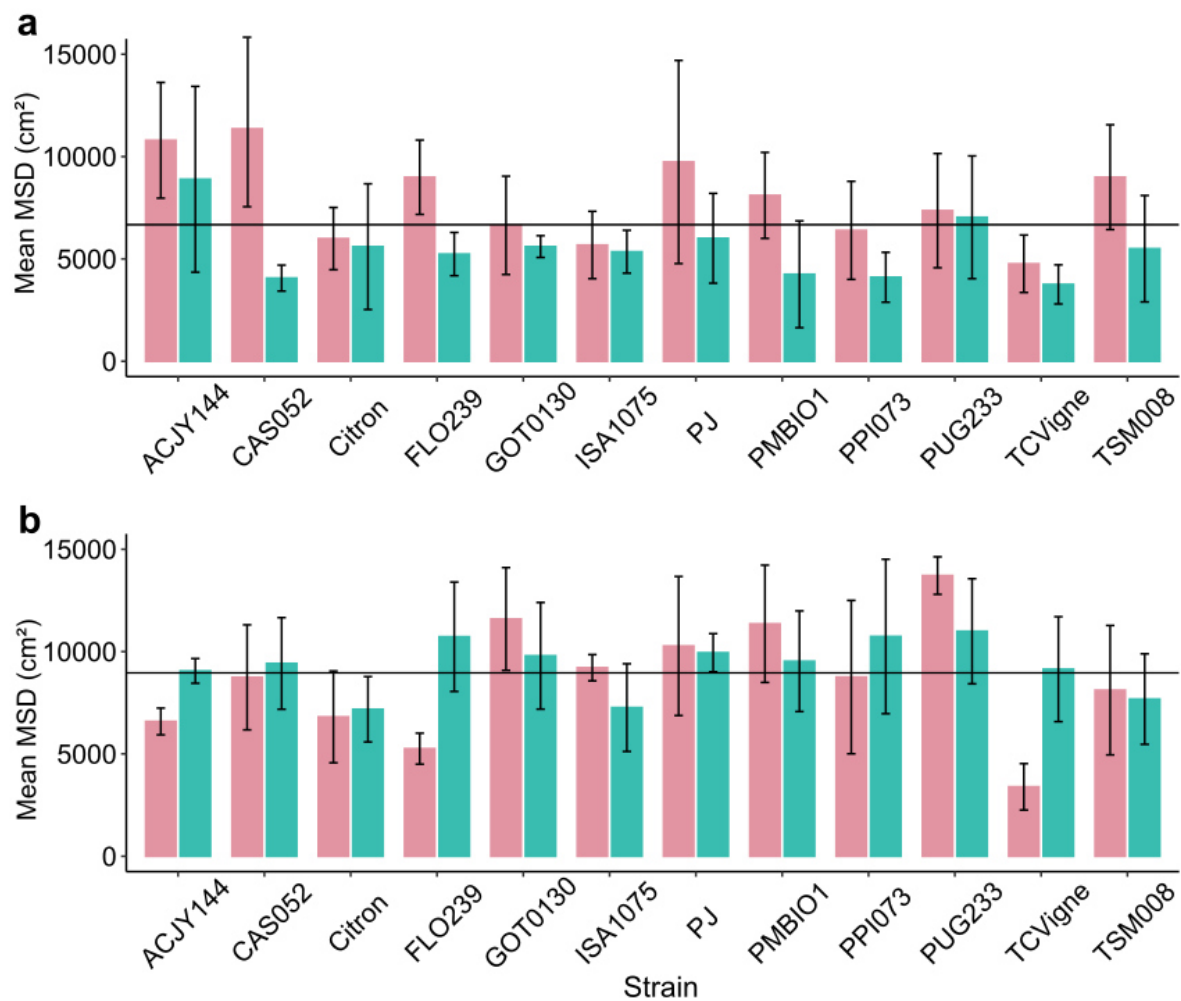
In 2021, with regard to Mean Squared Displacement, graphically, there seems to be a tendency for more dispersal in the middle of the canopy (higher patches) rather than near the ground (lower patches) (Fig.4a). But this observed trend of MSD to be larger for the higher patches (Fig. 4a) was not significant ( $DF = 1$ ;  $p = 0.11$ ) and the strains did not significantly differ on this metric either ( $DF = 11$ ;  $p = 0.3$ ). On the other hand, biotic and abiotic factors such as the number of *Trichogramma* individuals released and the thermal conditions as well as the height of the plants have a significant impact on dispersal, (respectively:  $DF = 1$ ;  $p = 4.3e-3$ ,  $DF = 1$ ;  $p = 2.4e-3$ ). Indeed, according to the model, larger temperatures were associated with

a decrease in the MSD. The observation is similar for the number of *Trichogramma* individuals released, meaning the more individuals, the lower dispersal. The other variables did not appear to significantly impact the MSD ( $p > 0.05$ ).

In 2022, on the other hand, the MSD does not seem to be significantly impacted by the various biotic or abiotic variables (Fig.4b). On the other hand, strains significantly differed on this metric (DF = 11,  $p = 3.55E-03$ ). However, the post hoc test did not pick out pairwise significant differences between strains.

The means of the MSD for 2021 and 2022 (without distinction between patches) were compared and were significantly different (Mann and Witney test,  $p = 9.7e-05$ ). *Trichogramma* females dispersed significantly further in 2022 than in 2021 (Fig.4).

Altogether, it seems that in 2022, the strains have dispersed further, but have parasitized fewer host eggs.



**Figure 4.** Barplots representing the Mean Squared Displacement for each strain and for each patch height in 2021 (a) and in 2022 (b). In green are the barplots for the bottom patches. In pink are the barplots for the top patches. The error bars correspond to the standard deviation

The horizontal black lines correspond to the overall averages of the Mean Squared Displacement for each year calculated on the values of the MSD obtained for each replicate of each strain (mean\_2021 = 6674.6 cm<sup>2</sup> and mean\_2022 = 8968.7 cm<sup>2</sup>).

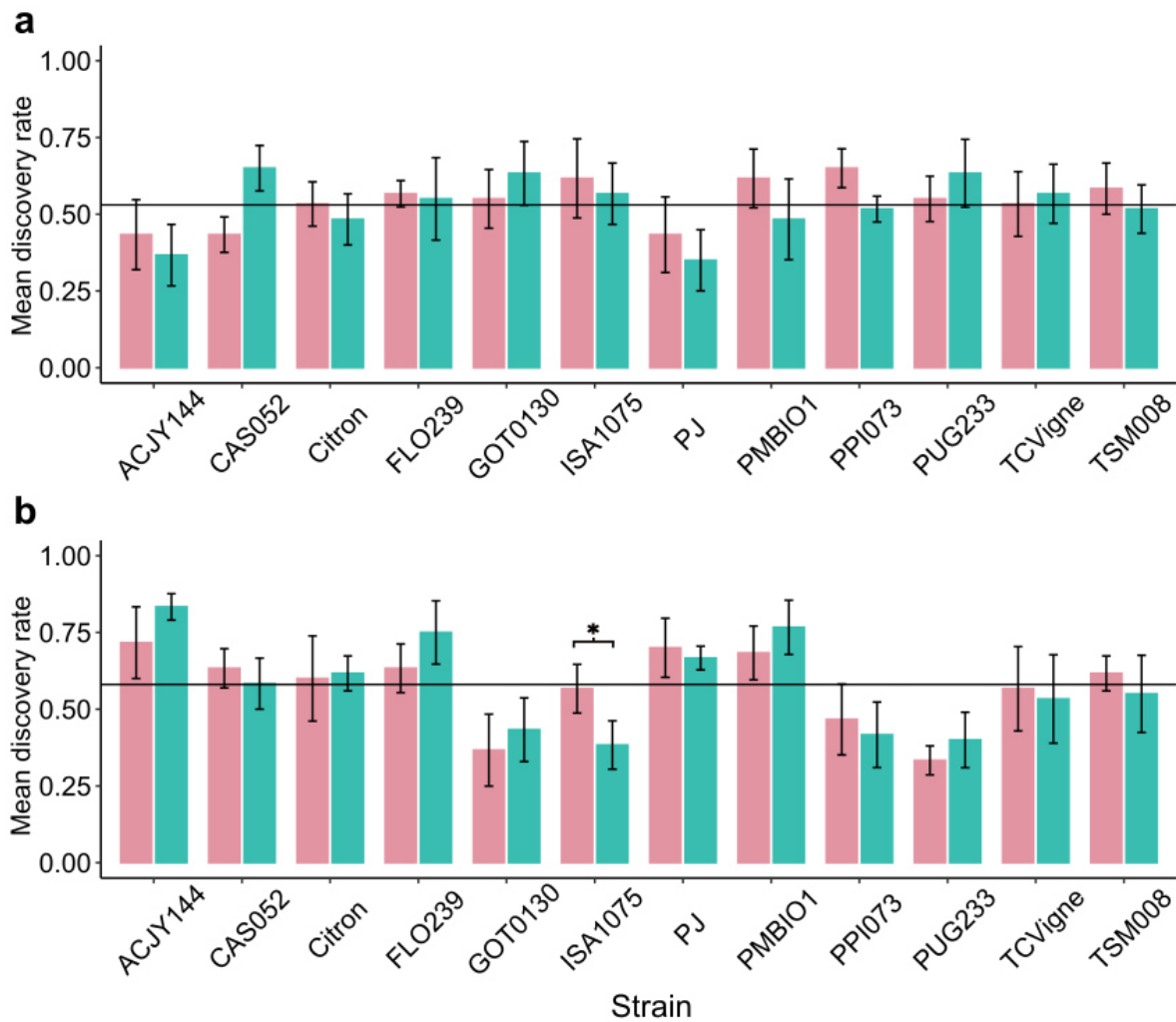
### *Global discovery rate*

In 2021, none of the studied variables seemed to significantly explain the differences observed in the overall discovery rate, with ample variations (Fig.5a). For example, for the strains PPI073 and PMBIO1, the overall discovery rates appear higher for the top patches, while for the strain CAS052 for example, it is the opposite.

In 2022, the strain and patch interaction was significant (DF = 11,  $p = 3.25e-2$ ). The posthoc test tells us that the discovery rates are indeed different for strain ISA1075 such that the top patches were more often discovered than the bottom patches (Fig.5b). The other variables did not have a significant impact on the discovery rate.

The means of the discovery rates for 2021 and 2022 (without distinction between patches) were not significantly different (Mann and Witney test,  $p = 0.12$ ).

The strains therefore discovered as many patches in 2022 as in 2021. Consequently, the larger average parasitism rate in 2021 compared to 2022 is explained by a greater tendency to “miss” some patches, despite the slightly greater MSD (Fig. 4). Therefore, it might have been caused by a lower rate of parasitism of patches when those were discovered.



**Figure 5.** Barplots representing global discovery rate for each strain and for each patch height in 2021(a) and in 2022(b). In green are the barplots for the bottom patches. In pink are the barplots for the top patches. The error bars correspond to the standard deviation. The stars correspond to the posthoc test performed with the *emmeans* function and indicate that for the ISA1075 strain the difference in the global discovery rate according to the height of the patch is significant ( $p = 4.2e-3$ ). The horizontal black lines correspond to the overall averages of the mean discovery rate for each year calculated on the values of the mean discovery rate obtained for each replicate of each strain (mean\_2021 = 0.53 and mean\_2022 = 0.58).

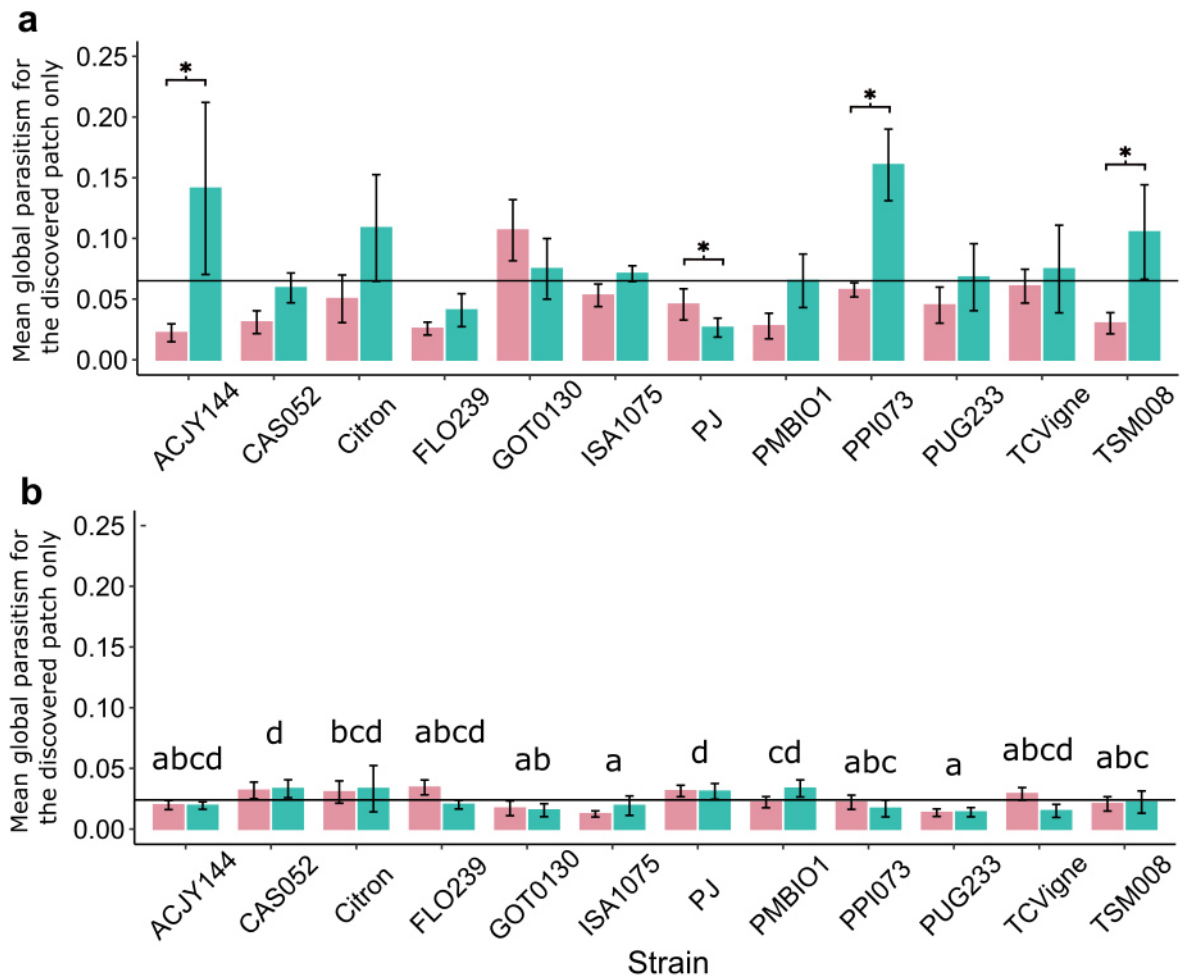
#### *Parasitism rate of discovered patches*

In 2021, the global parasitism rate for discovered patches was significantly impacted by the number of *Trichogramma* individuals released ( $DF = 1, p = 3.9e-02$ ). In what direction? Does this mean that patches were visited by more females? Moreover, the parasitism rate was higher for patches located at the bottom of the plants (Fig.6a;  $DF = 1, p = 1.3e-04$ ), consistent with what was found for the global parasitism rate (Fig. 2a). A strain effect also appears by itself ( $DF = 11, p = 1.9e-2$ ) and also via an interaction with patch height ( $DF = 11, p = 2.2e-3$ ). The post hoc test showed that for strains ACJY144, PJ, PPI073, and TSM008, there is indeed

a significant difference between the average parasitism rate of upper patches and lower patches. The differences were not similar for all four strains though. Indeed, for ACJY144, PPI073 and TSM008, the lower patches are significantly more parasitized than the upper ones, while for PJ, on the contrary, it's the upper patches that are significantly more parasitized. The other variables did not significantly impact the global parasitism rate.

In 2022, the overall parasitism rate is significantly impacted by the size of the plants: the larger the plants, the higher the overall parasitism rate ( $DF = 1$ ,  $p = 4.1e-03$ ). Also, this metric showed significant inter-strain variability ( $DF = 11$ ,  $p = 9.9e-03$ ) (Fig.6b). The strains can be divided into two main groups, quite similar to the ones identified for the global parasitism for all patches: those with fairly low overall parasitism rates, often below the global average, and other strains with higher overall parasitism rates, often around the global average or a bit higher. There was no significant effect of the patch position, again consistent with the global parasitism rate (Fig. 2b), or other variables.

The means of the overall parasitism rates for the discovered patches for 2021 and 2022 (without distinction between patches) were significantly different (Mann and Witney test,  $p = 1.27e-12$ ). Parasitism rate in 2022 was lower than that measured in 2021. This confirms our previous interpretation: in 2022, the lower parasitism rate was not caused by a lower discovery rate of patches, but rather by a lower parasitism of the discovered patches. The latter might be explained by a tendency to leave patches earlier, which would be consistent with the larger MSD (Fig. 3).



**Figure 6.** Barplots representing global parasitism rate for the discovered patches only, for each strain and for each patch height in 2021(a) and in 2022 (b). In green are the barplots for the bottom patches. In pink are the barplots for the top patches. The error bars correspond to the standard deviation. The stars correspond to the posthoc test performed with the *emmeans* function and indicate that for the ACJY144, PJ, PPI073 and TSM008 strains the differences in global parasitism rates for the discovered patch only according to the height of the patch are significant ( $p < 0.05$ ). The letters correspond to the posthoc test performed with the *emmeans* function and indicate which strains are significantly different from each other. The horizontal black lines correspond to the overall averages of the global parasitism for the discovered patch only for each year calculated on the values of the global parasitism obtained for each replicate of each strain (mean\_2021 = 0.065 and mean\_2022 = 0.024).

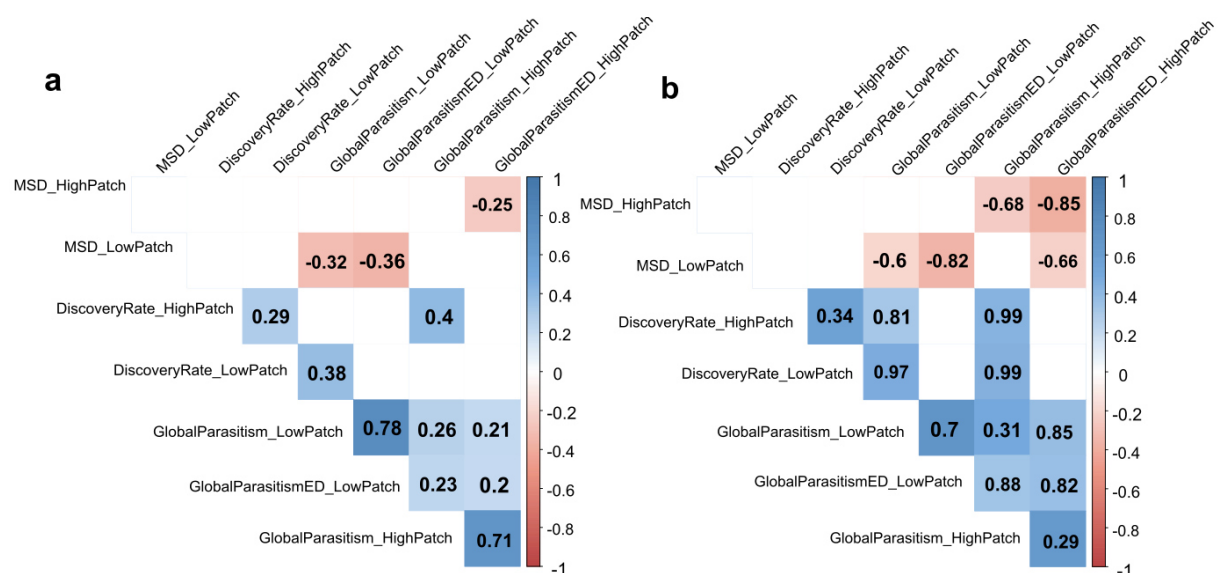
#### *Association of MSD, Global Parasitism Rate and Global Discovery Rate*

For both years, we can first observe that all the different overall parasitism rates are positively and significantly correlated with each other, with correlation coefficients of varying magnitude (Fig.7). The overall parasitism rates and the overall parasitism rates associated with each patch height for the patches discovered are effectively correlated, since one is contained within the other. It is interesting to note that the overall parasitism rates or the ones associated to the discovered patches only are positively correlated with the parasitism rates associated with

the bottom patches. For each of the patch heights, the other correlations are those between discovery rates and parasitism rates, since by definition, a patch is declared discovered when it has been parasitized.

For both years, negative correlations between MSD and parasitism rates appear for both top and bottom patches. In the case of the lower patches, for example, the further the *Trichogramma* individuals go, the less they parasitize the patches. This correlation is more marked in 2022 than in 2021. (Kendall's tau: -0.32 in 2021 versus -0.6 in 2022). In 2022, it would appear that dispersal on the lower part of the plants also has an impact on parasitism of the upper patches, since a negative correlation appears between the MSD of the lower patches and the rate of parasitism of the discovered patches (Kendall's tau: -0.66).

These results confirm the hypotheses we have drawn from the comparison of 2021 and 2022 results: dispersal (MSD) was negatively correlated to parasitism rate, but not to patch discovery rate. On the contrary, MSD was positively associated to patch discovery rate. In contrast, larger dispersal was associated with a lower rate of parasitism of the patches that were discovered. It therefore seems that there is trade-off between discovering more patches (which results in a larger MSD) and parasitizing patches thoroughly.



**Figure 7.** Correlation matrices for the two years, 2021 (a) and 2022 (b), between the different variables previously presented, and distinctly named according to the two patch heights studied. Colours are associated with the value taken by each correlation (dark blue: Kendall's tau equal to 1, dark red: Kendall's tau equal to -1). White cells without coefficients are cells for which the p-values associated with the tests were non-significant ( $p > 0.05$ ). All others correspond to significant correlations ( $p < 0.05$ ).



## Discussion

In the present study, we have shown that certain biotic and abiotic variables can significantly impact dispersal. In our case study, in 2021, temperature was found to have an impact such that an increase in temperature led to a decrease in MSD. In the literature, the activity of *Trichogramma* individuals, and in particular that related to movement, is often positively related to temperature. For example, the distance travelled by *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma minutum* increased significantly with temperature from 20 to 35°C (Boldt, 1974). The same trend is obtained for *Trichogramma minutum* Riley, *T. evanescens* Westwood, *T. semifumatum* (Perkins) (Biever, 1972). However, above certain temperatures, the opposite effect is observed. Indeed, for *Trichogramma sp.* the search rate starts to decrease at temperatures around 40 degrees. In our case, in 2021, the temperatures have not reached such values, but it is possible that our strains are less tolerant to high temperatures. Indeed, *Trichogramma* individuals, as insects, are poikilothermic organisms, i.e. their body temperature is subject to variations directly linked to thermal variations in their environment (Bligh et Johnson, 1973). This characteristic makes temperature one of the climatic variables with the greatest effect on insect biology (Firake et Khan, 2014), affecting in particular for egg parasitoids such as *Trichogramma sp.*, their abundance, distribution, and parasitic capabilities (Bourchier et Smith, 1996). If here, it seems to be shown that too high temperatures, relative to the tolerance of the species and strains studied, can negatively impact dispersal, it should not be forgotten that there are also minimum temperatures below which performance is altered: minimum temperatures were also identified as necessary for the onset of activity and therefore for the start of dispersal: for example, the mean threshold for walking for *Trichogramma turkestanica* is 10°C (Hansen, 2000). Moreover, flight propensity of *Trichogramma minutum* is significantly affected by temperature. At 25°C and 30 °C, between 70-80% of the parasitoids effectively flew, whereas at 15°C, an absence of flights has been observed (Forsse *et al.*, 1992). In both 2021 and 2022, no other abiotic variable significantly impacted the metrics used to qualify the dispersion of our two batches of strains.

Regarding humidity, this is rather consistent with the literature. Indeed, the hygrometric conditions were rather favourable to the activity of *Trichogramma* individuals being on average  $75.3 \pm 5.8\%$  and  $63.5 \pm 8.4 \%$ , respectively in 2021 and 2022. This finding is in line with what is usually observed. Humidity above 50% does not affect the travelling rate of trichogramma females but if under 30%, the walking speed declines (Boldt, 1974). But if the spectrum of

humidity to which trichogramma are tolerant is wide, this is not the same regarding dew. Indeed, it might be of significant influence. For instance, *T.exiguum* avoid walking on wet surfaces (Keller, 1987).

In the course of our study, we also highlighted differences in performance between 2021 and 2022, particularly in terms of overall parasitism rates and MSD. The correlations studied suggest that the lower parasitism rates in 2022 could be due to the fact that strains dispersed further. But correlation is not causation. These differences may have been induced by other factors, such as abiotic factors. The average temperature in 2022 was  $27.5 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$ , while in 2021 it was  $24.9 \pm 0.6^{\circ}\text{C}$ . These few degrees may have stimulated *Trichogramma* individuals' activity, resulting in better dispersal performance, as we saw earlier. Alternatively, these temperatures may have impacted on the freshness of *Ephestia kuehniella* eggs, making them less attractive for laying, resulting in lower average parasitism rates while maintaining similar discovery rates. It has already been shown with *T.cacoeciae* that the freshness of *Ephestia kuehniella* eggs has a direct impact on parasitism rates, so the fresher the eggs, the better the parasitism and emergence rates (Özder, 2004). But these hypotheses we made to explain our results are also limited by the fact that the genetic identity of the 12 strains we have studied may have not been preserved. First of all, it's important to consider that in the space of a year, each of these strains has been bred over almost thirty generations. In *Trichogramma sp.*, this is considered to have consequences for performance in the laboratory and therefore also in the field (Bertin *et al.*, 2018 ; Ghaemmaghami *et al.*, 2021). In addition, contaminations due to another species were identified at the end of 2022 in our rearing system. It is difficult to determine the date of this contamination, although it would appear to have occurred after the greenhouse experimentation period. This rather positive conclusion to the experiments raises questions about the genetic quality of the strains from one year to the next. Preferring to err on the side of caution, we have not considered the year as a factor to be included in the models and have contented ourselves with simple comparisons between years. And so, it is likely that if the genetics of the strains have changed, certain differences could result.

Among the effects we studied, two others related to the canopy impacted the measured metrics. In 2022, plant size was positively related to the measured percentage of overall parasitism. In addition, in 2021, we found an effect of patch position, with *Trichogramma* individuals preferring the lower patches. This could be explained by the fact that the lower part of the pepper plants is quite bare compared to the middle or upper part of the canopy. This variety typically has an erect clump habit (Barrault, 2023). Thus, it would be easier for

Trichogramma females to find the lower patches and thus parasitise them more than those located in bushier parts of the plant. Moreover, the larger the plant size, the larger the less leafy part at the base, which could also explain the positive relationship between the overall parasitism rate and plant height. Some studies have reported the effect of plant architecture on the movement and dispersal of Trichogramma species. For example, *T.nubilale* finds its hosts more easily either in the middle or lower portions of corn plants than when their hosts are located in the top of these plants. This parasitoid might have developed a host-searching pattern adapted to finding its host leading to lower performance when searching in environments that are less common (Burbutis *et al.*, 1977). Similarly, after releasing three different species of Trichograms into the crown of birch trees, it has been observed that *T.evanesceus* parasitize more easily at the lower crown, *T.cacoeciae* seems to prefer intermediate heights, when *T.embryophagum* presents high parasitism rates at the middle and upper crown. Similar results were found for *T.achae* preferring the upper third of plants to parasitize the eggs of their hosts (Chen *et al.*, 2021). The literature doesn't seem to suggest a general tendency for Trichogramma to prefer the top or bottom of plants, at least in the field. This seems to depend not only on the species, but also on the plants themselves. In the laboratory, it may look a little different. In fact, in in vitro tests on six different Trichogramma species, it has been shown that Trichogramma individuals tended to prefer to lay their eggs in areas exposed to light and rather high up, particularly for the strains PJ, ACJY144, PMBIO1 and TCVigne of *T.cacoeciae* (Burte *et al.*, 2022). In our greenhouse experiments, we found a different result for the strains PJ, ACJY144, PMBIO1 and TCVigne. Only the PJ strain actually parasitized more of the top patches. These differences could be explained by the fact that the bell pepper variety used has a bushy growth habit in the middle and a fairly bare growth habit at the base (Barrault, 2023). The middle of the plants, where the top patches were positioned, were therefore shadier and the bottom of the plants brighter.

Often in the literature, an increase in the density of the trichogramma population released in the field leads to better performance: better parasitism rate in particular (Bueno *et al.*, 2012 ; Wright *et al.*, 2001). In our study, the increase of the quantity of Trichogramma released has a negative impact on the Mean Squared Displacement as well as on the global parasitism rate. A possible explanation could be the rearing conditions. Indeed, with an increase in the density of Trichogramma individuals under rearing conditions, the dispersal and reproductive performances were negatively impacted for *T.achae*, *T.chilonis* and *T.euproctidis* (Zboralski *et al.*, 2016).

The main last points we highlighted are negative correlations between the Mean Squared Displacement and global parasitism rates suggesting that the strains that went furthest were sometimes those with a low global parasitism rate. The strains that have gone further have therefore been faster and spent less time exploring their environment and therefore the probability of them finding the egg patches to parasitise decreases. It is important to note that this negative correlation was emphasised for both top and bottom patches, even if the top patches were on average less parasitized than the others, probably because they were more difficult to find as they were located in a denser area to search (Knipling et McGuire, 1968 ; Need et Burbutis, 1979), and therefore perhaps less discovered having thus favoured progression along the row, resulting in higher MSD values. But this hypothesis is not supported by the associations of variables tested with the Kendall tests. If this had been true, we would have seen a negative association between discovery rates and MSD, but this is not the case. Instead, it appears that there are small but positive and significant correlations between discovery rate and global parasitism rates. Therefore, strains may have first discovered lower patches and lay a lot of eggs and then discovered the others and had less eggs to lay. Or they probably spent less time on average on the patches suggesting a trade-off between dispersal and fecundity. This has been highlighted many times in the literature on different insects but also on trichogramma. For example, for the lepidopteran *Cydia pomonella*, a trade-off between activity and fecundity has been demonstrated (Gu *et al.*, 2006). The cost of mobility on fecundity has also been demonstrated in the walking grasshopper *Stenobothrus lineatus* such that the number of eggs laid decreases when the average daily activity increases (Samietz et Köhler, 2012). Finally, in *Trichogramma evanescens*, females with developed exploratory behaviours appeared to be less fertile than others (Lartigue *et al.*, 2022).

Finally, our experiments allowed us to confirm the recognized effects of certain factors such as temperature, canopy, and release density on the dispersal abilities of Trichogramma individuals. But these effects were identified in a punctual way. Intraspecific variability appeared only very weakly. This can be explained in several ways. The strains are not very variable among themselves, due to the time they spent reared in the laboratory, leading to a homogenization of the behavioural traits related to dispersal. In this case, the use of dispersal-related traits as a basis for selection for biocontrol agents is questioned. Indeed, in breeding programs, it is necessary to work with sufficient variability to be able to effectively distinguish between different profiles. Thus, only the most satisfactory ones can be kept (Thomas et Willis, 1998). Or the strains are in fact quite variable among themselves, but these differences are

overwhelmed by the intrastrain variability that is rather marked in our study. This may be due to the low number of replicates per strain, knowing that environmental conditions are variable.

We have shown in these trials that for the same species and different batches of strains, dispersal is little affected by intraspecific variability. Our experiments also allowed us to emphasise the fact that abiotic variables such as temperature could influence the field performance of female *Trichogramma*. In addition, a final point of interest is the preference for certain areas of the plants on which the *Trichogramma* are released. In our study, eggs located at the bottom of the plants were more parasitized than the ones at the top. Finally, our results also suggest a trade-off between parasitism performance and the distances covered by the *Trichogramma* females. Thus, our results offer perspectives to be explored in the implementation of *Trichogramma* releases: where to release them in the field? For which pests, i.e., are the eggs of the pests laid within the plants or in their lower parts? But our results are fragile, especially because of the small number of replicates. Such field experiments need to be tested with more trials. Finally, our results suggest further investigation of trade-offs between dispersal and other life history traits. The most interesting strains for agents such as *Trichogramma* individuals cannot be considered only on their ability to disperse. Indeed, as we have seen, some strains, even if they disperse well, may have lower rates of parasitism, while this is the first need to be met to ensure effective biological control.

### **Data availability statement**

Code and data to do the analysis and obtain the different figures obtained in this paper can be found at <https://forgemia.inra.fr/melina.cointe/greenhouse-trials-with-trichogramma-cacoeciae> with a Gnu general public license. The script has been used with R V 4.0.0 (2020-04-24) -- "Arbor Day".

### **Acknowledgements**

We warmly thank Cécile Bresch, for her advice on managing pepper crops, maintenance strategies and experimental development. Fundings are from INRAE (SPE Department) and Université Côte d'Azur (UCA-JEDI; ANR-15-IDEX-01) which supported M. Cointe's PhD.

### **Authors' contributions**

MC, VC and GP designed the experiments. MC, GP, ML and ML performed the experiments. MC and VC analyzed the data. MC and VC wrote the manuscript with inputs from all authors.

## Conflict of interest disclosure

The authors declare no conflict of interest.

## References

- Asplen, M. K. (2018). Dispersal strategies in terrestrial insects. *Current Opinion in Insect Science*, 27, 16-20. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.01.009>
- Barrault. (2023). Poivron Lamuyo hybride F1. Barrault Horticulture. <https://www.barrault-plantes-jardins.com/potager/1172-poivron-lamuyo-hybride-f1.html>
- Bertin, A., Pavinato, V. A. C. et Parra, J. R. P. (2018). Effects of intraspecific hybridization on the fitness of the egg parasitoid *Trichogramma galloi*. *BioControl*, 63(4), 555-563. <https://doi.org/10.1007/s10526-018-9883-7>
- Biever, K. D. (1972). Effect of Temperatures on the Rate of Search by *Trichogramma* and Its Potential Application in Field Releases 2. *Environmental Entomology*, 1(2), 194-197. <https://doi.org/10.1093/ee/1.2.194>
- Bligh, J. et Johnson, K. G. (1973). Glossary of terms for thermal physiology. *Journal of Applied Physiology*, 35(6), 941-961. <https://doi.org/10.1152/jappl.1973.35.6.941>
- Boldt, P. E. (1974). Temperature, Humidity, and Host: Effect on Rate of Search of *Trichogramma evanescens* and *T. minutum* auctt. (not Riley, 1871)1,3. *Annals of the Entomological Society of America*, 67(4), 706-708. <https://doi.org/10.1093/aesa/67.4.706>
- Bourchier, R. S. et Smith, S. M. (1996). Influence of environmental conditions and parasitoid quality on field performance of *Trichogramma minutum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 80(3), 461-468. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1996.tb00960.x>
- Brooks, M. E., Kristensen, K., Benthem, K. J. van, Magnusson, A., Berg, C. W., Nielsen, A., Skaug, H. J., Mächler, M. et Bolker, B. M. (2017). glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal*, 9(2), 378-400.
- Bueno, R. C. O. de F., Parra, J. R. P. et Bueno, A. de F. (2012). *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for

soybean caterpillars. *Bulletin of Entomological Research*, 102(1), 1-8.  
<https://doi.org/10.1017/S0007485311000289>

Burbutis, P. P., Curl, G. D. et Davis, C. P. (1977). Host Searching Behavior by *Trichogramma nubilale* on Corn 12. *Environmental Entomology*, 6(3), 400-402.  
<https://doi.org/10.1093/ee/6.3.400>

Burte, V., Perez, G., Ayed, F., Groussier, G., Mailleret, L., van Oudenhove, L. et Calcagno, V. (2022). Up and to the light: intra- and interspecific variability of photo- and geo-tactic oviposition preferences in genus *Trichogramma*. *Peer Community Journal*, 2.  
<https://doi.org/10.24072/pcjournal.78>

Carson, R. (1962). *Silent Spring* (40th Anniversary ed. édition). Mariner Books.

Cascone, P., Carpenito, S., Slotsbo, S., Iodice, L., Sørensen, J., Holmstrup, M. et Guerrieri, E. (2015). Improving the efficiency of *Trichogramma achaeae* to control *Tuta absoluta*. *Biocontrol*, 60, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9684-1>

Chen, L., Enkegaard, A. et Sørensen, J. G. (2021). Temperature Affects Biological Control Efficacy: A Microcosm Study of *Trichogramma achaeae*. *Insects*, 12(2), 95.  
<https://doi.org/10.3390/insects12020095>

Corbett, A. et Rosenheim, J. A. (1996). Quantifying Movement of a Minute Parasitoid, *Anagrus epos* (Hymenoptera: Mymaridae), Using Fluorescent Dust Marking and Recapture. *Biological Control*, 6(1), 35-44. <https://doi.org/10.1006/bcon.1996.0005>

Cordell, D., Drangert, J.-O. et White, S. (2009). The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*, 19(2), 292-305.  
<https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>

Corrigan, J. E. et Laing, J. E. (1994). Effects of the Rearing Host Species and the Host Species Attacked on Performance by *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Environmental Entomology*, 23(3), 755-760.  
<https://doi.org/10.1093/ee/23.3.755>



Cronin, J. T. et Reeve, J. D. (2005). Host–parasitoid spatial ecology: a plea for a landscape-level synthesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1578), 2225-2235. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3286>

Croteau, E. (2010). Causes and Consequences of Dispersal in Plants and Animals | Learn Science at Scitable. <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/causes-and-consequences-of-dispersal-in-plants-15927714/>

Dubon, G. (2020). Poivron, aubergine et courgette : une consommation en hausse. Réussir fruits & légumes | FLD. <https://www.reussir.fr/fruits-legumes/la-ratatouille-passe-a-la-table>

Firake, D. M. et Khan, M. A. (2014). Alternating temperatures affect the performance of *Trichogramma* species. *Journal of Insect Science*, 14. <https://doi.org/10.1093/jis/14.1.41>

Forsse, E., Smith, S. M. et Bouchier, R. S. (1992). Flight initiation in the egg parasitoid *Trichogramma minutum*: Effects of ambient temperature, mates, food, and host eggs. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 62(2), 147-154. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1992.tb00654.x>

Fox, J. et Weisberg, S. (2019). *An R Companion to Applied Regression*, Third edition. Sage, Thousand Oaks CA. <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>.

Garipey, V., Boivin, G. et Brodeur, J. (2015). Why two species of parasitoids showed promise in the laboratory but failed to control the soybean aphid under field conditions. *Biological Control*, 80, 1-7.

Gayrard, M. (2020). Quelles solutions alternatives pour les ravageurs émergents ? 2. Le cas de *Tuta absoluta* | Ecophytopic. Ecophytopic. <https://ecophytopic.fr/prevenir/quelles-solutions-alternatives-pour-les-ravageurs-emergents-2-le-cas-de-tuta-absoluta>

Ghaemmaghani, E., Fathipour, Y., Bagheri, A., Talebi, A. A. et Reddy, G. V. P. (2021). Continuous rearing on *Ephestia kuehniella* reshaped quality of the parasitoid wasp *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 24(2), 166-174. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2021.02.013>



Gu, H., Hughes, J. et Dorn, S. (2006). Trade-off between mobility and fitness in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Ecological Entomology*, 31(1), 68-74. <https://doi.org/10.1111/j.0307-6946.2006.00761.x>

Hansen, L. S. (2000). Development time and activity threshold of *Trichogramma turkestanica* on *Ephestia kuehniella* in relation to temperature. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96(2), 185-188. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2000.00694.x>

Hartig, F. (2022). DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. R package version 0.4.6. <https://CRAN.R-project.org/package=DHARM>.

Hawltzky, N. (1982). La lutte biologique à l'aide de Trichogrammes, (16).

Hegazi, E., Khafagi, W., Herz, A., Konstantopoulou, M., Hassan, S., Agamy, E., Atwa, A. et Shweil, S. (2012). Dispersal and field progeny production of *Trichogramma* species released in an olive orchard in Egypt. *BioControl*, 57(4), 481-492. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9420-4>

Ivezić, A., Rugman-Jones, P., Malausa, T., Ris, N. et Ignjatović-Ćupina, A. (2021). Molecular identification of *Trichogramma* species parasitizing *Ostrinia nubilalis* in corn and pepper in south-east border of Europe. *International Journal of Pest Management*, 67(4), 346-357. <https://doi.org/10.1080/09670874.2020.1779383>

Keller, M. A. (1987). Influence of leaf surfaces on movements by the hymenopterous parasitoid *Trichogramma exiguum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 43(1), 55-59. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1987.tb02202.x>

Knipling, E. F. et McGuire, J. U. (1968). Population Models to Appraise the Limitations and Potentialities of *Trichogramma* in Managing Host Insect Populations. Agricultural Research Service.

Knutson, A. The *Trichogramma* manual. 1998.

Kultive. (2020). Les poivrons Kultive, produits en France et cultivés dans le Loiret -. Kultive.fr. <https://www.kultive.fr/poivron-production-origine-france-loiret/>

Lartigue, S., Yalaoui, M., Belliard, J., Caravel, C., Jeandroz, L., Groussier, G., Calcagno, V., Louâpre, P., Dechaume-Moncharmont, F.-X., Malausa, T. et Moreau, J. (2022). Consistent

variations in personality traits and their potential for genetic improvement in biocontrol agents: *Trichogramma evanescens* as a case study. *Evolutionary Applications*, 15(10), 1565-1579. <https://doi.org/10.1111/eva.13329>

Legner, E. (2008). *Biological pest control: a history* (Pimentel D). Taylor and Francis. <https://faculty.ucr.edu/~legner/eflpub/269b.htm>

Lenth, R. V., Buerkner, P., Giné-Vázquez, I., Herve, M., Jung, M., Love, J., Miguez, F., Riebl, H. et Singmann, H. (2023, 17 janvier). emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means (version 1.8.4-1). <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>

Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Souchère, V., Alberola, C. et Ménassieu, J. (2009). *Agronomy for Sustainable Agriculture: A Review*. Dans E. Lichtfouse, M. Navarrete, P. Debaeke, S. Véronique et C. Alberola (dir.), *Sustainable Agriculture* (p. 1-7). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8\\_1](https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_1)

Losey, J. E. et Calvin, D. D. (1995). Quality Assessment of Four Commercially Available Species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Economic Entomology*, 88(5), 1243-1250. <https://doi.org/10.1093/jee/88.5.1243>

Lundgren, J. G. et Heimpel, G. E. (2003). Quality assessment of three species of commercially produced *Trichogramma* and the first report of thelytoky in commercially produced *Trichogramma*. *Biological Control*, 26(1), 68-73. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00117-2](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00117-2)

Malézieux, E., Beillouin, D. et Makowski, D. (2022). Mieux nourrir la planète : diversifier les cultures pour construire des systèmes alimentaires durables. *Perspective*, 58, 1. <https://doi.org/10.19182/perspective/36931>

Murdoch, W., Chesson, J. et Chesson, P. (1985). *Biological Control in Theory and Practice*. *The American Naturalist*, 125, 344-366. <https://doi.org/10.1086/284347>

Naïbo, B. et Druésne, C. (2008). Pour limiter les usages des produits phytosanitaires, tout en protégeant efficacement les cultures, des méthodes de lutte alternatives existent. C'est le cas du trichogramme, un petit hyménoptère qui détruit les populations de pyrale dans les champs de maïs. Une méthode qui a fait ses preuves à grande échelle., 3.

- Need, J. T. et Burbutis, P. P. (1979). Searching Efficiency of *Trichogramma nubilale*. *Environmental Entomology*, 8(2), 224-227. <https://doi.org/10.1093/ee/8.2.224>
- Oerke, E.-C. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43. <https://doi.org/10.1017/S0021859605005708>
- Oliveira, R. C. M., Pastori, P., Barbosa, M. G., Pereira, F. F., Melo, J. F. B. et André, T. P. P. (2020). Dispersal of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in cabbage, cucumber, and sweet corn. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020190412>
- Özder, N. (2004). Effect of different cold storage periods on parasitization performance of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) on eggs of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae). *Biocontrol Science and Technology*, 14(5), 441-447. <https://doi.org/10.1080/09583150410001683529>
- Pak, G. A. (2003). Inundative Release of *Trichogramma* for the Control of Cruciferous Lepidoptera: Preintroductory Selection of an Effective Parasitoid, 12.
- Pielou, E. C. (1981). *Crosscurrents in Biogeography: Vicariance Biogeography. A Critique. Papers from a symposium, May 1979.* Gareth Nelson and Donn E. Rosen, Eds. Columbia University Press, New York, 1981. xviii, 594 pp., illus. \$35. Science, world. <https://doi.org/10.1126/science.213.4505.324>
- R Core Team. (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing.* R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Ronce, O. (2007). How Does It Feel to Be Like a Rolling Stone? Ten Questions About Dispersal Evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 38(1), 231-253. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095611>
- Samietz, J. et Köhler, G. (2012). A fecundity cost of (walking) mobility in an insect. *Ecology and Evolution*, 2(11), 2788-2793. <https://doi.org/10.1002/ece3.396>
- Sharma, S. et Aggarwal, N. (2015). Dispersal ability and parasitisation performance of *Trichogramma* spp (Hymenoptera:Trichogrammatidae) in organic Basmati rice. *Journal of Environmental Biology*, 36(6), 1345-1348.

Smith, S. M. (1996). Biological control with *Trichogramma*: advances, successes, and potential of their use. *Annual Review of Entomology*, 41, 375-406. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.002111>

Souza, A., Giustolin, T., Querino, R. et Alvarenga, C. (2016). Natural Parasitism of Lepidopteran Eggs by *Trichogramma* Species (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Agricultural Crops in Minas Gerais, Brazil. *Florida Entomologist*, 99, 221-225. <https://doi.org/10.1653/024.099.0210>

Storey, J. D. (2010). Princeton University, Princeton, USA.

Thomas, M. B. et Willis, A. J. (1998). Biocontrol—risky but necessary? *Trends in Ecology & Evolution*, 13(8), 325-329. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01417-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01417-7)

Van Driesche, R., Hoddle, M. et Center, T. (2008). *Control of Pests and Weeds by Natural Enemies: an introduction to biological control*. Blackwell Publishing.

Vandermeer, J. (1995). The Ecological Basis of Alternative Agriculture. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 26(1), 201-224. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.26.110195.001221>

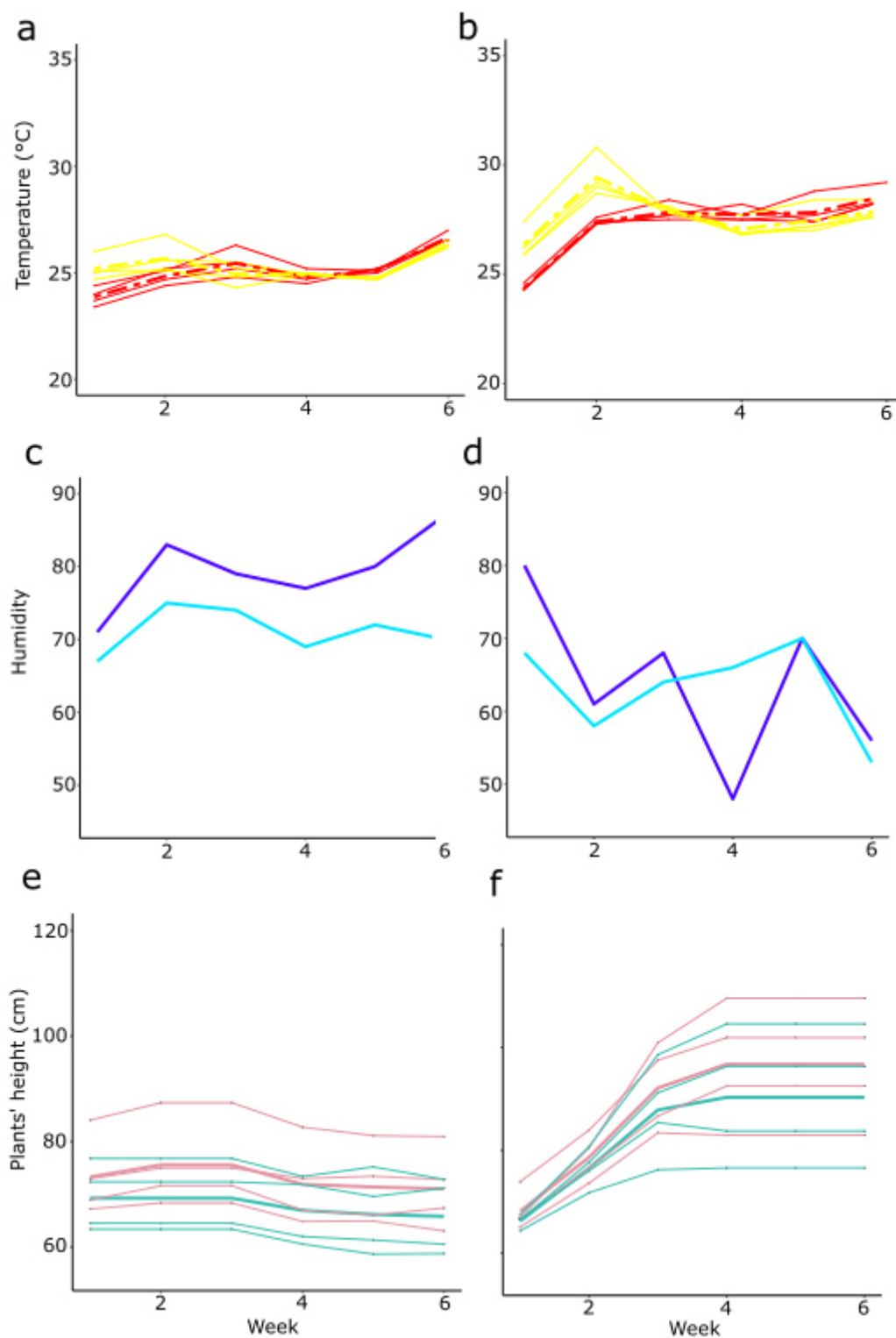
van Lenteren, J. (1986). Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. *Biological Plant and Health Protection. Series on Progress in Zoology*, 32, 31-56.

van Lenteren, J. C. et Woets, J. (1988). Biological and Integrated Pest Control in Greenhouses. *Annual Review of Entomology*, 33(1), 239-269. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.33.010188.001323>

Wright, M., Hoffmann, M. P., Chensus, S. A. et Gardner, J. (2001). Dispersal Behavior of *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Sweet Corn Fields: Implications for Augmentative Releases against *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). <https://doi.org/10.1006/BCON.2001.0948>

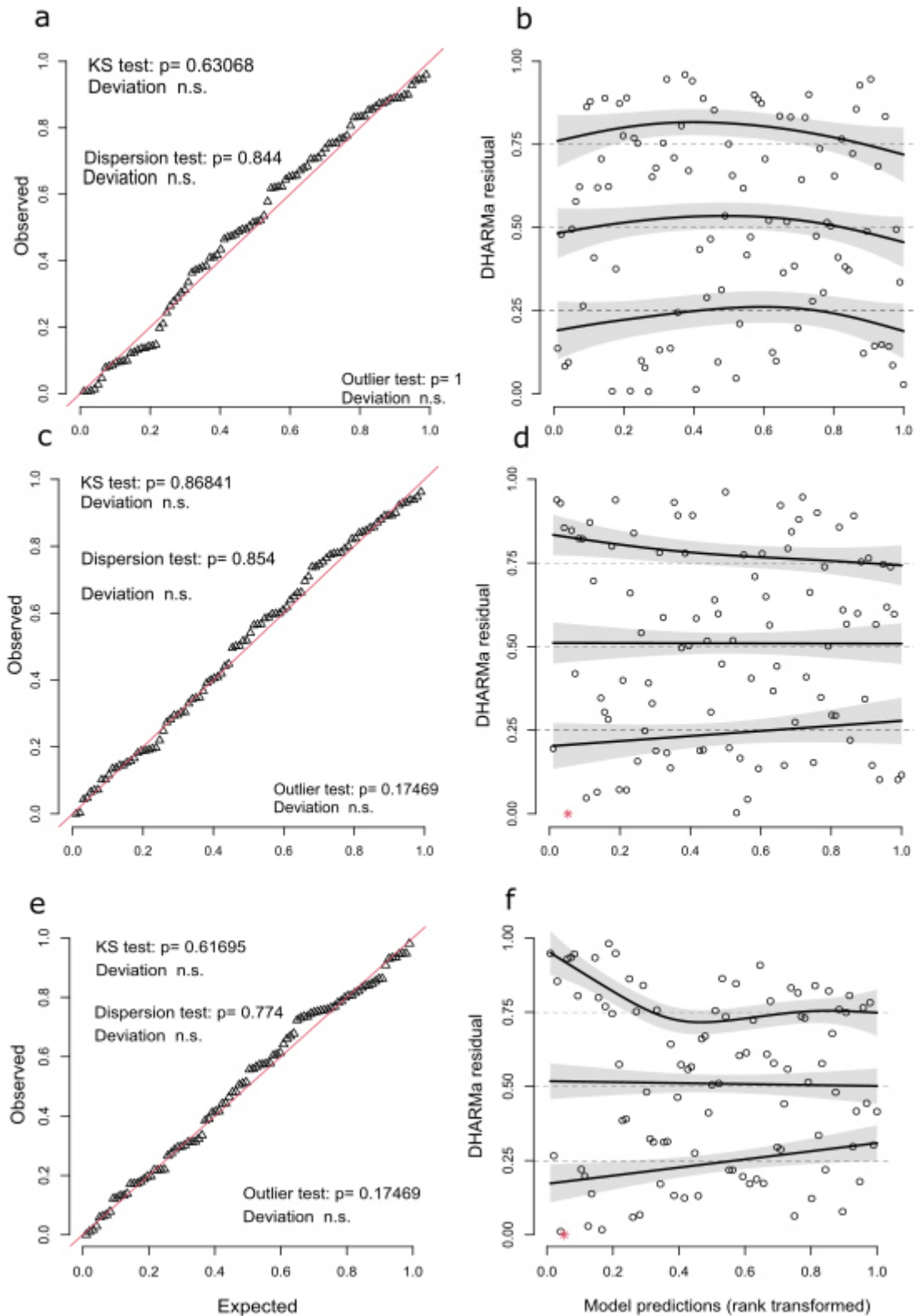
Zboralski, A., Vilarelle, M., Colombel, E., Tabone, E. et Vercken, E. (2016). Density-dependent dispersal in biological control agents: a reflexion on the side-effects of mass-rearing conditions. *BioControl*, 61(1), 13-22.

## Supplementary materials

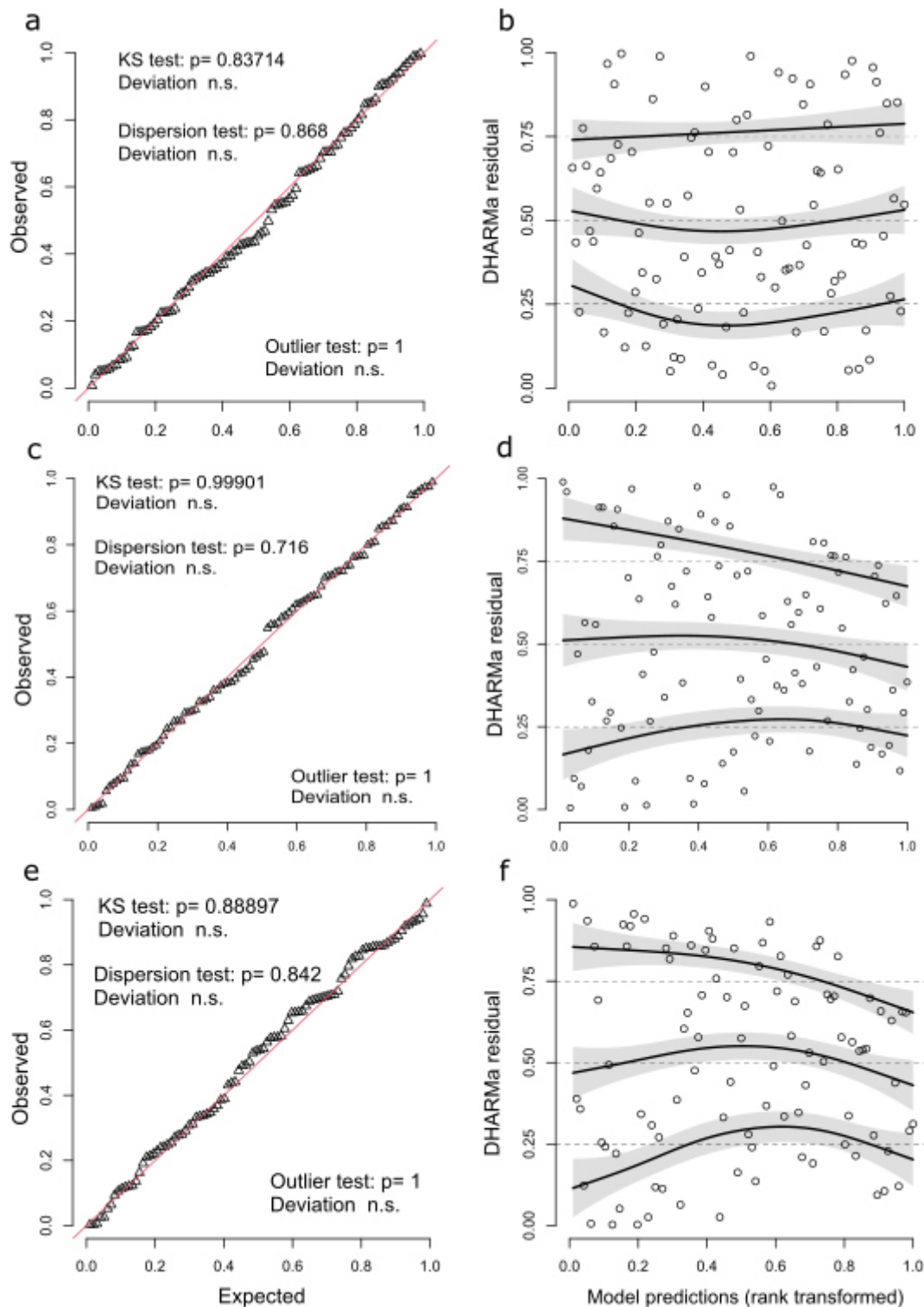


**Figure S1.** Summary graphs of biotic and abiotic conditions during the greenhouse experiments in 2021 and 2022. Graphs a (2021) and b (2022) represent the temperatures at the time of release over the experimental period. In red, solid lines, the temperatures measured in the different rows of compartment 2. In red, dashed line, the average temperature of compartment 2. In yellow, solid lines, the temperatures measured in the different rows of compartment 5. In yellow, dashed line, the average temperature of compartment 5. Then, graphs c (2021) and d (2022) represent

the evolution of the hygrometry in each of the compartments during the experimentation period. In dark blue, the hygrometry for compartment 2. In light blue, the hygrometry for compartment 5. Finally, the last two graphs, e (2021) and f (2022) represent the evolution of the size of the plants during the experimental period. In pink, the data from the plants in compartment 2. In green, the data from the plants in compartment 5. The thicker lines represent the values averaged over the different rows.

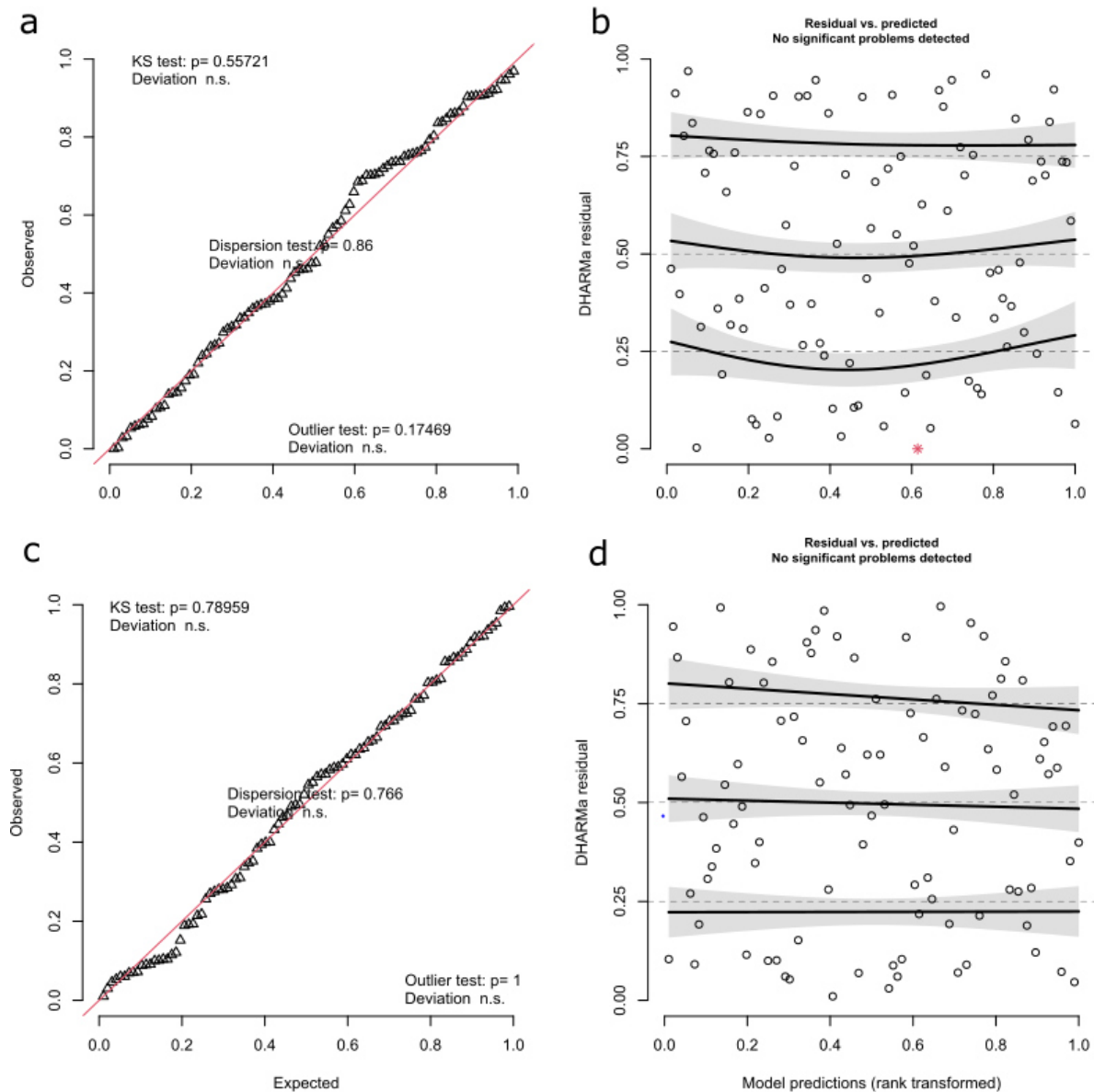


**Figure S2.** The graphs above represent the results of the goodness-of-fit check obtained with the *simulateResiduals* function of the Darma package, on the 2021 data. Graphs a, c and d represent the QQ plot, respectively for the Mean Squared Displacement model, the global parasitism rate model and the global discovery rate model. Graphs b, d and f represent the residuals against the predicted value, respectively for the Mean Squared Displacement model, the global parasitism rate model and the global discovery rate model.



**Figure S3.** The graphs above represent the results of the goodness-of-fit check obtained with the *simulateResiduals* function of the Darma package, on the 2022 data. Graphs a, c and d represent the QQ plot, respectively for the Mean Squared Displacement model, the global parasitism rate model, and the global discovery rate model. Graphs b, d and f represent the residuals against the predicted value, respectively for the Mean Squared Displacement model, the global parasitism rate model, and the global discovery rate model.





**Figure S4.** The graphs above represent the results of the goodness-of-fit check obtained with the *simulateResiduals* function of the Darma package, on the 2021 data (a) and (b) and 2022 data (c) and (d) for the models on the global parasitism for discovered patches only. Graphs a and c represent the QQ plot. Graphs b and d, represent the residuals against the predicted value, respectively.

<b>Explanatory Variables</b>	<b>P-value 2021</b>	<b>P-value 2022</b>
<b>Mean Squared Displacement</b>		
Strain	0.52	<b>3.55e-03</b>
Patch	0.12	0.3
Strain:Patch	0.73	0.18
Mean temperature	<b>2.14e-03</b>	0.4
Mean hygrometry	0.84	0.48
Mean Height of plant	0.22	9.40E-02
Trichos Introduced	<b>4.30e-03</b>	0.2
<b>Global parasitism</b>		
Strain	7.80E-02	<b>5,57e-03</b>
Patch	<b>4.92e-03</b>	0.62
Strain:Patch	<b>2.20e-02</b>	0.11
Mean temperature	0.51	0.27
Mean hygrometry	0.66	0.12
Mean Height of plant	0.89	<b>7.70e-03</b>
Trichos Introduced	<b>1.29e-02</b>	0.4
<b>Global discovery rate</b>		
Strain	0.64	<b>1.84e-2</b>
Patch	0.47	0.18
Strain:Patch	0.17	<b>3.25e-2</b>
Mean temperature	0.71	0.32
Mean hygrometry	0.52	0.13
Mean Height of plant	0.50	0.27
Trichos Introduced	0.11	0.48
<b>Global parasitism for discovered patch</b>		
Strain	<b>1.9e-2</b>	<b>9.9e-3</b>
Patch	<b>1.3e-4</b>	0.99
Strain:Patch	<b>2.2e-3</b>	0.11
Mean temperature	0.58	0.81
Mean hygrometry	0.42	0.57
Mean Height of plant	0.88	<b>4.1e-3</b>
Trichos Introduced	<b>3.9e-2</b>	0.48

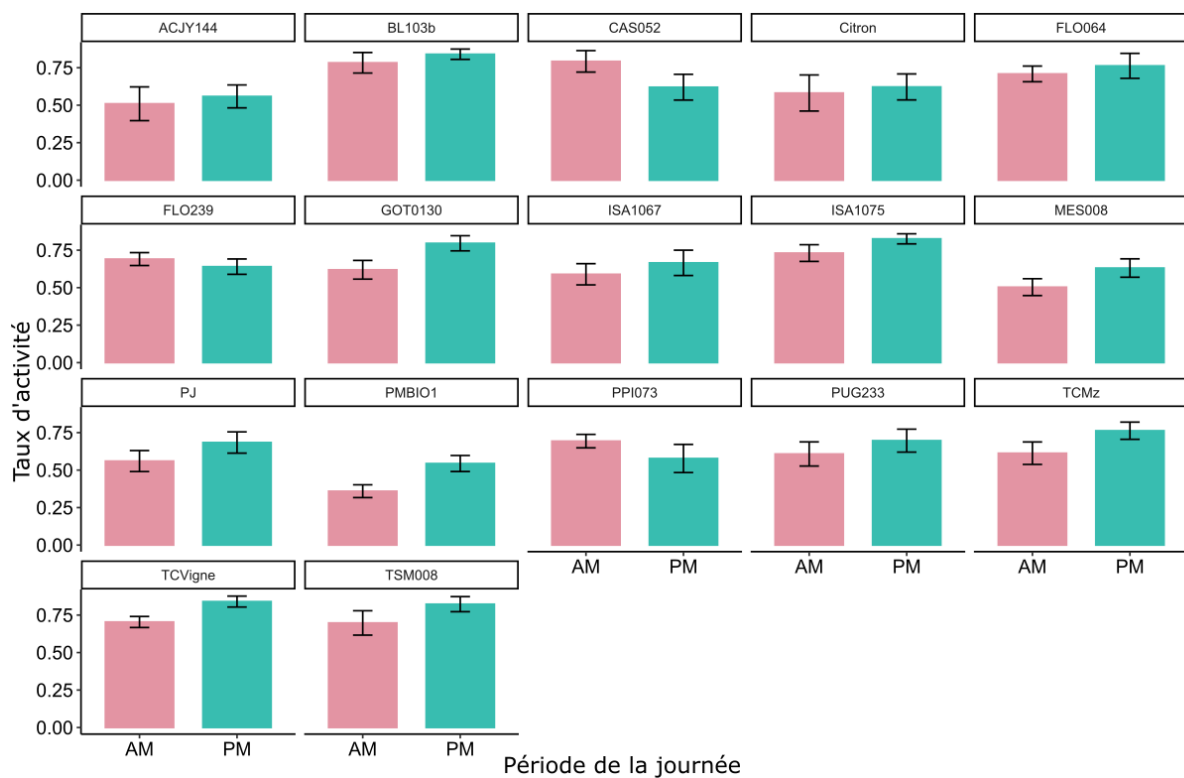
**Table S1.** Results of the p-values associated with the different variables used in the models applied to the different studied variables. Values in bold correspond to p-values lower than 0.05 and therefore significant.

## Annexes du chapitre III

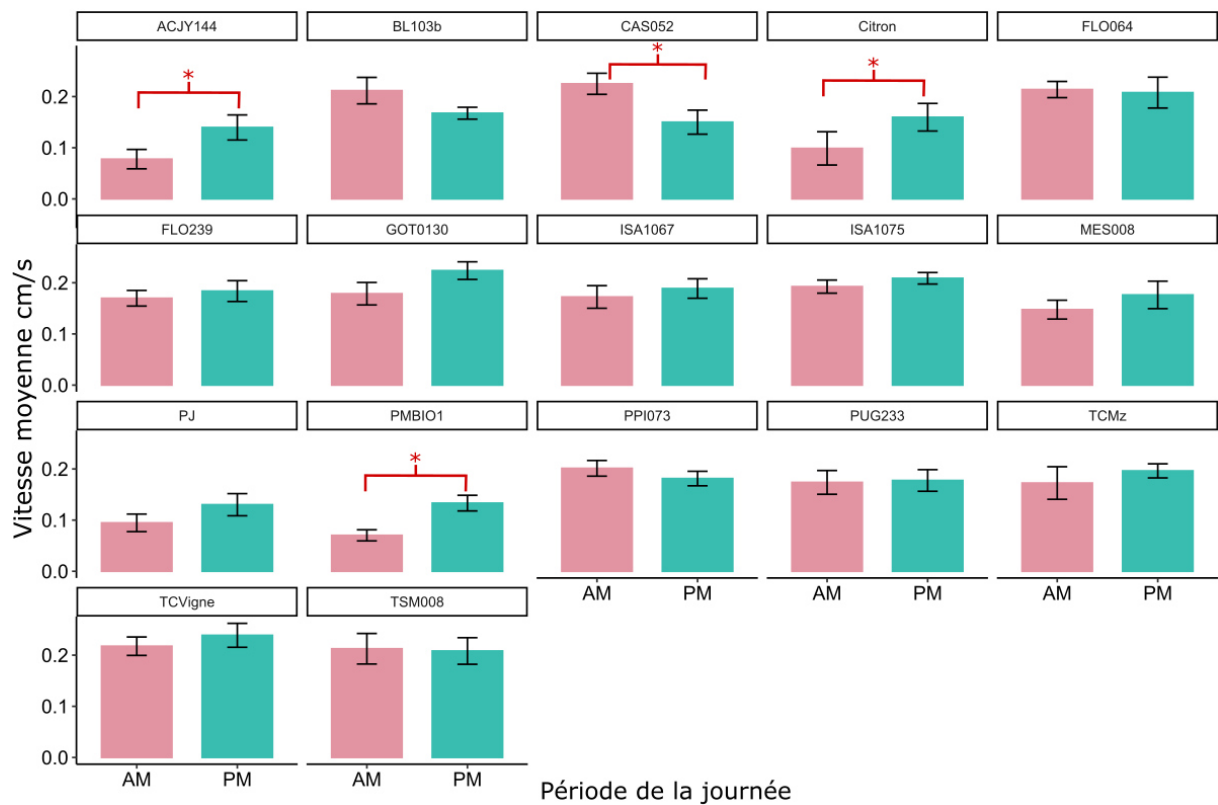
### Ensemble des figures des résultats des petites arènes associés aux analyses menées sur les expérimentations de 2022

<i>Explanatory Variables</i>	<i>Speed</i>	<i>Activity Rate</i>	<i>Sinuosity</i>
<i>Strain</i>	<b>3.87E-14</b>	<b>1.06E-4</b>	<b>1.73E-05</b>
<i>Time</i>	<b>3.04E-2</b>	0.64	0.77
<i>Time:Strain</i>	<b>4.13E-2</b>	0.32	0.20
<i>Nb_Individuals</i>	0.84	0.45	0.33

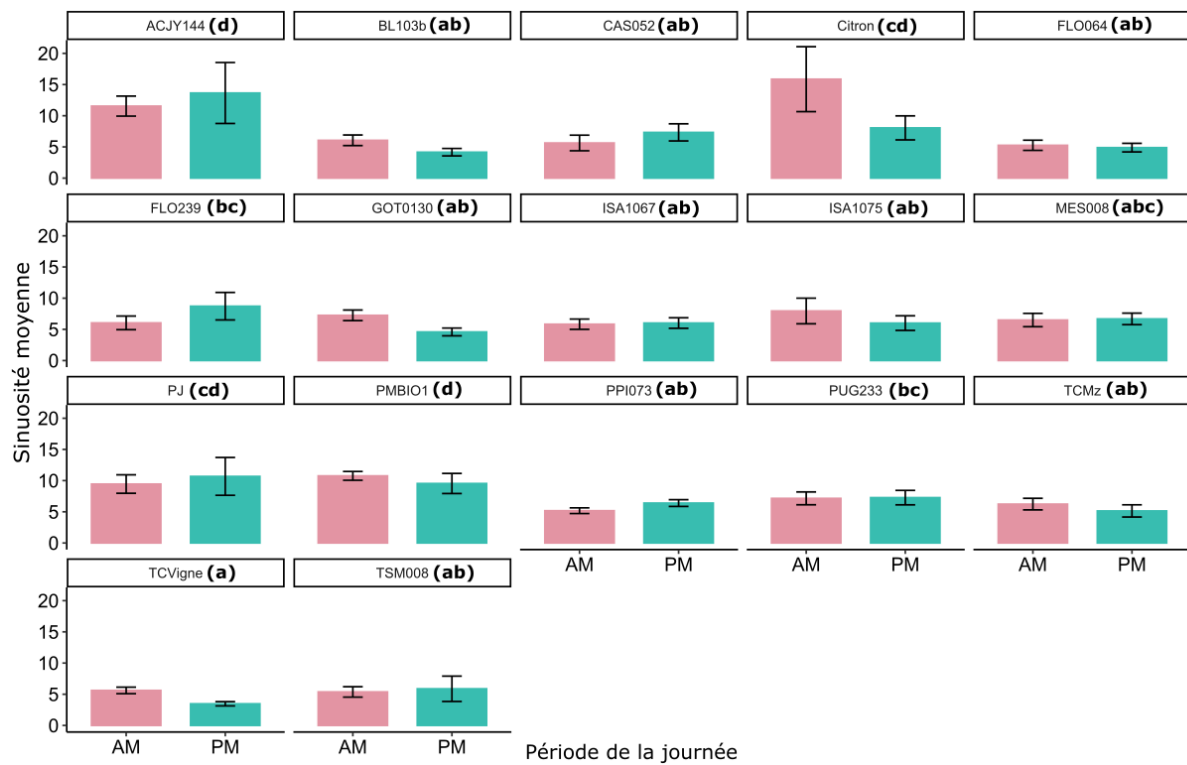
**Table S1.** Résultats des valeurs p associées aux différentes variables utilisées dans les modèles appliqués à la vitesse, au taux d'activité et à la sinuosité. Les valeurs en gras correspondent à des valeurs p inférieures à 0,05 et donc significatives.



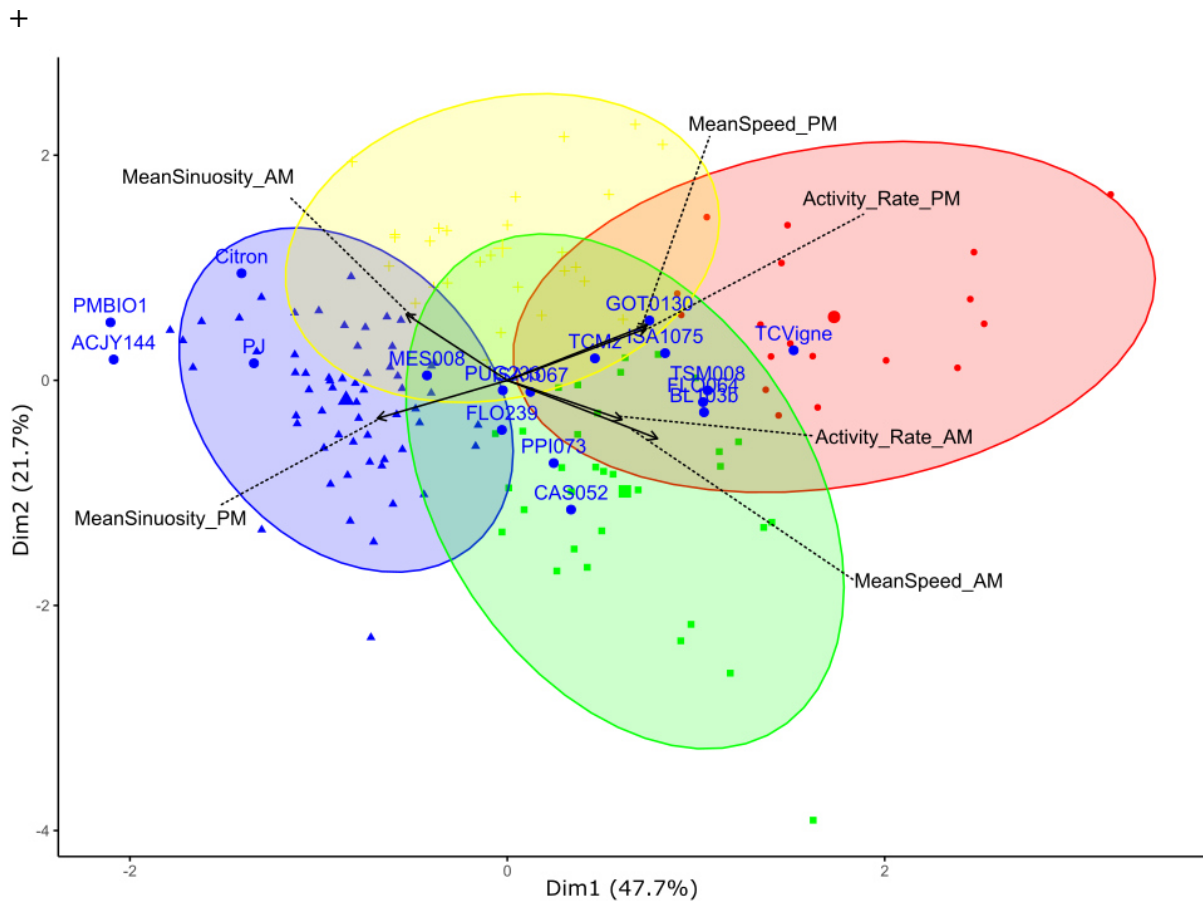
**Figure S1.** Figure montrant le taux d'activité pour chaque souche et chaque moment de la journée (AM, PM). En rose, les taux d'activité mesurés le matin. En vert, les taux d'activité mesurés l'après-midi.



**Figure S2.** Figure montrant la vitesse moyenne pour chaque souche et chaque moment de la journée. En rose, la vitesse moyenne mesurée le matin. En vert, la vitesse moyenne mesurée l'après-midi. Les étoiles rouges correspondent au test posthoc réalisé avec la fonction *emmeans* et indiquent que pour les souches ACJY144, CAS052, Citron et PMBIO1, les différences de vitesses moyennes en fonction de la période de la journée sont significatives ( $p < 0,05$ ).



**Figure S3.** Figure montrant la sinuosité pour chaque souche et chaque moment de la journée. En rose, la sinuosité mesurée le matin. En vert, la sinuosité mesurée l'après-midi. Les lettres en gras et entre parenthèses à côté des noms de chaque souche correspondent au test posthoc réalisé avec la fonction *emmeans* et indiquent les différences significatives entre les souches ( $p < 0,05$ ).

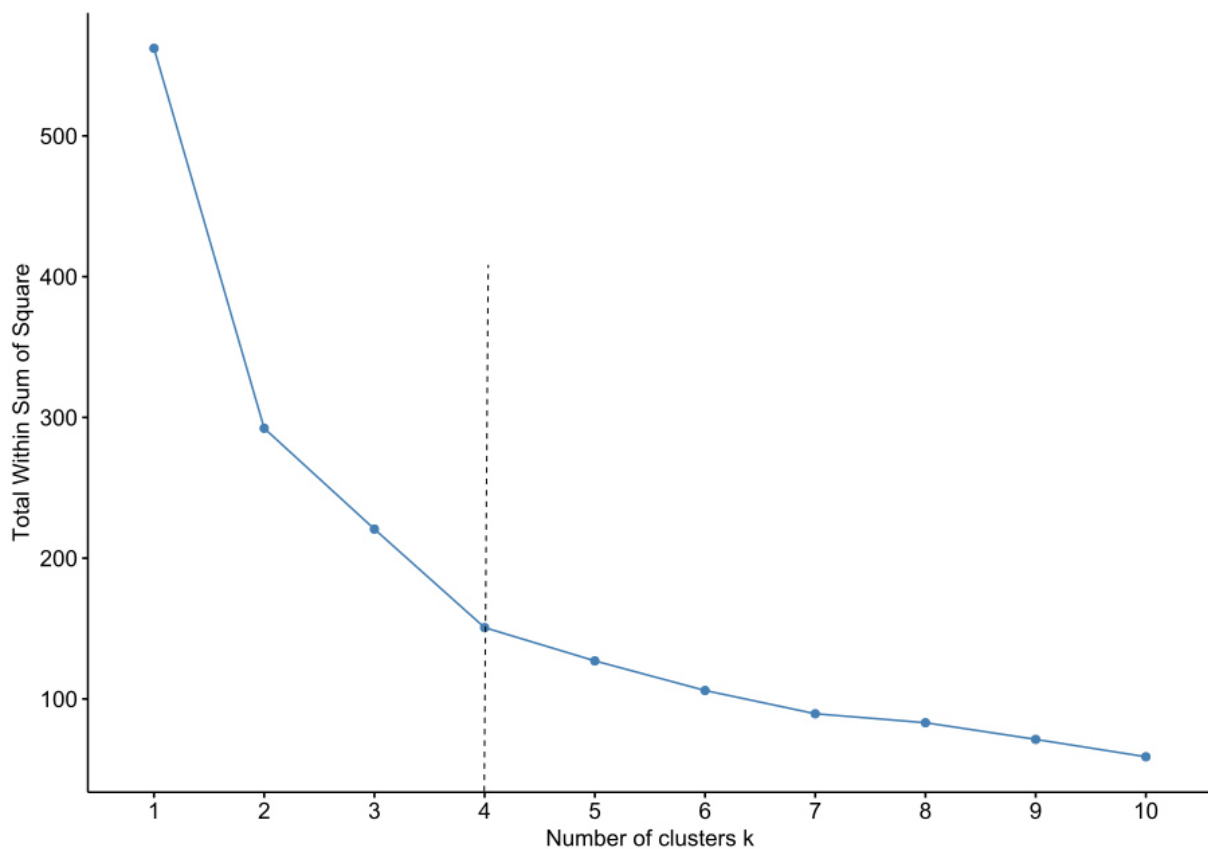


**Figure S4.** Analyse en Composantes Principales. Le taux d'activité, la vitesse et la sinuosité sont représentés en fonction des différentes périodes de la journée, ce qui conduit à six variables. Les points correspondent à l'ensemble des individus colorés en fonction du groupe auquel ils appartiennent, selon la méthode de regroupement k-means appliquée aux données. Les points bleus au-dessus desquels figurent les noms des différentes souches étudiées correspondent au barycentre des différentes souches.

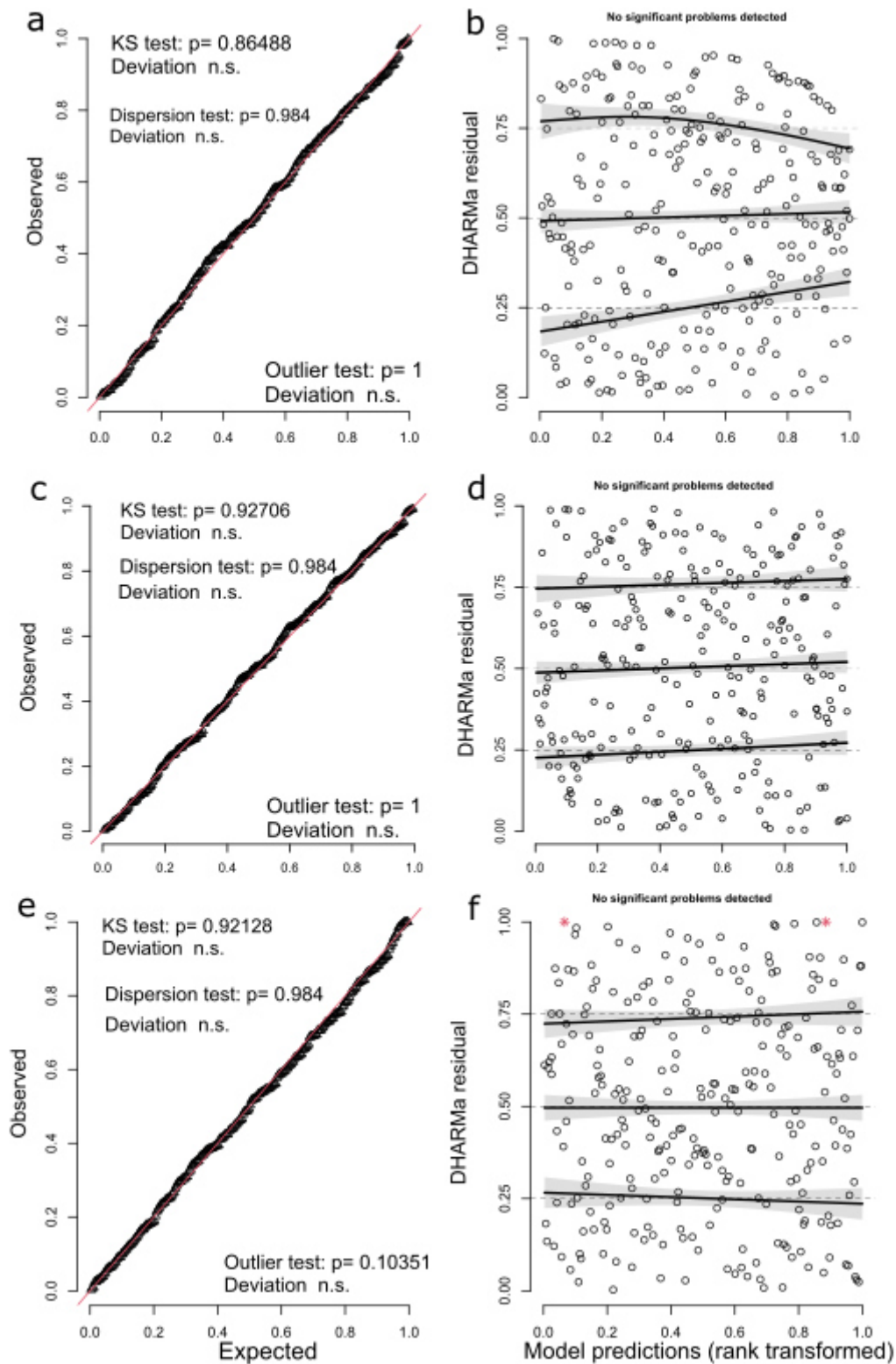
### Résultats de l'analyse multivariée de variance

```
> model <- lm(cbind(MeanSpeed, MeanSinuosity, Activity_Rate_2) ~ Strain*Time, FilyMini)
> Manova(model, test.statistic = "Wilks")

Type II MANOVA Tests: Wilks test statistic
      Df test stat approx F num Df den Df Pr(>F)
Strain  16  0.58029  2.9396  48 702.72 7.141e-10 ***
Time    1  0.96652  2.7254   3 236.00 0.04489 *
Strain:Time 16 0.77933  1.2801  48 702.72 0.10151
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```



**Figure S5.** Graphique associé à la méthode du coude. En ordonnée, la somme totale des carrés (WSS) qui mesure la variabilité des observations au sein de chaque groupe (Hartigan et Wong, 1979). L'objectif est de la minimiser avec un nombre réduit de groupes. Ce point est identifié comme le point d'inflexion de la courbe, c'est-à-dire le coude. Il est identifié avec la ligne en pointillés gris.



**Figure S6.** Les graphiques ci-dessus représentent les résultats de la vérification de l'adéquation obtenue avec la fonction *simulateResiduals* du progiciel DHARMA (Hartig 2022). Les graphiques a, c et e représentent le tracé QQ, respectivement pour les modèles de taux d'activité, de vitesse et de sinuosité. Les graphiques b, d et f représentent les résidus par rapport à la valeur prédite, respectivement pour le taux d'activité, la vitesse et les modèles de sinuosité.





**[Le temps d'un sonnet]**

***Faire du lien***

*Maintenant l'heure est à l'interrogation  
Nous avons embrassé de plusieurs façons  
La dispersion des guêpes, belle leçon  
Mais n'oublions-nous pas là une mention ?*

*Le lien entre échelles pour finition  
Il semblerait fort utile alors commençons  
De la petite à la moyenne que dit-on ?  
De la moyenne aux serres, la bonne option ?*

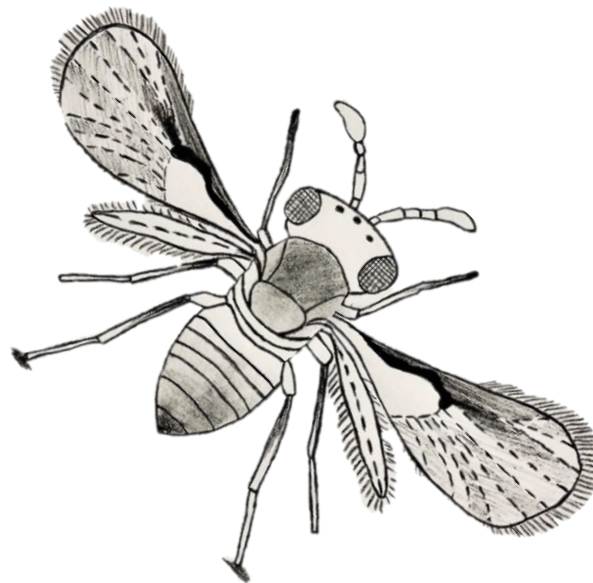
*Les diverses métriques font-elles un ménage ?  
Peut-on en tirer le meilleur des avantages ?  
Trouvons des réponses en les associant*

*Ainsi les interrogations prendront fin  
La lumière sera faite sur l'important  
N'attendons plus, avec hâte, avançons plus loin.*



**Chapitre IV :**

**Choix des variables à transférer et  
réalisation du transfert d'échelle**





Les chapitres précédents nous ont permis :

(1) D'aborder la caractérisation de traits d'histoire de vie tels que la longévité et la fécondité, usuellement utilisés pour la sélection des trichogrammes dans la mise en place de programmes de lutte biologique. Nous avons ainsi pu obtenir une première image des 17 souches que j'ai étudiées et notamment de la diversité qu'elles peuvent présenter.

(2) De traverser les espaces et les temps, à la découverte de différents proxys de la dispersion, allant de la petite échelle au laboratoire, aux lâchers sous serres, en passant par les expérimentations dans l'arène en double spirale. L'étude de ces différentes échelles me permet de croiser certains chemins, plus ou moins déjà tracés par la littérature existante. En effet, (i) les proxys de la dispersion en laboratoire tels que la vitesse, le taux d'activité ou encore la sinuosité du mouvement ont été étudiés à l'aide de différents dispositifs chez les trichogrammes (Gingras *et al.*, 2008 ; Lartigue *et al.*, 2020 ; Suverkropp *et al.*, 2001 ; van Lenteren *et al.*, 2018) mais aussi d'autres organismes comme les souris (Geuther *et al.*, 2019) les abeilles (Kimura *et al.*, 2014) ou encore les cafards (Talley *et al.*, 2023) (ii) La dispersion dans une arène en double spirale est quant à elle unique en son genre. Il est néanmoins possible de trouver une référence dans laquelle une équipe a caractérisé dans une arène en zigzag la dispersion des trichogrammes sur plusieurs mètres (Honda *et al.*, 1999), sans toutefois utiliser un équipement d'imagerie (photos ou vidéos), suivi d'un tracking automatique. (iii) enfin la troisième échelle, les lâchers sous serres, représente l'approche qu'il est justifié de qualifier de « classique » (Wright *et al.* 2001b; Sithanatham 2013; Andow, Lane, Olson 1995). En effet, par leur petite taille et parce qu'il est évidemment nécessaire d'avoir une idée des capacités de dispersion des trichogrammes à échelles "réelles", ces derniers sont souvent lâchés sur le terrain et leur dispersion est caractérisée de façon indirecte comme nous l'avons fait, par la lecture de l'état parasité ou non d'œufs sentinelles disposés à des distances connues.

Ainsi, nous avons, avec une originalité plus ou moins marquée, caractérisé la dispersion des trichogrammes à différentes échelles. Mais là n'est pas le point le plus novateur de ma thèse et qui fait son originalité dans le domaine de la lutte biologique. C'est en fait le chapitre qui commence ici et dans lequel je vous propose d'évaluer l'existence d'un lien entre ces différentes échelles. Ce transfert est très rarement effectué dans la littérature. Une référence aborde cette question d'une façon très proche à celle qui est présentée ici (Bigler *et al.*, 1988), mais c'est bien l'unique chez les trichogrammes. D'autres portent souvent les études sur un seul et unique espace-temps. Et quand d'autres confrontent éventuellement plusieurs échelles entre elles, cela reste effectué sous la forme de discussions (Junce *et al.*, 2018). En ce qui concerne d'autres

études sur d'autres insectes, il demeure très difficile d'en trouver. Seule une étude proposant une confrontation de la dispersion mesurée au laboratoire avec celle mesurée sur le terrain a été faite sur *Cydia pomonella*, le carpocapse des pommes et des poires. Dans cette étude, une corrélation positive entre la mobilité au laboratoire et celle mesurée sur le terrain a été trouvée (Keil, Gu, Dorn 2001).

## I- Détermination de la variable à transférer pour l'étude du mouvement des trichogrammes à petite échelle

### I.1 Méthode

Les expériences menées dans les petites arènes, nous ont permis de déterminer trois métriques différentes : le taux d'activité, la vitesse et la sinuosité du mouvement des trichogrammes. Il serait possible d'envisager un transfert en confrontant chacune de ces variables aux variables choisies pour les deux autres échelles. Or, il nous a semblé judicieux de construire une variable agrégée, rendant compte des trois métriques précédentes. En effet, il m'a paru biologiquement plus juste que le proxy de la dispersion obtenu à petite échelle soit le reflet des trois variables précédemment mentionnées puisqu'une question sur l'une des variables aspirent à d'autres. Par exemple, les trichogrammes sont-ils très actifs ? Et s'ils le sont ? Le sont-ils en étant rapides ou lents ? Et s'ils sont rapides ou lents, le sont-ils en ayant des trajectoires sinueuses ou plutôt rectilignes ? L'agrégation de ces trois variables permet ainsi de rendre compte de ce paysage d'interactions entre les différents proxys. Pour ce faire, j'ai donc réalisé sur les données 2021 d'une part et sur les données 2022 d'autre part, une analyse en composante principale en projetant l'ensemble des points de mesure obtenus pour chaque souche ; cela sans distinction des modalités expérimentales i.e. Matin/Après-midi et 24 et 28°C pour 2021 et seulement Matin/Après-midi pour 2022. Cette non-distinction des variables projetées en fonction des modalités a été motivée par le fait que ces modalités seront absentes dans les deux autres échelles. Il me semble ainsi que cela constitue une base plus homogène pour transférer les échelles entre elles. L'analyse en composante principale a été réalisée avec la fonction *PCA* du package *FactoMineR* (Le *et al.*, 2008) V 2.4, avec pour variables actives le taux d'activité, la vitesse et la sinuosité du mouvement, normalisées. Afin de déterminer si la première dimension résume suffisamment d'information pour construire une variable agrégée à partir de la combinaison linéaire des métriques projetées et de leur coordonnées, j'ai consulté les valeurs propres associées à chaque dimension. Les variables étant normalisées, j'ai appliqué la règle de Kaiser (Errabi et Hamadi, 2023) : lorsque la valeur propre d'une composante est

supérieure 1 dans le cas d'une ACP normalisée, alors la composante concernée représente plus de variabilité par rapport à une seule variable de départ. Il convient donc de la conserver (Smith, 2002). Les valeurs propres ont été récupérées dans le sommaire des résultats de l'analyse en composante principale. Une fois cette sélection effectuée, j'ai ensuite récupéré la valeur de la corrélation de chacune des variables sur la première dimension. En effet, seule la première dimension présentait une valeur propre supérieure à 1. Dans la table de données utilisées, les variables normalisées ont ensuite été multipliées par leur valeur de corrélation. Enfin, j'ai sommé ces variables créant ainsi la variable agrégée destinée au transfert d'échelle pour la petite arène. J'avais ainsi pour chaque souche et chaque condition testée (en 2021, deux températures 24 et 28 °C et deux périodes de la journée Matin et Après-midi, ces dernières également testées en 2022) une valeur de cette variable agrégée du mouvement des trichogrammes à petite échelle. Pour finir, j'ai calculé les moyennes de cette variable pour chaque jour d'expérience me permettant ainsi de me défaire des distinctions entre modalités (température ou période de la journée). Enfin, j'ai extrait pour chaque souche, la médiane de cette variable ainsi que les premiers et troisièmes quartiles, en fonction des jours.

## I.2 Résultats

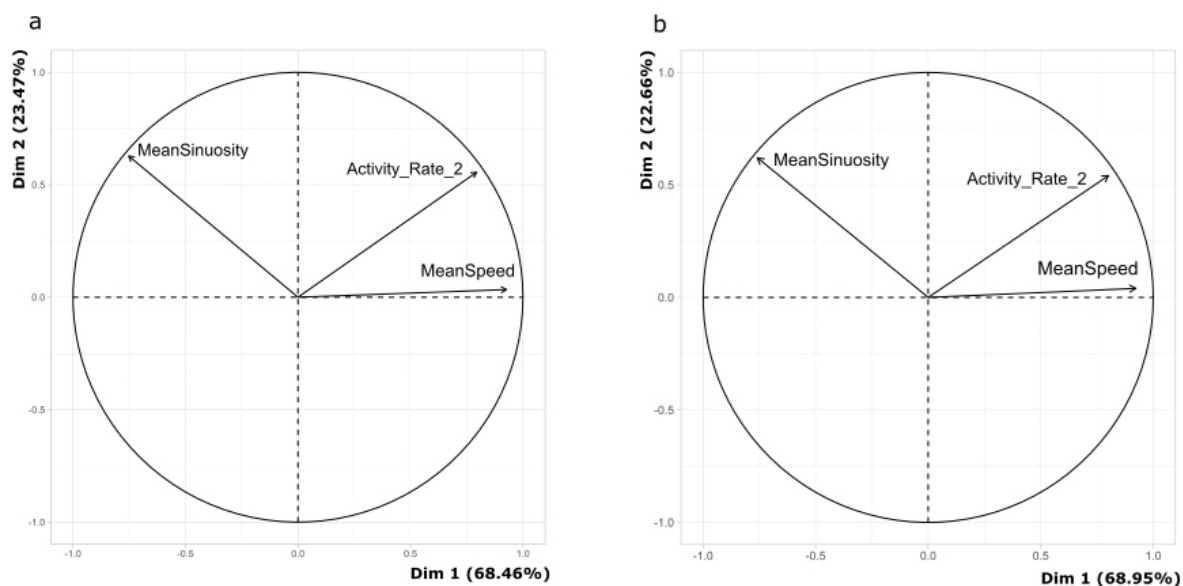
La projection des variables à la suite de l'Analyse en Composante Principale, aussi bien en 2021 qu'en 2022, laisse à penser que la première dimension, par le pourcentage de variance qu'elle résume, devrait suffire à effectuer la combinaison linéaire (Fig.1). Cela se confirme avec les valeurs propres associées à chaque composante. En effet, dans le tableau des valeurs propres, nous pouvons constater que seule la première dimension présente une valeur propre supérieure à 1 (Table 1), résumant 68,46% de l'information à elle seule en 2021, et 68.95% en 2022. La première dimension suffit donc à construire la combinaison linéaire destinée à rendre compte du comportement des trichogrammes à petite échelle.

Les combinaisons linéaires ainsi obtenues avec les corrélations de chacune des variables avec la dimension 1 sont respectivement pour 2021 et pour 2022, les suivantes :

$$\text{Variable agrégée} = 0.93 * \text{Speed} + 0.79 * \text{ActivityRate} - 0.75 * \text{Sinuosity}$$

$$\text{Variable agrégée} = 0.92 * \text{Speed} + 0.80 * \text{ActivityRate} - 0.76 * \text{Sinuosity}$$





**Figure 1.** Graphique des variables obtenus à la suite des analyses en composantes principales. Le (a) correspond aux résultats de 2021 et le (b) aux résultats de 2022.

<i>Composante</i>	<i>Valeur propre</i>	<i>Pourcentage de variance expliquée</i>
<b>2021</b>		
<i>1</i>	2.05	68.46
<i>2</i>	0.70	91.93
<i>3</i>	8.07	100
<b>2022</b>		
<i>1</i>	2.07	68.95
<i>2</i>	0.68	91.61
<i>3</i>	0.25	100

**Table 1.** Récapitulatif des valeurs propres et des pourcentages de variance expliquée pour chaque composante en résultats à l'Analyse en Composante Principale effectuée

## II- Détermination de la variable à transférer pour l'étude de la dispersion des trichogrammes à moyenne échelle

### II.1 Méthode

Les arènes en double spirale nous ont principalement donné accès à deux variables : le Déplacement Quadratique Moyen au cours du temps, ainsi que les coefficients de diffusion qui en découlent. Ces derniers sont, rappelons-le, les coefficients de régression des différents segments des profils de dispersion de chacune des souches testées (*nota bene* : C'est du moins la définition que nous avons utilisée. Il est mathématiquement plus juste de considérer que ces coefficients de diffusion correspondent en fait au DQM divisé par deux fois le temps). En considérant ces variables plusieurs propositions ont été discutées.

#### *Le Déplacement Quadratique Moyen final*

L'intérêt de cette variable est qu'elle reflète la performance finale en termes de déplacement des différentes souches testées. Elle est la conséquence de toutes les phases de mouvement exprimées depuis le début de l'expérience. Mais le DQM final brut dépend directement de la durée de l'expérience. Le DQM final correspond à une finalité de dispersion au bout de six heures. Mais il aurait pu être mesuré sur cinq heures ou sept heures par exemple. Cette variable n'a donc pas été retenue pour tester le transfert d'échelle.

#### *Le Déplacement Quadratique Moyen estimé à partir du parasitisme des œufs*

Dans le chapitre précédent, le DQM obtenu via la lecture du parasitisme des œufs a été présenté. Cette variable pourrait tout à fait être adéquate pour l'étude du transfert d'échelle. D'autant plus qu'elle est très proche du DQM des serres, puisqu'également déterminée par un suivi de l'état, parasité ou non, des œufs sentinelles d'*Ephestia kuehniella*. Or, comme précédemment vu, l'hypothèse du superparasitisme des œufs dans la spirale engendre un biais sur l'estimation du DQM via les œufs. Par conséquent, j'ai décidé de ne pas utiliser cette variable pour étudier le transfert d'échelle afin de ne pas voir des conclusions concernant ce transfert impactées par la limite identifiée sur cette variable. Par ailleurs, les limites citées au-dessus pour le DQM final s'appliquent également ici.

#### *Le coefficient de diffusion*

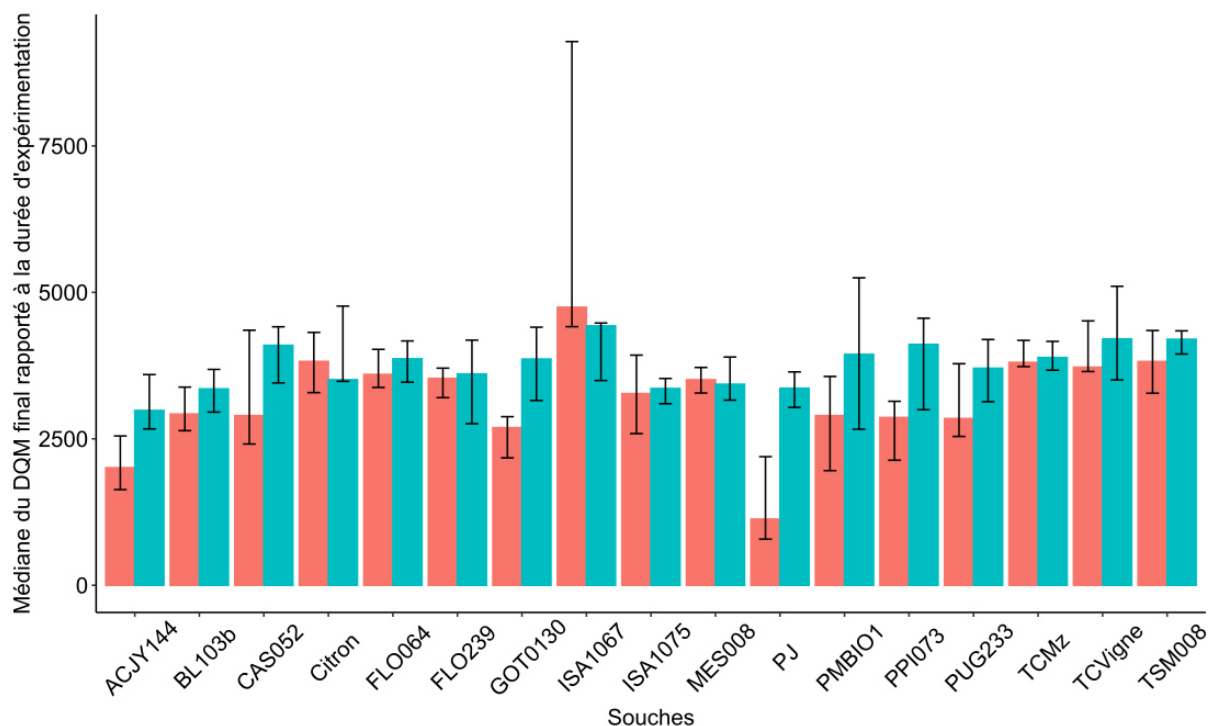
Le coefficient de diffusion rend tout à fait compte des capacités de dispersion des différentes souches de trichogrammes. L'inconvénient, c'est qu'à part pour les souches dont le type de dispersion est linéaire, il en existe plusieurs pour chaque souche, puisque que chaque segment a un coefficient de régression. Nous avons d'abord pensé à moyenniser les différents coefficients pouvant exister. Mais le sens mathématique d'une telle résultante n'est pas convaincant. Dans un second temps, nous avons donc songé à utiliser le premier coefficient de

régression, celui reflétant la première phase ou l'unique phase pour les cas linéaires. Cette idée nous est venue, notamment en pensant au transfert entre petite et moyenne échelle. En effet, le temps de mesure des différents proxies de dispersion, étant court dans les petites arènes i.e. 5min, il nous a semblé pertinent d'approcher ces métriques par un coefficient de diffusion estimé sur une échelle de temps plus proche. L'inconvénient premier est que cet argument est valable entre petite et moyenne échelle, mais ne l'est plus entre moyenne et grande et entre petite et grande échelle. De plus, en utilisant seulement la première phase, seule une plus ou moins petite partie des données est valorisée. Par conséquent, cette variable n'a pas été retenue pour le transfert d'échelle.

Finalement, nous avons choisi d'utiliser le DQM final divisé par le temps d'expérimentation. Ainsi, les avantages que présentent le DQM final sont valorisés et sa limite vis-à-vis du temps d'expérimentation est levée. Ainsi, les six heures d'expérimentation sont valorisées et dans le cadre d'un transfert d'échelle avec des temps d'expérimentation différents, cela permet de se défaire de ramener une forme d'homogénéité. La limite identifiée sur le DQM final non divisé par le temps est ainsi compensée.

## II.2 Résultats

La représentation graphique du DQM rapporté à la durée d'expérimentation nous permet de constater l'existence d'une variabilité entre les souches (Fig.2). De manière générale, les DQM sont plus élevés en 2022 qu'en 2021, sauf pour les souches Citron et ISA1067. Je n'ai effectué aucune comparaison quantitative de ces variables entre années sachant que l'identité des souches entre 2021 et 2022 n'a probablement pas été conservée.



**Figure 2.** Graphique représentant la variable choisie pour le transfert d'échelle avec les arènes en double spirale : le Déplacement Quadratique Moyen rapporté à la durée d'expérimentation. Le sommet de chaque barre correspond à la médiane. Les barres d'erreur correspondent aux écarts interquartiles. Les données obtenues en 2021 sont représentées en rose, et celles pour 2022 en bleu.

### III- Détermination de la variable à transférer pour l'étude de la dispersion des trichogrammes à grande échelle

#### III.1 Méthode

Les résultats obtenus à partir des lâchers sous serres nous ont permis de calculer trois variables différentes : le Déplacement Quadratique Moyen, le parasitisme global et le taux de découverte. Pour cette échelle, la variable à choisir se présente assez naturellement comme étant le DQM. En effet, son calcul permet de considérer à la fois les distances parcourues et les fréquences de parasitisme, rendant ainsi pleinement compte de la notion de dispersion. Afin de travailler avec des métriques considérées sur une base temporelle homogène, ce DQM a également été divisé par le temps d'expérimentation.

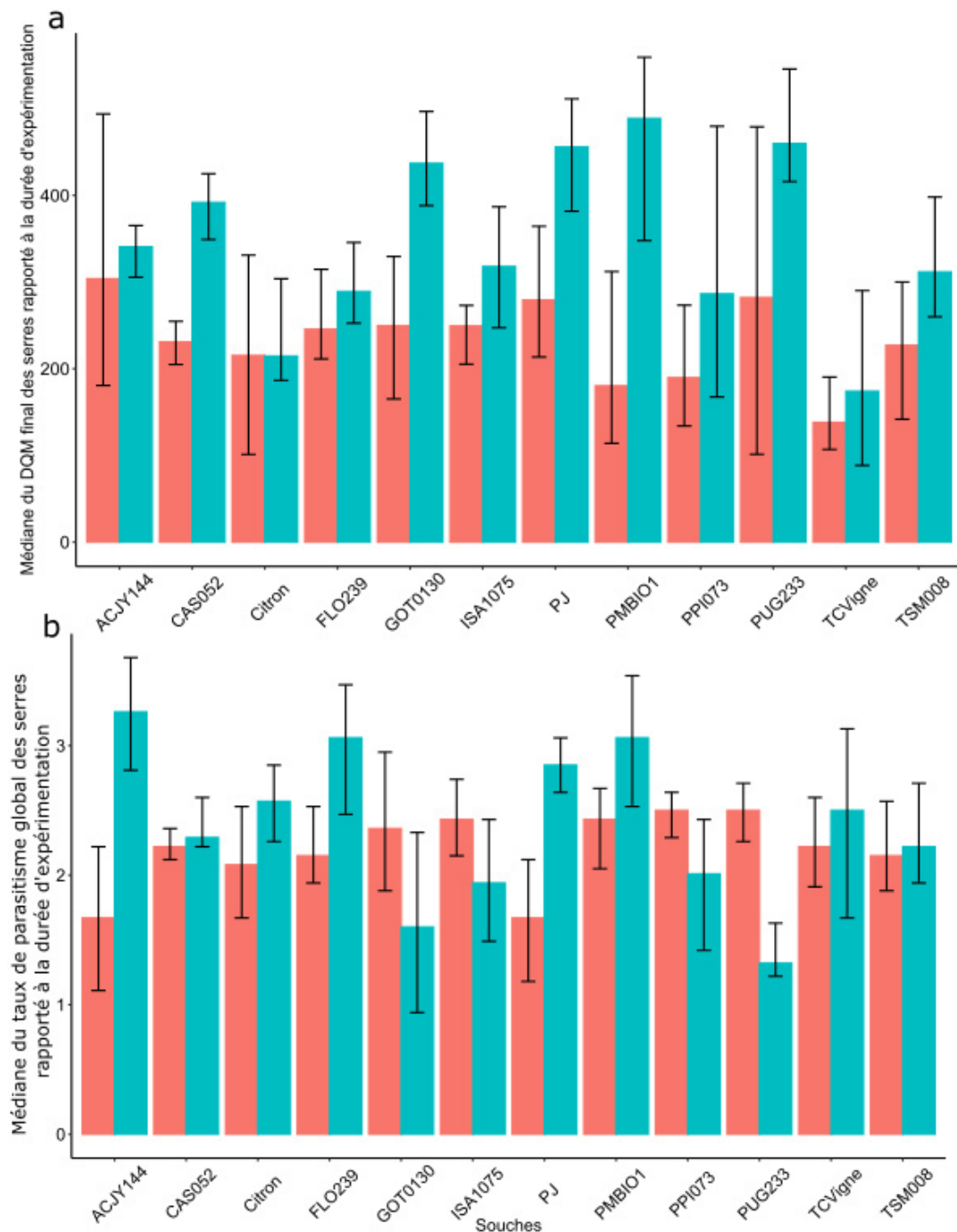
Concernant les autres choix possibles, le parasitisme global rend essentiellement compte des capacités de parasitisme mais pas forcément de dispersion. En effet, il est possible d'avoir de très faibles taux de parasitisme pour des souches qui dispersent pourtant beaucoup et

inversement. Par conséquent, cette seconde variable ne semblait pas adaptée pour le transfert d'échelle.

Le taux de découverte est lui aussi une variable intéressante. En effet, il ne reflète pas la fécondité des femelles mais leur capacité à avoir découvert ou non les patchs, témoignant de la qualité de l'exploitation de leur environnement. Cette seconde variable, elle aussi divisée par le temps d'expérimentation, a également été testée pour le transfert d'échelle.

### III.2 Résultats

Que ce soit pour le DQM rapporté à la durée d'expérimentation ou pour le taux de parasitisme global, les souches présentent des médianes effectivement variables (Fig.3). Mais cette apparente variabilité se doit d'être nuancée du fait de l'importante variabilité des données pour chaque souche. En effet, les écarts interquartiles sont pour beaucoup assez grands si bien que les valeurs prises pour la variable étudiée se chevauchent pour une majorité des souches. Comme précédemment, nous pouvons porter un regard qualitatif sur les différences annuelles. En 2022, les médianes du DQM sont constamment supérieures à celles mesurées en 2021. Mais comme pour les différences entre souches, dans la plupart des cas les intervalles interquartiles se recoupent. En ce qui concerne les médianes du taux de parasitisme global, le même constat se maintient sauf pour quatre souches (GOT0130, ISA1075, PPI073 et PUG233), pour lesquelles les valeurs sont plus élevées en 2021.



**Figure 3.** Graphique représentant les variables choisies pour le transfert d'échelle avec les serres : (a) les médianes du Déplacement Quadratique Moyen rapporté à la durée d'expérimentation (b) les médianes du taux de parasitisme global des serres rapporté à la durée d'expérimentation. Le sommet de chaque barre correspond à la médiane. Les barres d'erreur correspondent aux écarts interquartiles. Les données obtenues en 2021 sont représentées en rose, et celles pour 2022 en bleu.

Les variables maintenant choisies, je vous propose d'aborder le transfert d'échelle, en ayant déjà à l'esprit que les observations qualitatives de la variabilité entre les souches et au sein de chaque souche sur les différentes variables, notamment pour la moyenne et la grande échelle, suggèrent qu'il pourrait être difficile d'identifier un signal de corrélation entre les échelles. En

effet, les grandes variabilités au sein de chaque souche pourraient masquer les variabilités déjà faibles entre les souches. Mais, voyons donc ce qu'il en est.

#### IV- Transfert d'échelle : étude de l'association entre les variables sélectionnées à chaque échelle

##### IV.1 Méthode

L'association entre les variables sélectionnées aux différentes échelles, étant donné que les hypothèses nécessaires pour effectuer des régressions linéaires n'étaient pas toujours vérifiées, a été étudiée en utilisant des corrélations de rang de Kendall. Ces tests ont été réalisés en utilisant la fonction *cor.test* du package *stats* (version 4.0.0) (R Core Team, 2020). J'ai ainsi récupéré pour chaque test effectué, la valeur du tau de Kendall associé. Les valeurs p associées à chaque test de corrélation effectué et renvoyées par la fonction *cor.test*, ont été corrigées par la méthode de « False Discovery Rate » (Storey, 2010) avec la fonction *p.adjust* du package *stats* (R Core Team, 2020) (version 4.0.0). De plus, j'ai choisi de travailler avec les médianes et non les moyennes car pour beaucoup de mes données il y a des valeurs plutôt extrêmes, pas nécessairement représentatives de la majorité des données et la médiane y est moins sensible que la moyenne. Pour chacune des corrélations effectuées, les intervalles de confiance à 95% des tau de Kendall ont été calculés par l'approche « bootstrap percentile » (Singh, Xie 2008). Pour chaque souche et chaque variable à transférer, j'ai généré un nouveau vecteurs de valeurs en tirant avec remise, N valeurs parmi les N valeurs observées. Sur ces nouveaux vecteurs de valeurs, j'ai calculé les médianes associées. J'ai fait cela 1000 fois. Ainsi, j'ai obtenu 1000 vecteurs de médianes (soit 17 ou 12 médianes par vecteur dans le cas des serres) pour chacune des variables à transférer. J'ai effectué un test de corrélation de Kendall à chaque tour, entre les différents vecteurs associés à chaque variable étudiée. J'ai donc obtenu 1000 valeurs de tau de Kendall. Ces 1000 valeurs de tau ont ensuite été ordonnées de la plus petite à la plus grande de telle sorte à estimer les percentiles 2.5 et 97.5. Le percentile 2.5 correspond au seuil en dessous duquel seules 2.5% des valeurs ordonnées sont présentes. Le percentile 97.5, quant à lui, correspond au seuil au-dessus duquel seules 2.5% des valeurs ordonnées sont présentes. Ces valeurs constituent alors les bornes inférieure et supérieure de l'intervalle de confiance à 95%, selon l'approche dite "bootstrap percentile". Le bon fonctionnement de cette méthode repose sur la distribution symétrique des valeurs estimées des tau de Kendall. L'histogramme de

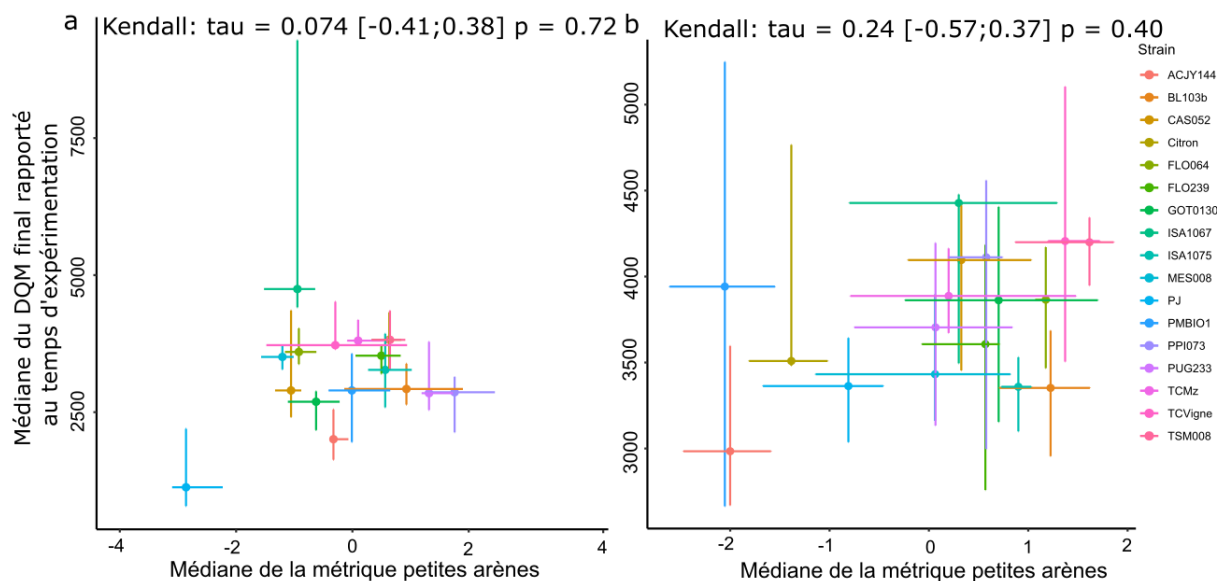
distribution des valeurs estimées a été vérifiée avant chaque calcul de percentiles (Wehrens, Putter, Buydens 2000).

## IV.2 Résultats

### *Transfert d'échelle entre la petite échelle et la moyenne échelle*

Le transfert d'échelle entre la petite et la moyenne échelle n'aboutit pas à l'identification d'une quelconque corrélation (Fig.4). En effet, les valeurs des tau de Kendall sont proches de zéro, c'est notamment le cas pour le transfert sur les données obtenues en 2021 (tau = 0.074). En 2022, le tau de Kendall demeure faible mais est plus important (tau = 0.24). Mais cette conclusion reste fragile puisque les valeurs p associées à ces tests ne sont pas significatives. De plus, les intervalles de confiance contiennent tous deux la valeur 0, indiquant la même conclusion. Cela peut notamment s'expliquer par la forte variabilité des données au sein de chaque souche, comme en témoignent la représentation des premiers et troisième quartiles. Les intervalles de confiance sont d'ailleurs de grande amplitude, traduisant cette variabilité même dans l'obtention des coefficients de corrélation. Aussi, graphiquement, une grande majorité des souches ne semble former qu'un seul et unique groupe. En effet, en 2021 (Fig.4a), les souches sont très regroupées et forment un nuage de point très condensé témoignant de leur similitude sur les métriques étudiées. Seule une d'entre elles se détache, PJ. En 2022 (Fig.4b), la majorité des souches forme également un groupe resserré, plutôt en haut à droite du graphique, se distinguant de seulement trois autres souches (ACJY144, PMBIO1 et Citron) avec des performances moindres aussi bien dans les petites arènes que dans l'arène en double spirale.



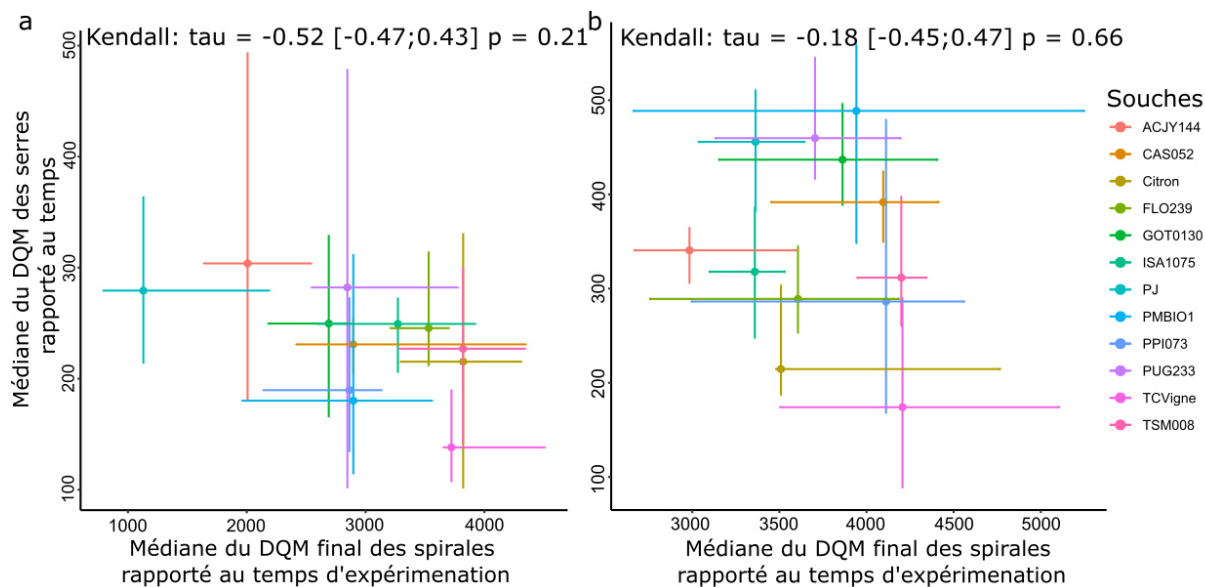


**Figure 4.** Nuage de points des médianes de la métrique des petites arènes en fonction des médianes du Déplacement Quadratique Moyen des arènes en double spirales rapporté au temps d'expérimentation : (a) pour les données 2021 (b) pour les données 2022. Chaque point représente la médiane d'une souche donnée. Autour de chaque point sont représentés les premiers et troisièmes quartiles.

*Transfert d'échelle entre la moyenne échelle et la grande échelle*

### Utilisation du DQM des arènes en double spirale rapporté au temps d'expérimentation et du DQM des serres rapporté au temps d'expérimentation

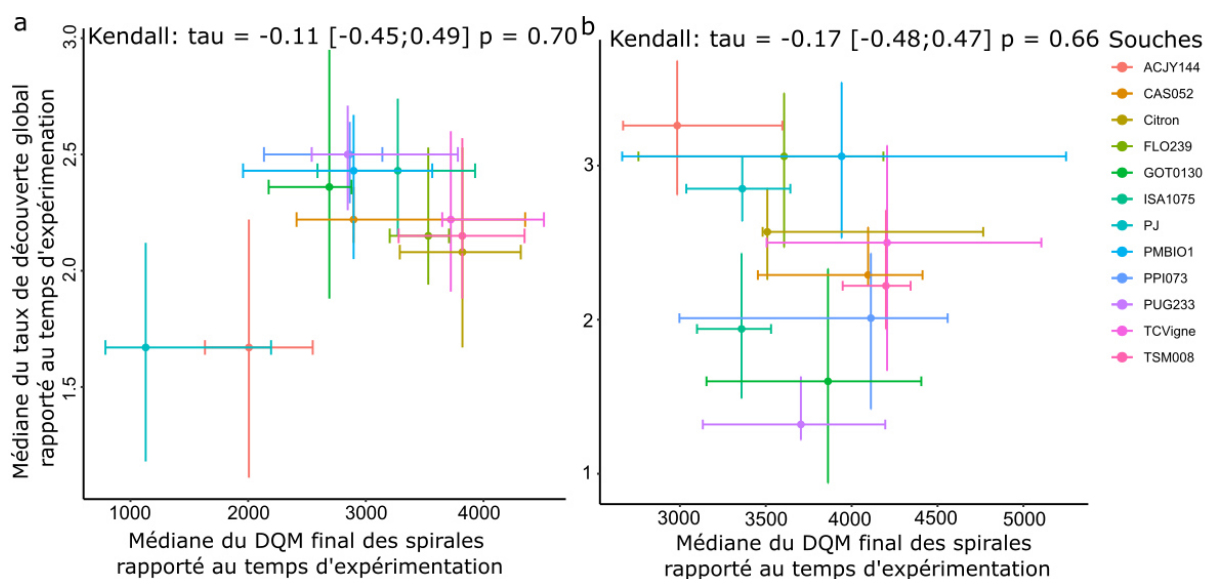
Comme précédemment, le transfert d'échelle entre la moyenne et la grande échelle n'aboutit pas à l'identification d'une quelconque corrélation (Fig.5), que ce soit pour 2021 (Fig5.a) ou 2022 (Fig5.b). De plus, l'apparente différence des valeurs de tau, entre 2021 et 2022 se retrouve obsolète lorsque l'on s'intéresse à l'amplitude des intervalles de confiance. Ces derniers indiquent, comme les valeurs p, une non-significativité des résultats et en plus la valeur du tau de 2021 de -0.52 apparaît comme peu probable vu l'intervalle de confiance allant de -0.47 à 0.43.



**Figure 5.** Nuage de points des médianes du Déplacement Quadratique Moyen des serres rapporté au temps d'expérimentation en fonction des médianes du Déplacement Quadratique Moyen des arènes en double spirales rapporté au temps d'expérimentation : (a) pour les données 2021 (b) pour les données 2022. Chaque point représente la médiane d'une souche donnée. Autour de chaque point sont représentés les premiers et troisièmes quartiles.

### Utilisation du DQM des arènes en double spirale rapporté au temps d'expérimentation et du taux de découverte global en serres rapporté au temps d'expérimentation

Le transfert d'échelle entre l'arène en double spirale et les serres, mais cette fois-ci basée sur la corrélation entre le DQM des spirales et le taux de parasitisme global en serres, ne montre aucune corrélation importante et significative entre ces deux échelles, que ce soit en 2021 ou en 2022 (Fig.6). Le constat est identique à ceux précédemment décrits : peu de diversité apparaît entre les différentes souches qui forment un nuage de points très condensé à nouveau. Néanmoins, en 2021, deux souches (ACJY144 et PJ) se distinguent du nuage de points dominant, avec des performances plus petites pour les deux métriques (Fig.6a).

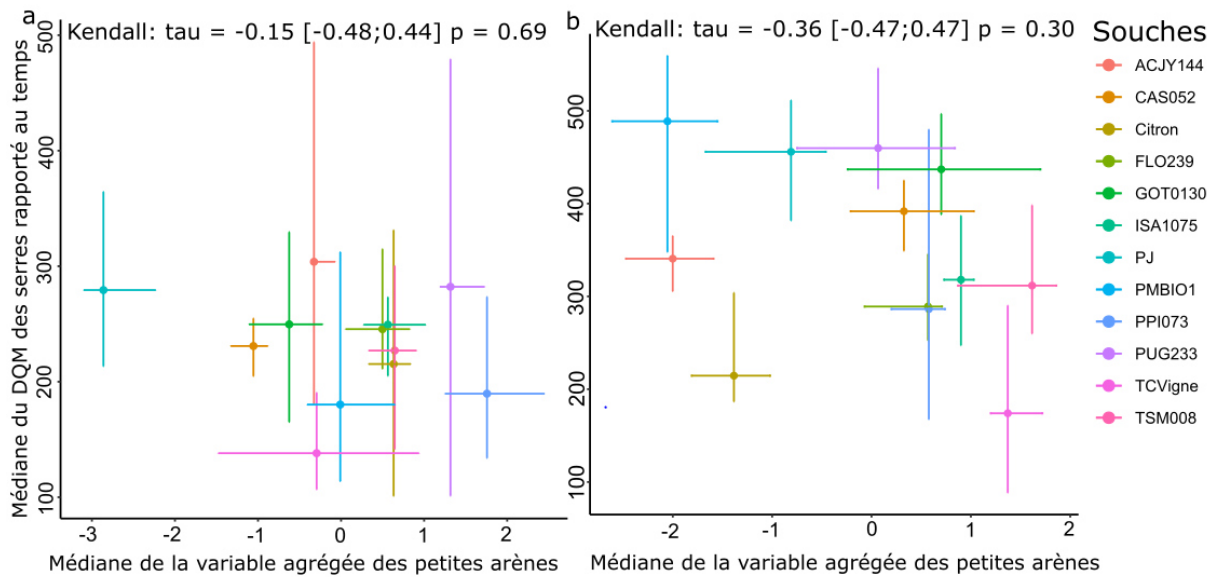


**Figure 6.** Nuage de points des médianes du taux de découverte en serres (%) rapporté au temps d’expérimentation en fonction des médianes du Déplacement Quadratique Moyen des arènes en double spirales rapporté au temps d’expérimentation : (a) pour les données 2021 (b) pour les données 2022. Chaque point représente la médiane d’une souche donnée. Autour de chaque point sont représentés les premiers et troisièmes quartiles.

#### *Transfert d’échelle entre la petite échelle et la grande échelle*

#### **Utilisation de la variable bilan des petites arènes et du DQM des serres rapporté au temps d’expérimentation**

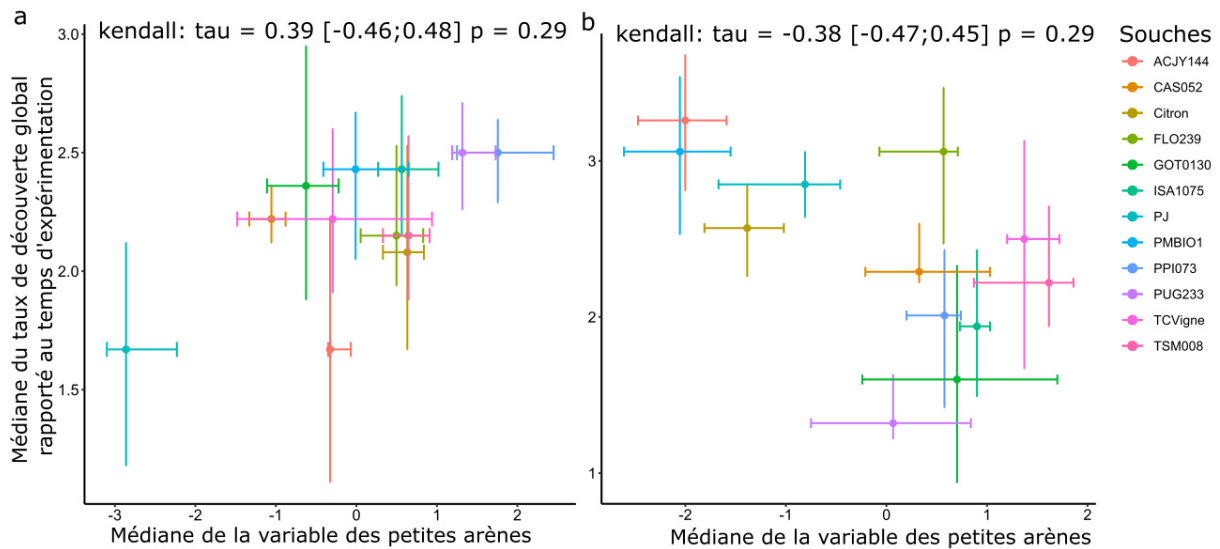
Le transfert d’échelle entre la petite arène et les serres, basé sur la corrélation entre la variable bilan des petites arènes et le DQM des serres rapporté à la durée d’expérimentation, n’apparaît pas concluant. En effet, les tau de Kendall sont proches de zéro avec des valeurs p largement supérieures à 0.05 et des intervalles de confiance qui soutiennent également ce résultat (Fig.7). Néanmoins, nous pouvons remarquer que de la même façon que pour le transfert d’échelle effectué entre le DQM des arènes en double spirale rapporté au temps d’expérimentation et le DQM des serres rapporté au temps d’expérimentation, les tau de Kendall sont négatifs. Mais les valeurs p et les intervalles de confiance sont tels qu’il est impossible d’en tirer une quelconque information.



**Figure 7.** Nuage de points des médianes du Déplacement Quadratique Moyen des serres rapporté au temps d'expérimentation en fonction des médianes de la variable des petites arènes : (a) pour les données 2021 (b) pour les données 2022. Chaque point représente la médiane d'une souche donnée. Autour de chaque point sont représentés les premiers et troisièmes quartiles.

### Utilisation de la variable bilan des petites arènes et du taux de découverte global en serres rapporté au temps d'expérimentation

Contrairement au transfert précédemment décrit, lorsque la variable choisie pour la grande échelle est le taux de découverte global rapporté au temps d'expérimentation, nous pouvons constater que les corrélations sont légères mais apparaissent graphiquement plus franches, notamment en 2021 (Fig. 8a).



**Figure 8.** Nuage de points des médianes du taux de découverte en serres (%) rapporté au temps d'expérimentation en fonction des médianes de la variable des petites arènes : (a) pour les données 2021 (b) pour les données 2022. Chaque point représente la médiane d'une souche donnée. Autour de chaque point sont représentés les premiers et troisièmes quartiles.

### VI.3 Discussion et perspectives

Les résultats obtenus sur les différents transferts d'échelle étudiés montrent que dans 100% des cas, il est impossible de rejeter l'hypothèse d'une absence de corrélation entre les échelles, que ce soit sur la base des valeurs p renvoyées par chacun des tests, toujours largement supérieures au seuil alpha de 0.05, ou des intervalles de confiance estimés par bootstrap, contenant systématiquement la valeur 0 dans 100% des cas, et indiquent ainsi une totale non-significativité des corrélations (Krzywinski et Altman, 2013). De plus, même si les résultats étaient effectivement significatifs, les valeurs des tau de Kendall sont proches de zéro et ne reflètent donc pas de fortes associations entre les variables étudiées aux différentes échelles. Par conséquent, avec les expérimentations menées et les variables choisies pour étudier le transfert d'échelle entre variables, il apparaît difficile de transférer les résultats d'une échelle à une autre.

Malgré l'impossibilité de conclure sur les tau de Kendall obtenus, je vous propose de profiter de ces résultats pour aborder quelques points qui pourraient expliquer l'existence des corrélations négatives, étant majoritairement apparues, si elles avaient été significatives. En effet, l'espèce *T.pretiosum* ne démontre pas les mêmes capacités de dispersion selon les cultures sur lesquelles elle est lâchée : entre le maïs, le chou et le concombre, ses capacités de dispersion sont les meilleures sur le concombre et les moins bonnes sur le chou (Oliveira *et*

*al.*, 2020). Ces différences exprimées entre les différentes cultures peuvent s'expliquer soit par un effet direct de l'architecture du couvert végétal, ou par l'aspect physique des feuilles (Olson et Andow, 2002) et/ou des tiges par exemple (Pratissoli *et al.*, 2005); soit par un effet indirect de la culture qui selon son feuillage et autres caractéristiques, expose les insectes à plus ou moins de lumière, plus ou moins d'humidité ou plus ou moins de zones avec un microclimat (Fournier et Boivin, 2000). Il est intéressant de regarder les tau de Kendall étant apparus comme négatifs, notamment entre les arènes de laboratoire et les serres, à travers le prisme des réflexions exposées ci-dessus. Ces possibles baisses de performance entre le laboratoire et le terrain pourraient s'expliquer par le fait que disperser sur du plastique et sur de vraies plantes est amplement différent. De plus, la hauteur des plantes ajoute une dimension verticale pour la dispersion qui n'est pas présente au laboratoire. Les trichogrammes parcourent potentiellement plus de distance mais pas uniquement en longueur lorsque ces derniers sont lâchés sur le terrain. Enfin, les températures moyennes dans les serres étaient autour de 29°C. Cette température n'est pas présentée comme critique pour les trichogrammes mais comme les souches ont été élevées sur de nombreuses générations à des températures moindres, il est possible que les souches étudiées y soient plus sensibles (Ion Scotta *et al.*, 2021). Ainsi, leur capacité de dispersion peut se voir négativement affectée.

Les faibles corrélations, voir leur absence, et l'absence de significativité des résultats peuvent avoir plusieurs origines. D'abord, la diversité des souches n'est pas des plus importantes. En effet, il a été constaté que les souches apparaissaient souvent très proches les unes des autres, se regroupant autour d'une même gamme de valeurs. Seules quelques souches extrêmes se détachent parfois de ce lot dominant, comme ACJY144, PJ, PMBIO1 ou encore Citron. C'est un constat qui est finalement sans grande surprise. Dans le chapitre précédent, lorsqu'aux différentes échelles un effet souche apparaissait dans les analyses, ce dernier semblait souvent s'expliquer par la présence de souches qu'il serait possible de qualifier « d'extrêmes » dans leurs performances. Par exemple sur le DQM obtenu dans les arènes en double spirale, un effet souche significatif apparaît seulement en 2021 et s'illustre graphiquement par un lot moyen avec 14 souches non différentes entre elles et deux groupes extrêmes, avec, soit des petites performances (PJ et ACJY144) ou des performances plus grandes que le groupe moyen (ISA1067). L'autre raison pouvant expliquer la difficulté à mettre en avant des associations entre les différentes variables étudiées est l'importante variabilité intrasouche qui apparaît pour une grande partie des variables étudiées, pouvant amoindrir l'expression d'une variabilité intersouche.

Malgré le fait que ces résultats laissent à penser qu'il est difficile de transférer solidement les résultats obtenus d'une échelle à une autre, et notamment du laboratoire au terrain, puisque c'est l'enjeu premier du développement de l'arène en double spirale en particulier, il ne faut pas oublier que ces conclusions sont contextes et cadres expérimentaux dépendants. J'en profite pour ajouter que ces résultats sont mêmes analyses dépendants. En effet, comme vous avez pu le constater, j'ai fait le choix de présenter à la fois des intervalles de confiance sur les valeurs des tau de Kendall et à la fois les valeurs p associées à ces tests. Il est d'usage de faire plutôt l'un ou l'autre. Mais alors que je m'interrogeais sur la limite dichotomique qu'impose le fonctionnement du test d'hypothèse nulle, je me suis alors demandé si les conclusions seraient maintenues avec d'autres méthodes comme l'usage des intervalles de confiance notamment. Il est vrai que ces derniers peuvent aussi être utilisés de façon dichotomique mais ils ont l'avantage supplémentaire de renseigner sur la magnitude des effets considérés (Besançon et Dragicevic, 2017). Dans mon cas, les conclusions ont été maintenues avec l'une ou l'autre des méthodes. Mais il me semble que sur des questions d'une grande importance et d'une grande sensibilité comme c'est le cas pour le transfert d'échelle, dont l'enjeu agronomique est conséquent, il convient de ne pas oublier que les résultats sont aussi à nuancer en considérant les méthodes d'analyse choisies. Cette question d'interprétation suivant différents outils a été largement discutée et divise encore la communauté scientifique (Dragicevic, 2016 ; Dragicevic *et al.*, 2014 ; Kay *et al.*, 2016a, 2016b).

De plus, si l'on s'intéresse qu'à une lecture graphique, dans certains cas, des allures encourageantes sont apparues. Je pense en particulier au transfert 2021 entre les petites arènes et le taux de parasitisme global en serres, et aussi, et surtout, au transfert 2021 entre les serres (DQM) et les arènes en double spirale pour lequel lorsqu'aucune correction n'est appliquée sur la valeur p, celle-ci apparaît comme inférieure à 0.05. Une question se pose. Même si certains résultats sont encourageants, quel effort expérimental serait nécessaire pour aboutir à des conclusions plus probantes, plus nettes, positivement ou négativement d'ailleurs ? Dans le cadre de ma thèse, j'ai réalisé en 2021, 20 réplicats par souche et j'ai réitéré les expériences en 2022. Malheureusement, à la suite de problèmes de mise au point sur 50% des réplicats, j'ai dû travailler sur un nombre moitié moins important de réplicats. Cela peut en partie expliquer les variabilités observées. Ainsi cela ne semble pas suffire. Or, l'étude de ma question de thèse prend une grande partie de son intérêt dans le fait que l'étude de la dispersion d'insectes comme les trichogrammes sur le terrain est longue, coûteuse et chronophage, et qu'il serait donc intéressant d'identifier des stratégies expérimentales plus rapides, moins coûteuses, offrant des

résultats plus robustes. Mais si les méthodes mises en place aujourd'hui, doivent, pour offrir des résultats solides, nécessiter quasiment autant de temps que les approches de terrain, sont-elles toujours si intéressantes vue de l'urgence avec laquelle il est nécessaire d'accélérer la transition agroécologique en cours ?





**[Le temps d'un sonnet]**

***Regarder plus loin***

*Il y a pendant l'analyse de données  
Toujours cette petite voix qui me murmure  
Qu'en est-il du reste de la littérature ?  
Ces résultats, quoi comprendre de leur portée ?*

*Comment peuvent-ils donc être améliorés ?  
Le message transmis est-il correct pour sûr ?  
Après, que pourrai-je en faire dans le futur ?  
Pour discuter, je les remets sur le métier.*

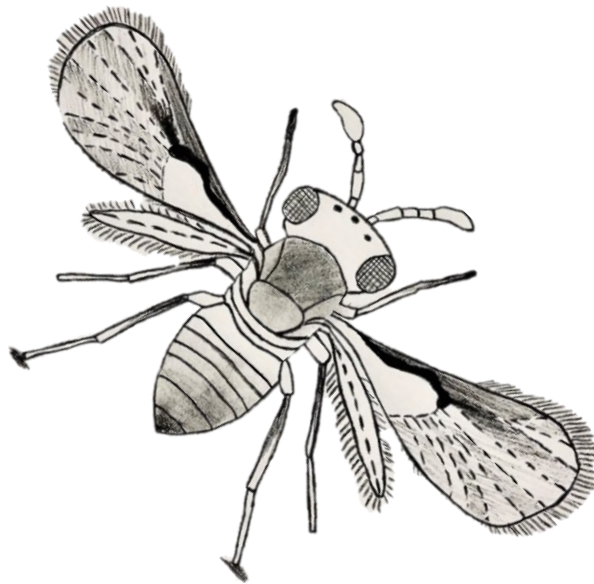
*Les références prennent plus grande ampleur.  
La bibliographie prend une autre valeur.  
Pouvoir de la diffusion de la recherche.*

*Un moment bien fort apprécié pour ma part.  
Je fais un ou deux pas en arrière et je cherche.  
A coups de papier crayon, un autre part.*



## Chapitre V :

# Discussion et perspectives générales





Les résultats de ma thèse nous ont montré, et cela pour les trois échelles étudiées, qu'il était possible d'identifier des groupes de souches, au moins quelques souches très performantes par rapport aux autres ou au contraire très peu performantes, présentant des différences phénotypiques significatives sur différentes métriques liées à leur mouvement et à leur dynamique de dispersion. Cela est d'abord très intéressant d'un point de vue agronomique dans le cadre de solutions de lutte biologique. En effet, afin de pouvoir sélectionner les meilleurs trichogrammes à lâcher, il est utile de pouvoir les évaluer à partir de métriques sur lesquelles des différences sont effectivement exprimées. Aussi, cela vient soutenir le fait qu'une espèce clonale comme *Trichogramma cacoeciae* peut, bel et bien, présenter de la diversité. Il est difficile d'attribuer cette dernière de façon indubitable à la génétique. Cette diversité apparente pourrait être due à de l'épigénétique par exemple. Néanmoins, du point de vue génétique, la reproduction thélytoque de cette espèce relevant d'une méiose sans recombinaison, avec seulement une division équationnelle et libération d'un globule polaire, les femelles de cette espèce présentent un important niveau d'hétérozygotie. Ainsi, in natura, si la taille de leur population a été suffisante alors des mutations ont pu être fixées et ainsi générer de la diversité génétique entre les souches (Vavre *et al.*, 2004). C'est donc probablement sur cette base de diversité que les différentes souches ont été exposées aux conditions d'élevage et que les différentes variables relatives à la dispersion des trichogrammes ont été estimées à différentes échelles spatiales et temporelles et qu'ensuite leur lien a été étudié. Nous avons montré qu'il était, dans le cadre des expériences menées dans ma thèse, très difficile, voire impossible d'établir un transfert d'échelle. Dans cette dernière partie, je vous propose d'abord de revenir sur chacun des précédents chapitres à travers des discussions notamment méthodologiques. Ensuite, j'aborderai à travers les perspectives, les suites qui pourraient être données à l'étude de la dispersion des trichogrammes. Je reviendrai également sur la gestion de l'élevage, ses fragilités et comment il est possible de la rendre plus robuste. Pour finir, je vous propose de conclure ce manuscrit sur quelques perspectives réflexives quant à mon parcours en thèse.

## I- Discussion générale

Revenons d'abord sur les designs expérimentaux de chacune des échelles étudiées.

### I.1 La petite arène

La petite arène offre l'avantage d'un design très simple et petit, tel que la prise de vidéos et la mise en place de ce dispositif est facile et accessible avec peu de moyens, donnant accès à des métriques d'intérêt en écologie du mouvement. Dans notre cas, nous avons fait le choix

d'étudier un temps assez court (5 minutes), n'ayant pas pour ambition de caractériser les métriques à l'échelle de l'individu mais bien à l'échelle de la population. Néanmoins, nous pouvons nous demander à quel point les moyennes des métriques que nous avons étudiées auraient été impactées par des temps expérimentaux plus longs, deux, à quatre fois plus par exemple. La particularité des mesures effectuées dans cette arène réside également dans l'absence d'œufs hôtes, contrairement aux deux autres échelles qui ont été étudiées. Nous avons fait le choix de ne pas en mettre d'abord pour atteindre l'objectif de travailler avec le plus simple des éthoscopes mais aussi car dans un espace de cette forme, le choix de la disposition des œufs d'hôtes semblait bien moins naturel que dans l'arène en double spirale par exemple.

Dans l'analyse des données, les femelles trichogrammes n'ont été distinguées sur aucun critère. Néanmoins, nous aurions tout à fait pu nous intéresser à chacune des métriques que nous avons étudiées en considérant, d'un côté, les moments pendant lesquels les femelles bougeaient en suivant les bords de l'arène et d'un autre côté, les moments pendant lesquels les femelles se mouvaient plutôt au centre de l'arène. Cela pourrait permettre de qualifier et de quantifier les tendances au thigmotactisme des trichogrammes, demeurant éparsement mentionné dans la littérature. En effet, il a par exemple été montré chez les femelles de *T.brassicae* une préférence pour les nervures des feuilles, causant une diminution de la sinuosité de leur mouvement (Babendreier *et al.*, 2003b). Chez d'autres espèces en revanche, comme *T.turkestanica*, cette cinèse ne se manifeste pas (Gingras *et al.*, 2008). Or, par soucis de faisabilité technique et temporelle, j'ai mis de côté cette possibilité d'analyse. Il avait été envisagé dans un premier temps, d'ôter les moments de déplacement au bord de l'arène pour n'effectuer le calcul des différentes métriques que sur les individus au centre. Cela, en conséquence de la supposition selon laquelle les mouvements des femelles étaient nécessairement, et non négligemment, impactés par les bords. Or, après réflexion, j'ai préféré ne faire aucune distinction sachant que les deux autres échelles expérimentales étudiées sont aussi propices à la manifestation d'un thigmotactisme. En effet, la spirale n'est large que d'1 cm. Ainsi les trichogrammes ont accès à une grande quantité de bord également. Si elle avait été plus large, cela aurait certainement entraîné des conséquences sur les métriques mesurées. Sur le terrain, il y a beaucoup de structures qui s'apparentent à des bords et peuvent-elles aussi, comme nous l'avons vu un peu plus haut, influencer le mouvement des trichogrammes. Ainsi, ce phénomène de bord peut être identifié à chacune des échelles étudiées. L'objectif premier étant le transfert d'échelle, l'absence de distinction entre les individus au centre et ceux au bord dans le calcul de la métrique à transférer, constitue une forme d'homogénéité entre les échelles.

A cette échelle, un autre point qui pourra certainement se voir améliorer dans le futur est la détection de chacun des individus dans l'arène et leur suivi au cours du temps. En effet, avec la méthode de suivi automatique actuelle, les individus sont détectés par le logiciel Ctrax mais leur identité n'est pas conservée au cours du temps. Par conséquent, nous ne pouvons pas mesurer la variabilité au niveau individuel. Cela pourrait notamment améliorer l'estimation des valeurs moyennes et la puissance statistique en considérant un individu comme un sous-réplikat. De plus, un tel degré de précision permettrait d'aborder avec plus d'aisance des questions relatives à des comportements particuliers comme le thigmotactisme mentionné plus haut.

## I.2 L'arène en double spirale

D'abord, l'arène en double spirale représente une vraie nouveauté pour le domaine dans lequel nous l'avons exploitée puisqu'aucune technologie similaire à celle-ci n'a été repérée, exception faite pour le dispositif utilisé par Honda et al. 1999, pour tester la dispersion au laboratoire de *Trichogramma cordubensis* consistant en un bloc en aluminium (639 mm × 232 mm) contenant un canal d'enroulement continu mesurant 8 m de longueur. Néanmoins, leur dispositif était très éloigné du dispositif de double spirale proposé ici. En effet, leur dispositif était de forme carré et en zigzags créant ainsi des points de courbures très importants par endroit contrairement au dispositif de double spirale. De plus, le suivi n'était pas effectué par analyse d'images mais avec des œufs sentinelles seulement. Au-delà de cette unique référence, la plupart des expérimentations au laboratoire pour caractériser le mouvement ne vont pas jusqu'à la dispersion puisque seules de petites arènes sont utilisées permettant seulement d'évaluer la vitesse ou encore la sinuosité des déplacements.

En plus de représenter une réelle invention dans le domaine des expérimentations au laboratoire, l'arène en double spirale présente de nombreux autres avantages.

C'est d'abord un système adapté aux trichogrammes mais pouvant aisément être transposé à d'autres organismes vivants par sa facilité de design virtuel et de découpe réelle. En effet, le modèle du dispositif a été entièrement réalisé avec le logiciel libre d'accès Inkscape (accessible à toutes et à tous, et dont les outils peuvent être aisément pris en charge). Ainsi, des modifications peuvent être apportées facilement et rapidement au modèle pour s'adapter aux objectifs des utilisateurs et aux questions posées (élargissement du tunnel de la spirale, du nombre de tours etc). Cette base numérique assure également la possibilité de produire la spirale à grande échelle en assurant la conformité des copies entre elles. Dans le cadre de nos



expériences, cela s'est avéré fort utile afin de travailler simultanément avec quatre spirales strictement identiques et d'en avoir quatre prêtes pour les expérimentations du jour suivant.

L'avantage qui en fait également un objet de grand intérêt pour l'évaluation de la dispersion est la longueur du chemin que celle-ci offre dans un espace demeurant relativement raisonnable. Mais cet avantage n'est pas sans inconvénient. En effet, afin de conjuguer un chemin aussi long dans un espace restreint, nous n'avons pas pu travailler avec un chemin large. Dans notre cas ce dernier ne faisait qu'un centimètre. Le mouvement ainsi engendré est donc plutôt particulier, les individus étant incités à progresser de façon essentiellement unidirectionnelle.

L'arène en double spirale nous a permis de mettre en avant différents profils de dispersion avec des nombres (1,2,3 ou 4) et des natures de phase (accélération ou ralentissement) variables. Nous pouvons imaginer que les souches de trichogrammes pourraient être en partie sélectionnées sur ces profils. Mais cela reste un résultat à considérer avec parcimonie. En effet, les expériences ont été menées à haute densité et cela a très probablement participé aux patterns qui sont ressortis dans les résultats. Il demeure donc important pour envisager une application de ces expériences comme un outil de sélection, d'effectuer d'abord plusieurs expériences aux conditions expérimentales variables. Ainsi, cela permettrait de ne pas tirer de conclusions trop hâtives quant à la caractérisation des souches en fonction de leur profil de dispersion. Ces patrons peuvent-ils réellement se conserver ? A quel point répondent-ils à l'influence d'autres facteurs ? Même si la conservation de l'identité génétique des souches est incertaine entre les deux années expérimentales, nous pouvons tout de même remarquer que la majorité des souches n'ont pas conservé la même typologie de dispersion d'une année sur l'autre. De plus, malgré le fait que la méthode d'analyse qui a été utilisée pour ajuster les courbes du Déplacement Quadratique Moyen en fonction du temps, nous a permis de montrer de façon objective l'existence de différents profils de dispersion, elle peut encore être améliorée. En effet, l'établissement de modèles par segments avec la fonction *segmented*, peut se faire en fixant le nombre de segments attendus ou en laissant la fonction estimée par elle-même ce nombre. Dans le cas de nos analyses, nous avons fixé le nombre de segments à 1, 2 ou 3 et ensuite choisi le meilleur ajustement en comparant la qualité des différents modèles. Idéalement, il serait encore plus objectif de ne pas fixer ce nombre. Or, lorsque j'ai utilisé la fonction *segmented* de cette façon, j'ai obtenu des cas de sur-ajustement : de très nombreux petits segments entre deux points seulement. Avec cette fonction, il est donc préférable de fixer le nombre de segments comme nous l'avons fait. Mais ce fait suggère que certains profils

auraient probablement été plus convenablement identifiés avec 4 segments au lieu de 3 par exemple. Pour conclure, il conviendrait donc de développer une méthode d'analyse encore plus fiable pour l'identification de profils de dispersion avec l'objectif de les utiliser dans un contexte de mise en place de stratégies de lutte biologique, par exemple en lâchant des mélanges de souches ayant des profils complémentaires.

### I.3 Les serres

Les expériences en serres ont dans un premier temps l'avantage de s'approcher de conditions expérimentales encore plus représentatives des conditions et dimensions de lâchers au champ. Elles demeurent néanmoins plus confortables puisque les serres dans lesquelles nous avons effectué les lâchers étaient contrôlées pour les variables d'hygrométrie et de température. Nous n'avons donc pas pleinement été confrontés à une variabilité environnementale des plus grandes. Ensuite, il est important de noter qu'afin de faire des lâchers, au champs ou en serres, il est nécessaire de choisir une culture à l'intérieur de laquelle les lâchers seront effectués. Dans le cas des expériences que nous avons réalisées, nous avons choisi de travailler sur des plants de poivrons, notamment avec l'objectif de limiter les effets des plantes sur la dispersion des trichogrammes (largement impactés par la présence de trichomes par exemple) (Romeis, Shanower, Zebitz 1998b; Wang et al. 2020 ; Faria, Fernandes, Farias 2008). C'est ici un cas particulier. Il est important de réaliser que l'évaluation de la dispersion sur d'autres plantes, en serres ou au champ, aurait pu nous donner des résultats bien différents et ainsi nous amener à formuler des conclusions tout aussi différentes.

Nous avons également choisi d'effectuer des lâchers sur des rangs et non dans un compartiment entier. Ainsi la dispersion des trichogrammes a essentiellement été évaluée en longueur et en hauteur mais non en largeur. Dans de nombreuses publications, nous trouvons souvent des designs de lâchers dans des espaces multidirectionnels (Bourchier, Smith 1996b; Bueno, Parra, Bueno 2012; Gardner et al. 2012 ; Wang et al. 2022b ; Chapman et al. 2009). Nous pourrions donc supposer que cela représente un biais dans l'évaluation de la dispersion. Néanmoins ce biais est assez minime car un tel design est en fait, relativement cohérent avec l'organisation spatiale d'une culture de poivrons sous serres, en maraîchage. En effet, l'écartement moyen entre les rangs pour une telle culture est d'un mètre (Ladrangé *et al.*, 2013), il y a donc très peu de contact entre les plants de poivrons des différents rangs, ce qui limite la dispersion des trichogrammes entre les rangs.

### I.4 Lien entre les échelles

Le premier point de vigilance qui vient à l'esprit lorsque l'on pense à un transfert d'échelle, c'est la variabilité des conditions biotiques et abiotiques entre les différentes échelles, notamment dans le cadre du mouvement et de la dispersion chez les insectes. En effet, les insectes et notamment les trichogrammes, sont sensibles à un ensemble de facteurs comme la température (Foerster et Foerster, 2009) ou l'humidité (Keller *et al.*, 1985) et la densité des individus par exemple (Ayvaz *et al.*, 2008), comme cela a été précisé plus en détails en introduction (Partie IV.2). Par conséquent, il est aisé de supposer que si ces paramètres varient d'une échelle à l'autre alors l'impact sur les variables mesurées peut-être tel que la solidité des corrélations entre les variables s'en trouve impactée. Dans le cadre des expériences que j'ai menées aux différentes échelles, assurer l'homogénéité de paramètres comme la température ou l'humidité n'était pas facile. En effet, pour les arènes en double spirale par exemple, un humidificateur était présent dans la pièce d'expérimentation afin de la maintenir à 60% d'humidité. Ainsi, pour chaque expérience l'humidité de la pièce était stable mais qu'en était-il de l'humidité effectivement présente dans la spirale ? Nous n'avions pas de capteur suffisamment petit pour y accéder. De plus, l'humidité de la salle d'expérimentation pour les petites arènes, était quant à elle de 30%, soit deux fois moins que celle des arènes en double spirale. Cela a pu impacter les dynamiques de mouvement des trichogrammes, probablement en ralentissement leurs mouvements, bien qu'il ait été montré que cela ne semblait se produire qu'à des humidités inférieures à 30% (Boldt, 1974). Les trichogrammes ont été exposés à des taux d'humidité encore différents dans les serres allant de 55 à 81.2% entre 2021 et 2022. La température a également constitué une potentielle source de variabilité. Entre les petites arènes et les arènes en double spirale, les différences étaient relativement petites notamment en 2022, année durant laquelle la température de travail a été fixée à 23°C et que celle des arènes en double spirale, du moins de la pièce encore une fois, était de 22°C. En revanche, les différences de température entre les arènes de laboratoire et les serres étaient plus élevées. En effet, en 2021, elles étaient d'environ 25°C et 27°C en 2022.

Ce ne sont pas les seules différences qui peuvent expliquer les difficultés à transférer les échelles entre elles. Un autre point est la présence d'œufs hôte. Les œufs d'*Ephesttia kuehniella* étaient présents dans les arènes en double spirale ainsi que dans les expérimentations sous serres mais ces derniers n'ont pas été utilisés dans les petites arènes. Ils ont été utilisés dans les serres puisque pour les trichogrammes, c'est la méthode principale pour rendre compte de leur dispersion à grande échelle, avec l'utilisation de pièges jaunes. Dans les spirales, la question de les utiliser s'est posée lors de la mise en place des protocoles expérimentaux. Finalement, nous

avons considéré leur utilisation comme une occasion de se rapprocher d'une lecture de la dispersion équivalente à celle obtenue sur le terrain. Dans les petites arènes, leur utilisation nous a paru moins évidente. Quelle disposition des œufs dans l'espace ? Quelle quantité ? Il se trouvait tout un nouveau pan de questions. Nous avons donc envisagé de ne pas les introduire dans ces petites arènes. Mais les questions demeurent : Les mesures des métriques relatives à la dispersion diffèreraient-elles en présence d'œufs ? Le cas échéant, quel serait l'impact sur la qualité du transfert d'échelle ?

Enfin, une dernière différence inhérente à l'utilisation d'œufs d'*Ephestia kuehniella*, notamment au laboratoire, est la surface sur laquelle les femelles trichogrammes se sont déplacés. En effet, afin d'introduire les œufs d'hôte dans les arènes en double spirale et de pouvoir y avoir accès après les expériences, ces derniers ont été collés sur des feuilles de papier calque. Les trichogrammes ne se sont donc pas déplacés sur la surface en PMMA mais sur les feuilles de calque dans les arènes en double spirale. A l'inverse, dans les petites arènes, la surface de contact était celle de la petite arène, soit la surface en PMMA. Or, les trichogrammes sont sensibles aux changements de surface tels que des variables comme leur vitesse ou la sinuosité de leurs mouvements s'en trouvent impactées (Introduction Partie IV.2). A cela s'ajoute aussi les potentielles différences de charge électrostatique des surfaces. Il a déjà été montré chez certains insectes comme les Pimplinelles à bandes blanches, trente fois plus grands que les trichogrammes (*Itopectis conquisitor*), qu'une augmentation de la charge électrostatique ralentit leur progression (Maw, 1961). Il se peut que d'une surface à l'autre, les trichogrammes aient été exposés à ce type de phénomène.

### I.5 Compromis entre longévité, fécondité et dispersion

J'ai proposé d'ouvrir ce manuscrit par la présentation des résultats relatifs à la caractérisation classique des souches de trichogrammes que j'ai étudiées, via une mesure de leur longévité et de leur fécondité avant d'aborder des métriques plus originales. Je n'ai pas confronté les deux catégories de résultats notamment parce que je n'ai pas la certitude que les souches, d'une expérience à l'autre, soient effectivement comparables. Néanmoins, il est important de considérer le lien, souvent mis en avant, entre ces deux traits d'histoire de vie et la dispersion.

Etant donné que la dispersion engendre un coût énergétique important (Bonte *et al.*, 2012), le développement de cette dernière engendre souvent des contrecoups sur d'autres traits relatifs à la fitness des individus notamment sur la fécondité par exemple. Ce constat est

majoritaire dans la littérature. En effet, dans la revue de Tigreros et Davidowitz, 2019, sur les 68 études recensées regroupant 51 espèces d'insectes différentes, quasiment 60% d'entre elles témoignent d'un compromis entre fécondité et dispersion. Ce lien a largement été étudié chez les insectes ailés. Par exemple, chez la Cicadelle des marais salés *Prokelisia dolus* (Hemiptera : Delphacidae), les mâles adultes incapables de voler, les brachyptères, présentent une charge de sperme plus importante que celle des mâles adultes migrants, les macroptères (Langellotto *et al.*, 2000). Le criquet constitue également un organisme modèle pour l'étude de cette question. Plusieurs travaux ont montré que les femelles aux petites ailes produisent plus d'œufs que les femelles aux longues ailes (Roff, 1984). Le plus intéressant est qu'ils ont également identifié une étude et une seule réalisée sur les trichogrammes, et en particulier *T.brassicae*, traduisant une corrélation négative entre la fécondité et la charge alaire due à des individus plus grands (Kishani Farahani *et al.*, 2016). Dans le cadre des expériences et des résultats qui ont été obtenus pendant ma thèse, et de façon qualitative seulement, il ne semble pas exister, a priori, de compromis entre fécondité et dispersion. D'abord, si nous prenons par exemple, les souches présentant les déplacements quadratiques moyens les plus petits dans les serres, nous pouvons citer : ACJY144, BL103b, et ISA1075, nous pourrions nous attendre, d'après les résultats majoritairement rapportés dans la littérature, à retrouver ces souches dans celles ayant les meilleurs résultats de fécondité. Or, ce n'est pas le cas. Les souches les plus fécondes apparaissent être : PJ, ISA1067 et Citron. L'inverse se constate aussi entre les souches qui dispersent le plus i.e. TCVigne TSM008 et ISA1067 et les moins fécondes : GOT0130, MES008 et BL103b. Aucune tendance à un compromis ne semble exister lorsque l'attention est cette fois portée sur les performances de dispersion des souches au laboratoire plutôt que dans les serres. Cette question du compromis entre dispersion et fécondité mérite d'être plus largement étudiée chez les trichogrammes afin de ne pas réfléchir chacun de ces traits séparément, mais toujours de façon associée pour ne pas commettre des erreurs de sélection pour la mise en place de stratégies de lutte biologique. Historiquement, certains lâchers ont échoué car malgré des fécondités très satisfaisantes, sur le terrain, les trichogrammes dispersaient très peu (Smith, 1996). Cela peut évidemment être compensé par la mise en place de nombreux points de lâcher mais le coût financier et la charge de travail augmentent alors pour les utilisateurs.

## I.6 Les enjeux de l'élevage intensif

Ma thèse a été l'occasion d'éprouver et de questionner les avantages et les limites de l'élevage intensif des trichogrammes au laboratoire. La découverte d'une contamination au

sein de l'élevage m'a fait m'interroger sur les probabilités que des souches se mélangent entre elles au sein même de mon élevage, sans source de contamination extérieure. Dans l'état actuel des pratiques de routine, et au vue des quantités que j'ai été amenée, ainsi que les deux stagiaires qui m'ont accompagnée, à manipuler, les probabilités que les souches se mélangent semblent difficilement négligeables et cela notamment à cause d'une pratique que je décris ci-après. A chaque émergence de trichogrammes i.e. les femelles sont sorties et remplissent les tubes, nous procédions à la préparation de bandelettes d'œufs hôtes à parasiter qui étaient successivement introduites dans les tubes. Les tubes de chaque souche étaient regroupés. Nous ne manipulions donc pas les souches de façon mélangée. Mais à chaque ouverture de tube, malgré toutes les précautions et la délicatesse de manipulation, de nombreux trichogrammes peuvent à ce moment-là sortir du tube, en marchant ou en volant ! Elles se retrouvaient ainsi dans des zones qui nous échappent, ou demeurant sur une manche, sur un doigt et étant, par conséquent, potentiellement disponibles pour contaminer un autre tube de trichogrammes. Je n'avais jusqu'alors pas questionné cette pratique. Mais ayant identifié cette manipulation dans les différentes étapes de l'élevage des trichogrammes, comme étant particulièrement sensible, j'ai imaginé une nouvelle stratégie de gestion de l'élevage qui pourrait réduire ces risques de mélange et ainsi assurer la stabilité du matériel génétique : remplir les tubes avec des bandelettes d'œufs à parasiter avant que les femelles trichogrammes n'aient émergé. Jusqu'à présent nous attendions que la majorité de celles-ci soit sortie dans un soucis de synchronicité des pontes et ainsi des prochaines émergences. Nous pourrions utiliser les stratégies d'élevage souvent mises place pour les lâchers afin d'assurer cette synchronicité tout en travaillant avec des tubes encore vierges de femelles émergées. La température d'élevage de 13°C permet notamment de ralentir très fortement les femelles prêtes à émerger et permet aux autres trichogrammes de continuer leur développement. Ainsi, une fois ce passage à 13°C effectué, et les bandelettes à parasiter introduites, nous pourrions passer l'ensemble des tubes d'élevage à 25°C pour ainsi créer ce que l'on appelle une émergence « explosive ».

## II- Perspectives générales

### II.1 Le jeu d'échelles replacé dans le contexte agronomique

Nous pouvons nous demander comment utiliser les résultats mis en avant dans un contexte agronomique. En effet, est-il plus judicieux de choisir des souches qui vont loin et qui parasitent peu ou des souches qui se dispersent de façon moyenne mais parasitent bien ? Le premier profil pourrait être plus problématique notamment sur la question des effets non

intentionnels par exemple (Barratt *et al.*, 2010 ; Loomans, 2021 ; Wright *et al.*, 2001). En effet, une souche qui disperse de façon effective, voire peut-être trop, à tel point que les individus de cette souche pourraient se trouver hors du champ à traiter peut constituer un risque, et cela d'autant plus, si les femelles de cette souche présentent une bonne fécondité (même si les études de compromis suggèrent que cela est peu probable, les données sont encore limitées à ce sujet en ce qui concerne les trichogrammes), et si les conditions environnementales le permettent, elles pourraient facilement s'installer dans le paysage dans lequel elles ont été lâchées et avoir des conséquences négatives pour certaines niches écologiques et ainsi représenter une menace pour la diversité locale (De Clercq *et al.*, 2011 ; Hajek *et al.*, 2016), notamment via une éventuelle compétition entre les trichogrammes lâchés et les espèces endémiques (Hopper, 2001) ou encore via l'infestation d'insectes non cibles (Pemberton et Cordo, 2001).

Aussi, afin de pouvoir conclure et faire des choix sélectifs entre espèces ou souches sur ces traits phénotypiques, il est nécessaire de s'assurer de la réponse de ces traits au temps passé par les femelles trichogrammes dans des conditions de laboratoire. En effet, si ces traits sont sensibles au temps passé au laboratoire, cela pourrait compromettre le transfert d'échelle au fil des générations. Avec le temps, il serait possible qu'en fait, nous mesurons la façon dont les femelles répondent à l'environnement de laboratoire. En effet, peut-être qu'elles pourraient présenter des comportements relatifs à de l'apprentissage, notamment dû au fait qu'elles sont exposées à des œufs à parasiter d'une façon qui ne leur demande quasiment aucun effort d'exploration du milieu et cela dans un espace très petit. L'apprentissage peut être proposé comme hypothèse puisque celui-ci a été démontré à plusieurs reprises avec l'étude des réponses de différentes espèces de trichogrammes à des kairomones (Bjorksten et Hoffmann, 1998 ; Kaiser *et al.*, 1989). Les femelles de la génération mère pourraient ainsi acquérir des traits comportementaux relatifs à leur environnement et les transmettre à la génération fille (Fallet, 2019). Ainsi, si les métriques que nous avons étudiées s'avèrent être visiblement impactées par l'élevage intensif, peut-être faudrait-il utiliser ces métriques plutôt comme un contrôle qualité de l'état des souches que comme des métriques de screening. Par exemple, il a été montré que les capacités de vol notamment sont directement impactées par les conditions d'élevage de masse (Bigler *et al.*, 1997). Mais étant donné que les métriques étudiées ici sont différentes peut-être ne réagissent-elles pas si fortement au temps passé au laboratoire, dans ce cas, elles peuvent permettre de tirer des conclusions plus certaines et ainsi d'effectuer des choix effectivement relatifs à un objectif de sélection.



Mais les perspectives présentées quant au choix des souches ou des espèces selon leur capacité à disperser à partir d'expériences au laboratoire, n'est envisageable que si un lien existe entre les expériences de laboratoire et le terrain. Dans le cadre de ma thèse, nos expériences ne nous permettent pas de mettre en avant l'existence d'un tel lien. De nombreuses raisons ont été discutées. La question qui se pose maintenant est donc quelles modalités expérimentales pourraient être envisagées pour parvenir à lier les différentes échelles entre elles ? Il faudrait peut-être mettre en place des expériences dont le dimensionnement s'approche du terrain, mais non pas seulement en longueur comme nous parvenons à le faire avec un dispositif comme l'arène en double spirale mais aussi en hauteur. Et qui de plus, a une complexité de structure et de surface similaire à celle que rencontreront les trichogrammes une fois lâchés sur le terrain. Pour cela, un microcosme constitué de plantes, inspiré des études en cage sur le terrain (Ashley *et al.*, 1973 ; Babendreier *et al.*, 2003a), pourrait servir de module d'étude i.e. dans un système de cage par exemple avec seulement deux ou trois plantes et des œufs d'hôte à parasiter.

## II.2 Gestion des élevages

Les réflexions précédemment menées sur les choix expérimentaux et leurs conséquences sur les conclusions pouvant être tirées des études menées, posent la question de la stabilité du matériel génétique, comme nous avons commencé à l'aborder dans « le jeu d'échelles replacé dans le contexte agronomique ». L'élevage intensif des trichogrammes peut entraîner une perte de diversité génétique via une adaptation aux conditions contrôlées du laboratoire (Bertin *et al.*, 2018 ; Hopper et Roush, 1993). Chez *T.brassicae* par exemple, après seulement 20 générations élevées sur des œufs d'*Ephestia kuehniella*, c'est le taux de parasitisme qui s'est vu diminuer de façon significative. Ensuite, après 35 générations, une diminution significative de la longévité des individus a été constatée (Ghaemmaghami *et al.*, 2022). Dans un cadre de projet de recherche sur plusieurs années ou même de production industrielle, une façon de palier à ce problème est de parvenir à diminuer le nombre de générations nécessaires pour le maintien des espèces et des souches d'intérêt. Pour ce faire, plusieurs stratégies peuvent être mises en place. La première est l'induction de quiescence ou de diapause, celles-ci ayant déjà été démontrées sur plusieurs espèces de trichogrammes (Cherif *et al.*, 2021). Par exemple, il est possible de conserver pendant 49 jours à 10°C, les espèces : *T. achaeae*, *T. eldanae*, *T. chilonis* and *T. japonicum*, au stade nymphe (Jalali et Singh, 1992). Aussi, *T.cacoeciae* peut être conservée jusqu'à, un à deux mois à 3°C après une induction de diapause, sans conséquence négative sur leur fécondité (Pizzol et Pintureau, 2008). Nous pouvons également citer cette possible induction de diapause chez *T.evanescens* (Zaslavski et



Umarova, 1990), *T.cordubensis* (Ventura Garcia *et al.*, 2002), ou encore chez *T.ostrinia* (Pitcher *et al.*, 2002). Par conséquent, lorsque les expériences sont suspendues d'une année à une autre par exemple, au lieu d'entretenir les souches en élevage régulier, il pourrait être envisagé d'opter pour une mise en diapause afin de limiter le nombre de générations entre les différentes périodes expérimentales.

Une deuxième façon simple de contourner les baisses de performances liées à l'élevage en laboratoire est de faire varier les conditions d'élevage. Cela en travaillant par exemple sur des élevages à une ou deux températures avec des variations de température fréquentes ou encore sur la durée des cycles jour/nuit (Hawlitzky, 1982). Ainsi, cela induirait de l'hétérogénéité dans les pressions de sélection qui pourrait peut-être limiter les impacts des conditions de laboratoire sur les trichogrammes.

Enfin, une autre manière de ralentir l'élevage et ainsi d'assurer une conservation de l'état génétique des espèces et des souches étudiées pourrait être de développer la cryopréservation sur trichogramme. En effet, depuis les années 2000, le nombre d'essais concluants sur la cryopréservation d'insectes ne cesse d'augmenter (Leopold et Rinehart, 2010). Cela avait essentiellement commencé sur des embryons de la mouche domestique *Musca Domestica* en 2000 (Wang *et al.*, 2000). Le protocole a ensuite été adapté pour être probant sur plusieurs espèces de mouche dont *Cochliomyia hominivorax* (Leopold *et al.*, 2001) et d'autres comme *Anastrepha ludens* (Rajamohan et Leopold, 2007). Aujourd'hui, la cryopréservation représente un axe de recherche très prometteur pour les différents problèmes et enjeux posés par l'élevage en laboratoire. Mais celle-ci peut également s'avérer fort utile en s'inscrivant dans le contexte de l'évolution expérimentale par exemple, que je vous propose d'aborder dans le paragraphe suivant.

### II.3 La dispersion, des gènes aux phénotypes, vers l'évolution expérimentale

Les résultats de ma thèse nous laissent à penser que la dispersion est effectivement un trait qui pourrait servir, en partie, à sélectionner les souches et/ou les espèces en fonction de leurs performances, en plus d'être sélectionnées sur les traits d'usage que sont la longévité et la fécondité. Cela notamment parce que de la variabilité sur les métriques étudiées a été identifiée entre les différentes souches, même si elle reste assez faible en majorité, sauf pour quelques souches présentant des différences marquées et significatives. Cette variabilité pourrait être le résultat d'une variabilité génétique. Or, la variabilité génétique permet d'effectuer une sélection plus efficace, car elle permet de travailler avec des individus présentant des niveaux différents

de performance pour le trait à sélectionner (Lagarrigue et Tixier-Boichard, 2011). Il s'avère donc très intéressant et utile d'identifier les déterminants génétiques des phénotypes d'intérêt, dans le cas d'une héritabilité vérifiée. En effet, les mesures phénotypiques que nous avons effectuées demeurent coûteuses en temps, malgré le gain qu'elles représentent par rapport à des essais de terrain, et nécessitent des installations spécifiques. Ainsi, afin d'exploiter totalement la diversité des parasitoïdes, la connaissance des caractères génomiques comme proxies des caractères phénotypiques représente un vrai tremplin et viendrait combler une lacune dans l'état actuel des connaissances à ce sujet. En effet, les bases génétiques sous-jacentes à la dispersion sont largement sous-étudiées (Narimanov *et al.*, 2022). De plus, des résultats encourageants témoignant d'une variation génétique intéressante sur des traits de comportement ont déjà obtenus (Ferguson *et al.*, 2020). Par exemple, le taux d'activité ou encore le parasitisme sur le terrain sont des traits ayant présenté d'importantes variations entre différentes populations de *T.maidis* (Hopper *et al.*, 1993).

Un point indispensable pour que certains traits d'intérêt en lutte biologique fassent l'objet d'un processus de sélection est une importante héritabilité i.e. la proportion de la variation phénotypique totale observée entre les individus qui peut être effectivement allouée à de la variation génétique additive. Nous avons proposé une approche simplifiée de la quantification de la part de variabilité observée sur le Déplacement Quadratique Moyen notamment, dans notre publication dans Sci.Rep, en divisant la variance expliquée par le facteur « souches » par la somme totale de la variance et la somme des carrés de l'erreur résiduelle. Nous avons montré que sur cette métrique, que 42% de la variabilité observée était attribuable au facteur « souches » et donc potentiellement à de la génétique. Or ce calcul ne correspond pas à l'héritabilité au sens rigoureux du terme. Pour cela, il aurait fallu utiliser des méthodes de calcul comme celles proposées par le package rptR (Stoffel et Schielzeth, 2017), méthode qui a par exemple été appliquée sur des traits de personnalité de *T.evanescens* (Lartigue *et al.*, 2022). Dans la littérature, l'héritabilité de traits relatifs à du comportement a déjà fait l'objet d'estimation. Néanmoins, il semble commun que les traits relatifs au comportement comme l'exploitation d'une surface par unité de temps présentent une héritabilité moindre, souvent autour de 30%, que celle des traits morphologiques ou physiologiques (Lartigue *et al.*, 2022 ; Narimanov *et al.*, 2022 ; Wajnberg et Colazza, 1998). Afin de considérer ces approches génétiques dans le cadre de la sélection des agents de lutte biologique, il faut déterminer si les traits candidats sont donc effectivement héréditaires et en cas d'héritabilité, comprendre les déterminants génétiques de la variation phénotypique observée. Combien de gènes sont

impliqués ? où sont-ils localisés ? La similarité génétique est-elle un bon prédicteur de la similarité phénotypique ? Ces questions doivent impérativement trouver réponses pour faire de ces traits phénotypiques relatifs à la propagation spatiale des individus, des outils de sélection et pourquoi pas parvenir un jour à développer de l'évolution expérimentale (Kawecki *et al.*, 2012 ; Lirakis et Magalhães, 2019).

La dispersion a déjà fait l'objet de tentative d'évolution expérimentale sur *Harmonia axyridis* contre les pucerons. Le but était de produire des coccinelles qui se dispersaient peu afin que celles-ci restent plus longtemps sur les plantes dans le but d'assurer un meilleur contrôle des pucerons (Ferran *et al.*, 1998 ; Seko *et al.*, 2008). Mais pour assurer la bonne compréhension des processus génétiques en œuvre au cours de tests d'évolution expérimentale, il est nécessaire de pouvoir conserver à des temps donnés, l'état génétique des populations pour les comparer a posteriori à des populations ayant évolué. On peut vouloir être capable d'avoir accès aux premières populations pour les faire interagir avec les secondes par exemple afin de tester certaines questions biologiques comme des compatibilités reproductives, entre autres (Rincon Lopez, 2006). Dans un tel contexte, la cryopréservation pourrait être utile.

#### II.4 La notion de syndrome comportemental de dispersion

Dans les travaux de ma thèse, nous n'avons pas étudié de caractères morphologiques ou physiologiques. Or, il peut exister des corrélations entre les traits liés à la dispersion des individus et d'autres traits, morphologiques ou physiologiques notamment, pouvant sembler plus secondaires, c'est ce que l'on appelle le syndrome comportemental de dispersion (Clobert *et al.*, 2009). Par exemple, des comparaisons entre sept espèces de coccinelles d'Amérique du Nord ont montré que les deux espèces les plus grosses, étaient celles qui présentaient également les meilleures capacités de colonisation du milieu (Hemptinne *et al.*, 2012). Des résultats similaires ont été constatés chez le carabe *Merizodus soledadinus*, tels que les individus dispersant le plus loin ont présenté des tailles corporelles plus grandes (fémur, thorax, abdomen et tête) (Laparie *et al.*, 2013). Tout comme pour les organismes précédemment cités, des corrélations entre des traits morphologiques et des variables de comportement ont été mises en avant chez *Trichogramma evanescens*. En effet, les lignées isofemelles présentant des vitesses moyennes de déplacement relativement élevées par rapport à d'autres, ont également des tibias plus grands. Ce résultat semble plutôt intuitif : avec des tibias plus grands, il est plus aisé de parcourir de plus grandes distances dans un temps limité (Lartigue *et al.*, 2022). L'existence potentielle d'un tel syndrome met en perspective les résultats obtenus sur les métriques de dispersion. En effet, s'il est possible d'identifier des caractères morphologiques par exemple,

très fortement corrélés aux performances dispersives des souches étudiées, alors le processus de sélection pourrait se faire non plus sur les métriques relatives au mouvement et à la dispersion mais sur les traits morphologiques, si la mesure de ces derniers est finalement plus simple et moins chronophage. De plus, l'héritabilité des traits morphologiques ou physiologiques étant souvent plus importante que celle des traits relatifs au comportement (Wajnberg, 2004), il serait plus simple de les utiliser dans un processus de sélection. Ces caractéristiques rendraient effectivement compte des potentielles performances des trichogrammes concernant leur dispersion, et cela de façon détachée des facteurs environnementaux de grande influence sur les métriques liées à cette dernière.

## II.5 Vers de la modélisation

### *Estimation de la dispersion à partir de différents proxies*

Dans le cadre de mon travail, la métrique principale que nous avons utilisée pour qualifier la dispersion est la distance quadratique moyenne (Mean Squared Displacement en anglais). Cette variable a été mise en équation sous le nom de Net Squared Displacement et notée  $\overline{R_n^2}$  dans l'équation ci-dessous, telle qu'elle peut être modélisée à partir de métriques relatives au mouvement des individus étudiés dans le cadre d'une marche aléatoire corrélée (Kareiva et Shigesada, 1983). Ces métriques peuvent être obtenues à partir d'un suivi automatique des individus comme celui que nous avons réalisé dans les petites arènes. L'équation de la variable  $\overline{R_n^2}$  fait intervenir les variables suivantes : la longueur moyenne d'un pas ( $m_1$ ), la longueur au carré moyenne d'un pas ( $m_2$ ), le cosinus moyen de l'angle de rotation ( $\Psi$ ), le sinus moyen de l'angle de rotation ( $s$ ), et le nombre de pas ( $n$ ) et la variance de la vitesse de déplacement ( $var(m) = m_2 - m_1^2$ ). Dans le cas, d'une distribution symétrique des rotations à droite et à gauche et d'un nombre de pas très grand, Peter Turchin dans son ouvrage (Turchin, 1998) propose une équation faisant intervenir l'ensemble des variables précédemment citées, sans le sinus. Ici se trouve la version corrigée de cette équation (Calcagno, 2023):

$$\overline{R_n^2} \approx n \left( var(m) + m_1^2 \left( 1 + \frac{2\psi}{1 - \psi} \right) \right)$$

Avec l'aide du tracking automatique des individus dans les petites arènes et des performances de calcul, nous avons accès à l'ensemble des variables nécessaires pour l'application d'une telle équation. Nous pourrions ainsi à partir de vidéo phénotypage automatisé, inférer directement des métriques comme le Déplacement Quadratique Moyen. Néanmoins, les conditions

d'application de cette équation restent encore à discuter. De plus, nous avons considéré que du développement mathématique était encore nécessaire avant de pouvoir envisager sereinement et dans un cadre solide, une telle approche. Aboutir à ce type de modèle est très prometteur. En effet, si ces derniers nous permettent d'obtenir des mesures significativement liées à ce qui peut être mesuré sur le terrain, alors cela serait même plus efficient que les expériences développées dans les arènes en double spirale. Les petites arènes sont des structures encore plus simples avec des temps d'expérimentation bien plus courts.

Malgré son intérêt de prime abord, l'équation de Turchin repose sur l'hypothèse que le mouvement des individus est aléatoire. Cette hypothèse semble recevable dans des cas où il n'y a aucun stimulus extérieur, mais cela est finalement rare. De plus, le mouvement des trichogrammes comme celui de beaucoup d'autres insectes peut être assez méandreux suggérant une autocorrélation entre les pas (Blanche *et al.*, 1996). D'autres modèles existent et permettent de considérer ces phénomènes d'autocorrélation. Par exemple, c'est le cas du processus d'Ornstein-Uhlenbeck qui est une marche aléatoire auto corrélée dans laquelle deux composantes, l'une déterministe et l'autre stochastique, interagissent (Dunn et Brown, 1987). De plus, avec l'hypothèse de Turchin basée sur une marche aléatoire corrélée, c'est-à-dire que l'individu se déplace toujours sous le même régime, nous ne prenons pas en compte le fait que les individus présentent en fait au moins deux régimes de mouvement :

Inactif : l'individu est au repos et ne se déplace pas.

Actif : l'individu se déplace en suivant une marche aléatoire corrélée.

Ainsi, l'équation pourrait encore se voir améliorée en considérant non pas une marche aléatoire corrélée mais un modèle de marche aléatoire corrélée composite, prenant en compte ces deux régimes (Reynolds, 2014).

### *Utilisation des Systèmes d'Information Géographique*

Les expérimentations de lâchers sur le terrain permettent de travailler sur des distances et des conditions qui sont très proches voir identiques aux conditions dans lesquelles les trichogrammes peuvent être utilisés. Néanmoins, par soucis de faisabilité, les distances sont parfois restreintes alors qu'il y a tout un intérêt à comprendre ce qu'il advient de la dispersion sur de grandes distances, aussi bien pour assurer la qualité des lâchers envisagés (Wang et Shipp, 2004) que pour traiter la question des effets non intentionnels (Babendreier *et al.*, 2005). Afin de palier à cela, il est possible d'envisager le calcul de la distribution spatiale du

parasitisme des trichogrammes sur le terrain à partir d'analyses géostatistiques, par exemple en utilisant la méthode du krigeage (Oliveira *et al.*, 2020). Par rapport aux modèles statistiques classiques cette méthode présente l'avantage d'être basée sur l'autocorrélation, c'est-à-dire le principe selon lequel les choses qui sont les plus proches se ressemblent davantage que les choses qui sont éloignées (Vieira *et al.*, 1983). Dans le cas de mesures de parasitisme distribuées dans l'espace, cette considération est tout à fait adéquate et nécessaire (Rossi *et al.*, 1992). Il est ainsi possible d'interpoler et d'extrapoler le parasitisme des trichogrammes à différentes distances, pouvant être lointaines, à partir de données récoltées sur de plus courtes distances. Si celles-ci sont suffisamment nombreuses, les estimations par la méthode de krigeage pourront être obtenues avec une bonne précision et représentées sous la forme de cartes de parasitisme comme l'ont fait Oliveira et al. 2020.

## II.5 Réflexions : le doctorat c'est accomplir et s'accomplir en tant que scientifique

Il y a, dans la pratique de la recherche, moult valeurs et émotions qui m'ont accompagnée, et qui, à mes yeux, la rendent enthousiasmante. L'excitation lorsque le projet commence, lorsque les premières questions se posent, que les premières stratégies pour y répondre prennent vie. Il y a la peur d'échouer. La sensation d'Eurêka, aussi unique que le goût umami. La déception et la tristesse en cas d'échec effectif. Mais il me semble que ce mot n'est pas de convenance. Il n'y a pas d'échec, je le crois. Il n'y a que de beaux apprentissages, un peu rudes, parfois. Et pour traverser les rivières et leur tumulte, l'équipage est indispensable, et le mien s'est agrandi et/ou renforcé au cours de mon aventure en thèse. Je vous propose, d'en faire la connaissance.

Accomplir ma thèse en « Biologie des Interactions et Ecologie » a été pour moi l'occasion de produire des résultats nouveaux, riches de discussions et de perspectives dans le domaine de l'agronomie, et plus particulièrement de la lutte biologique. Mais cela est bien loin d'être le seul achèvement de ces trois ans de thèse. En effet, ces trois années de recherche m'ont permis de me définir en tant que scientifique. Je n'ai pas seulement mis en place des protocoles, récolté des données, compté des œufs noirs sur des patchs (995 376 œufs dénombrés sur deux ans), fait pousser des plants de poivrons, fait des analyses statistiques et découvert de nouvelles méthodes, travaillé main dans la main avec deux stagiaires de M2, grandement impliqués, présenté mon travail avec des posters ou des oraux, et j'en passe. Pendant ma thèse, j'ai aussi eu l'occasion de regarder d'un peu plus haut la recherche que j'accomplissais, de philosopher un peu sur ce qu'elle représente et d'ajuster en conséquence la trajectoire de mon chemin. Je vous propose ici d'emprunter le chemin de ces réflexions, car il me semble qu'être docteur, ce

n'est pas seulement produire des résultats, c'est bien plus. J'ai envie que ce « plus » ait lui aussi droit à ses mots à l'intérieur de ce manuscrit. Alors commençons.

D'abord, j'ai pu réaliser que l'ouverture d'esprit, l'humilité ainsi que la bienveillance étaient des clés pour profiter au mieux de collaborations enrichissantes. En effet, je me suis donné l'opportunité, non seulement d'échanger avec mes encadrants mais pas seulement. Ouvrir mes discussions scientifiques à d'autres collègues de l'institut notamment, m'a permis de prendre conscience de la diversité des opinions, des réflexions qui peuvent être soutenues pour un même sujet ou une même question. De plus, il convient effectivement de rester humble et sans a priori lorsqu'un échange, technique, théorique, pratique, est envisagé avec quelqu'un d'autre, peu importe son poste, son âge, sa formation, ou je ne sais quel critère encore, car cela permet ainsi de recevoir pleinement les idées que les autres ont à proposer, et d'en discuter avec nuance et parcimonie, sans prétendre avoir le mot absolu, la solution parfaite, ou vouloir avoir le dernier mot. J'ai pris soin de conserver ces valeurs et même de les développer car elles sont de vrais moteurs dans la recherche, mais au-delà aussi. Lorsque ces valeurs s'effritent et laissent place à la guerre des egos, alors les avancées sont ralenties, et nous oublions les raisons premières pour lesquelles la recherche a un sens. Personnellement, je veux chercher, essayer, trouver, recommencer, non pas pour la renommée, mais pour toutes celles et ceux qui en ont besoin. Il me semble que mener des recherches avec cet état d'esprit, est d'autant plus indispensable dans le domaine de l'agronomie. Celles et ceux qui aujourd'hui ont les mains dans la terre et les pieds dans les bottes, ont besoin de solutions et d'accompagnement pour s'inscrire dans la transition agroécologique, et cela de façon aussi rapide et efficace que possible. De plus, il m'apparaît indispensable de faire preuve d'humilité encore une fois, pour travailler main dans la main avec les agricultrices et les agriculteurs. Il m'est inconcevable d'établir des collaborations en se positionnant en tant que sachant. L'échange doit se faire à hauteur égale, peu importe si les pieds sont au laboratoire ou dans des bottes crottées.

L'autre dimension que j'ai pu identifier comme véritable pilier de la recherche, et de sa pérennité, est celle de la pédagogie et de la transmission. En effet, la recherche se réfléchit au passé, au présent, mais surtout au futur. Et ce futur implique notamment les générations à venir. Quoi de plus beau et satisfaisant que de voir les regards s'éveiller face à des histoires de guêpes extraordinaires qui sauvent les cultures par exemple ! J'ai eu la chance de connaître cette satisfaction et ces moments de partage, d'abord lors d'événements de vulgarisation scientifique, comme la Fête de la Science ou la Nuit des Chercheurs, et je citerais même Ma Thèse en 180s : un amphithéâtre avec une centaine de paires d'yeux, un peu éteints, et puis au fur et à mesure



que les dizaines de secondes passaient, les yeux s'illuminaient, s'écarquillaient même parfois, le message passait, il se transmettait, à la fin les trichogrammes étaient connus, leur rôle aussi, et des idées ont peut-être commencé à germer dans la tête des plus petits, comme dans celle des plus grands. La pédagogie, j'y ai surtout fait appel lorsque j'ai encadré Mathias et Morgane, deux stagiaires de M2, avec qui j'ai eu la chance de travailler. En considérant leur parole avec une valeur égale à la mienne, je me suis laissée surprendre par leurs questions, leurs idées et réciproquement. Les doutes qu'ils pouvaient avoir, les erreurs commises n'étaient jamais mis sous le tapis, mais bien au contraire, éclairés à la lumière du jour et discutés ensemble, toujours, avec bienveillance. Valoriser les élèves, les collègues, toute personne qui nous accompagne sur le chemin de la recherche, c'est indispensable pour que la motivation et la fidélité soient deux mots qui s'unissent pour le meilleur et pour le pire. Ainsi, dans des climats de confiance, il est plus aisé de corriger les trajectoires de recherche, d'analyse et ainsi d'aller plus loin.

Ensuite, je voudrais mentionner l'intégrité scientifique sans laquelle la recherche et sa visibilité se trouvent menacées. Dans le cadre de mes expériences, des résultats peu satisfaisants, relativement aux hypothèses qui ont été émises au départ, sont apparus. Dans des cas comme celui-ci, la falsification de données par exemple, peut devenir un véritable pacte faustien. Or, j'ai toujours eu à cœur de démontrer transparence et honnêteté. Je préfère proposer des résultats moins solides, moins satisfaisants, a priori, et en discuter les tenants et les aboutissants, plutôt que de manipuler à outrance mes données avec un espoir de les « faire parler » avec des outils statistiques parfois capillotractés. Je profite de cette mention de l'intégrité scientifique pour préciser que lorsque je m'exprimais plus haut concernant la recherche et la place de l'ego, je mentionnais sans le dire, une des valeurs admise de l'intégrité scientifique : l'indépendance. L'indépendance relève du fait que la recherche doit être menée sans volonté de poursuite d'intérêt personnel, mais au contraire, avec la volonté de porter l'intérêt du service public et de celles et ceux pour qui les questions de recherche sont traitées. En effet, cela est indispensable au bon fonctionnement et à l'avancée efficiente des projets. J'ai pu constater par moi-même que parfois des collaborations ou des échanges ne voient pas le jour car la poursuite de l'intérêt pour sa propre carrière passe avant. J'ai à cœur dans ma future carrière professionnelle, de tout faire pour soigner mes collaborations et l'intérêt d'une communauté avant le mien. Il me semble également que l'intégrité scientifique est menacée par le fait, rappelé très justement par Françoise Simon-Plas, directrice de recherche et déléguée à la déontologie, à l'intégrité scientifique et à l'éthique des projets de recherche à INRAE, lorsqu'elle est intervenue le 30 Juin 2023 à l'Institut Sophia Agrobiotech, que la publication



n'est plus considérée, et cela à tort, comme un moyen mais comme un but. Je veillerai durant ma carrière à ne jamais considérer la publication comme un but mais bien comme un moyen, à ne pas la considérer comme une gloire. La publication a pour but de diffuser l'information pour que toute la communauté scientifique puisse avancer et faire avancer la recherche en bénéficiant d'efforts collectifs. Cette bascule de la façon dont la publication est considérée, je l'ai aussi constatée. Une revue, un journal où publier ses résultats est choisi en entendant comme premier argument le renom, le prestige. Mais le prestige d'un journal n'est pas toujours associé à la meilleure visibilité pour le type de résultats que nous voulons publier, ou le public, le cercle scientifique que nous voulons toucher. Ce trouble dans la considération de la publication est quelque peu encouragé par la condition sine qua non de publier pour pouvoir soutenir sa thèse par exemple. Cette décision s'entend comme un gage d'une production suffisante de résultats au cours de la thèse et comme le reflet d'un travail bien mené rendant donc possible la publication. Mais la publication a ses travers, et ceux-ci viennent entacher ce gage de qualité. En effet, dans le cadre de projet où seuls des résultats négatifs viendraient à être produits, le processus de publication pourrait devenir bien plus compliqué et pourtant le processus de recherche en lui-même, mené par le ou la doctorant·e et son équipe n'en n'est pas moins bon. Ainsi, j'ai à cœur, dans le futur, de porter au grand jour, les résultats négatifs comme les positifs. Il me semble inepte de ne pas considérer autant les résultats négatifs que les positifs. En effet, savoir qu'une expérience n'a pas fonctionné, ou que les résultats sont surprenants, est utile à l'entièreté de la communauté scientifique. Regardés à travers le prisme de la relativité, ils pourraient conduire à des cas concrets de sérendipité. D'ailleurs la dichotomie entre positif et négatif, ne viendrait-elle pas du fait que trop souvent il est dit de valider l'hypothèse plutôt que de la tester ? Ce dernier point me permet de rejoindre le propos que je tenais en ce début de paragraphe : l'intégrité scientifique menacée par la manipulation de données. En effet, dans le processus classique de construction d'une réflexion scientifique, une question de recherche est posée et des hypothèses à tester sont émises. Mais elles sont parfois émises avec tant de conviction et tant d'obstination à les soutenir avec des références bibliographiques, qu'on peut imaginer qu'il soit difficile par la suite, de travailler avec neutralité face aux résultats qui commencent à apparaître. Aborder une question scientifique avec initialement plus de neutralité, pourrait contribuer à réduire cette zone grise dans les pratiques de la recherche et ainsi assurer une meilleure préservation de l'intégrité scientifique.

Pour finir, un autre aspect que j'ai pu identifier comme primordial et dans lequel je me suis investie via diverses formations et projets au sein de l'unité de l'Institut Sophia

Agrobiotech, mais aussi à l'échelle de l'école doctorale : le management ainsi que le bien-être au travail et pour le travail. En effet, je considère que, la recherche ou le travail de façon plus générale, ce sont d'abord des femmes et des hommes, qui sauront donner le meilleur d'elles et d'eux-mêmes, seulement si elles et ils se sentent soutenus, reconnus, considérés. Cela passe d'abord par une bonne communication, une écoute bienveillante, un respect des limites personnelles, propres à chacune et chacun. La passion ne peut-être la justification d'une intensité de travail telle que la vie personnelle est mise de côté, telle que la fatigue s'accumule au prix de l'efficacité finalement, et de la qualité relationnelle au sein d'une équipe par exemple. La recherche, je pense qu'elle doit, en plus de reposer sur de la rigueur et de l'intégrité, être fondée sur des liens sociaux forts. En effet, des liens de qualité favorisent l'envie d'échanger avec ses collègues, d'en apprendre davantage sur leurs opinions, sur leur savoir-faire. En revanche, lorsque des tensions naissent tout cela en pâti. Par conséquent, tous les bénéfices qui peuvent résulter d'avoir la chance de travailler au sein d'une communauté scientifique, à plus ou moins grande échelle, ne sont pas récoltés.

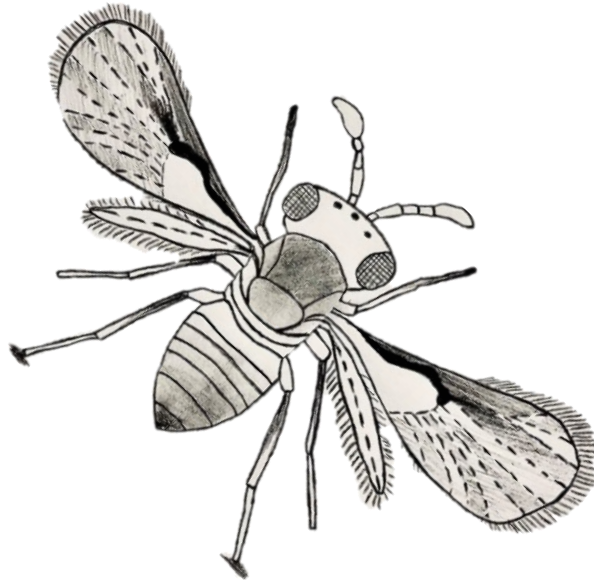
En conclusion, c'est avec toutes ces valeurs que j'ai essayé de mener au mieux mon travail durant ces trois années de thèse, me permettant ainsi de mettre en avant de nouveaux résultats et de nouvelles réflexions en lien avec la lutte biologique, tout en conjuguant épanouissement et enthousiasme. Je veux, dans le futur, participer au rapprochement de la recherche fondamentale et des applications plus pratiques dans le domaine de l'agroécologie, en maintenant ce cadre de travail.

Maintenant, les mots de la fin. J'ai commencé en exprimant des gratitude, je ferme désormais la boucle, en vous remerciant chaleureusement pour l'attention que vous avez portée à mon travail.



# Références bibliographiques

## hors articles





Ali, A. N. et Wright, M. G. (2021). Response of *Trichogramma papilionis* to semiochemicals induced by host oviposition on plants. *Biological Control*, 154, 104510. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104510>

Ananthkrishnan, T. N., Senrayan, R., Murugesan, S. et Annadurai, R. S. (1991). Kairomones of *Heliothis armigera* and *Coryca cephalonica* and their influence on the parasitic potential of *Trichogramma chilonis* (Trichogrammatidae: Hymenoptera). *Journal of Biosciences*, 16(3), 111-119. <https://doi.org/10.1007/BF02703363>

Andow, D. A., Lane, C. P. et Olson, D. M. (1995). Use of *Trichogramma* in Maize – Estimating Environmental Risks. Dans H. M. T. Hokkanen et J. M. Lynch (dir.), *Biological Control: Benefits and Risks* (p. 101-118). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511661730.012>

Ashley, T. R., Gonzalez, D. et Leigh, T. F. (1973). Reduction in Effectiveness of Laboratory-Reared *Trichogramma*. *Environmental Entomology*, 2(6), 1069-1073. <https://doi.org/10.1093/ee/2.6.1069>

Asplen, M. K. (2018). Dispersal strategies in terrestrial insects. *Current Opinion in Insect Science*, 27, 16-20. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.01.009>

Aulagnier, A. et Goulet, F. (2017). Des technologies controversées et de leurs alternatives. Le cas des pesticides agricoles en France. *Sociologie du travail*, 59(3). <https://doi.org/10.4000/sdt.840>

Ayvaz, A., Karasu, E., Karabörklü, S. et Tunçbilek, A. Ş. (2008a). Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Stored Products Research*, 44(3), 232-240. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.02.001>

Ayvaz, A., Karasu, E., Karabörklü, S. et Yilmaz, S. (2008b). Dispersal Ability and Parasitization Performance of Egg Parasitoid *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Field and Storage Conditions. *Turkish Journal of Biology*, 32(2), 127-133. <https://doi.org/>

Babendreier, D., Bigler, F. et Kuhlmann, U. (2005). Methods Used to Assess Non-target Effects of Invertebrate Biological Control Agents of Arthropod Pests. *BioControl*, 50(6), 821-870. <https://doi.org/10.1007/s10526-005-3633-3>

Babendreier, D., Kuske, S. et Bigler, F. (2003a). Parasitism of non-target butterflies by *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under field cage and field conditions. *Biological Control*, 26(2), 139-145. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00120-2](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00120-2)

Babendreier, D., Schoch, D., Kuske, S., Dorn, S. et Bigler, F. (2003b). Non-target habitat exploitation by *Trichogramma brassicae* (Hym. Trichogrammatidae): what are the risks for endemic butterflies? *Agricultural and Forest Entomology*, 5(3), 199-208. <https://doi.org/10.1046/j.1461-9563.2003.00180.x>

Bai, S., Wang, Z., He, K. et Im, D. (2011). Olfactory Response of *Trichogramma ostrinia*e (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to Volatiles Emitted by Mungbean Plants. *Agricultural Sciences in China*, 10(4), 560-565. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(11\)60037-0](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(11)60037-0)

Barratt, B. I. P., Howarth, F. G., Withers, T. M., Kean, J. M. et Ridley, G. S. (2010). Progress in risk assessment for classical biological control. *Biological Control*, 52(3), 245-254. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.02.012>

Batsleer, F., Bonte, D., Dekeukeleire, D., Goossens, S., Poelmans, W., Van der Cruyssen, E., Maes, D. et Vandegheuchte, M. L. (2020). The neglected impact of tracking devices on terrestrial arthropods. *Methods in Ecology and Evolution*, 11(3), 350-361. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13356>

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. et Birch, A. N. E. (2017). A functional overview of conservation biological control. *Crop Protection*, 97, 145-158. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.008>

Begon, M., Harper, J. L. et Townsend, C. R. (1986). *Ecology. Individuals, populations and communities.* Ecology. Individuals, populations and communities. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19870540497>

- Benedict, J. H., Leigh, T. F. et Hyer, A. H. (1983). *Lygus hesperus* (Heteroptera: Miridae) Oviposition Behavior, Growth, and Survival in Relation to Cotton Trichome Density. *Environmental Entomology*, 12(2), 331-335. <https://doi.org/10.1093/ee/12.2.331>
- Bertin, A., Pavinato, V. A. C. et Parra, J. R. P. (2018). Effects of intraspecific hybridization on the fitness of the egg parasitoid *Trichogramma galloi*. *BioControl*, 63(4), 555-563. <https://doi.org/10.1007/s10526-018-9883-7>
- Besançon, L. et Dragicevic, P. (2017). La Différence Significative entre Valeurs p et Intervalles de Confiance (p. 10). 29ème conférence francophone sur l'Interaction Homme-Machine. <https://inria.hal.science/hal-01562281>
- Bianchi, F. j. j. a, Booij, C. j. h et Tscharrntke, T. (2006). Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1595), 1715-1727. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3530>
- Biever, K. D. (1972). Effect of Temperatures on the Rate of Search by *Trichogramma* and Its Potential Application in Field Releases 2. *Environmental Entomology*, 1(2), 194-197. <https://doi.org/10.1093/ee/1.2.194>
- Bigler, F., Bieri, M., Fritschy, A. et Seidel, K. (1988). Variation in locomotion between laboratory strains of *Trichogramma maidis* and its impact on parasitism of eggs of *Ostrinia nubilalis* in the field. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 49(3), 283-290. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1988.tb01190.x>
- Bigler, F., Suverkropp, B. P. et Cerutti, F. (1997). Host Searching by *Trichogramma* and Its Implications for Quality Control and Release Techniques. Dans *Ecological Interactions And Biological Control*. CRC Press.
- Bjorksten, T. A. et Hoffmann, Ary. A. (1998). Plant cues influence searching behaviour and parasitism in the egg parasitoid *Trichogramma nr. brassicae*. *Ecological Entomology*, 23(4), 355-362. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.1998.00148.x>
- Blanche, S., Casas, J., Bigler, F. et Janssen-Van Bergeijk, K. E. (1996). An Individual-Based Model of *Trichogramma* Foraging Behaviour: Parameter Estimation for Single Females. *Journal of Applied Ecology*, 33(3), 425-434. <https://doi.org/10.2307/2404974>



Bligh, J. et Johnson, K. G. (1973). Glossary of terms for thermal physiology. *Journal of Applied Physiology*, 35(6), 941-961. <https://doi.org/10.1152/jappl.1973.35.6.941>

Boiteau, G. et Vincent, C. (2016). Le radar harmonique portatif pour l'étude des déplacements d'insectes. *Antennae*, 23, 14-17.

Boivin, G. et Lagace, M. (1999). Effet de la taille sur la fitness de *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera : Trichogrammatidae). *undefined*. /paper/Effet-de-la-taille-sur-la-fitness-de-Trichogramma-%3A-Boivin-Lagace/91229c50b422be19df2eed2862317aef70d41b7a

Boldt, P. E. (1974). Temperature, Humidity, and Host: Effect on Rate of Search of *Trichogramma evanescens* and *T. minutum* auctt. (not Riley, 1871)1,3. *Annals of the Entomological Society of America*, 67(4), 706-708. <https://doi.org/10.1093/aesa/67.4.706>

Bonnamour, J., Boutron, J.-C. et Mathieu, N. (1969). Evolution des structures des exploitations agricoles en France. Essais de recherche méthodologique et cartographique. *Bulletin de l'Association de Géographes Français*, 46(368), 291-309. <https://doi.org/10.3406/bagf.1969.5889>

Bonte, D., Travis, J. M. J., De Clercq, N., Zwertvaegher, I. et Lens, L. (2008). Thermal conditions during juvenile development affect adult dispersal in a spider. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(44), 17000-17005. <https://doi.org/10.1073/pnas.0806830105>

Bonte, D., Van Dyck, H., Bullock, J. M., Coulon, A., Delgado, M., Gibbs, M., Lehouck, V., Matthysen, E., Mustin, K., Saastamoinen, M., Schtickzelle, N., Stevens, V. M., Vandewoestijne, S., Baguette, M., Barton, K., Benton, T. G., Chaput-Bardy, A., Clobert, J., Dytham, C., ... Travis, J. M. J. (2012). Costs of dispersal. *Biological Reviews*, 87(2), 290-312. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2011.00201.x>

Boo, K. S. et Yang, J. P. (2000). Kairomones Used by *Trichogramma chilonis* to Find *Helicoverpa assulta* Eggs. *Journal of Chemical Ecology*, 26(2), 359-375. <https://doi.org/10.1023/A:1005453220792>

Boualem, M., Allaoui, H., Hamadi, R. et Medjahed, M. (2012). Biologie et complexe des ennemis naturels de *Tuta absoluta* à Mostaganem (Algérie). *EPPO Bulletin*, 42(2), 268-274. <https://doi.org/10.1111/epp.2570>

- Bourchier, R. S. et Smith, S. M. (1996). Influence of environmental conditions and parasitoid quality on field performance of *Trichogramma minutum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 80(3), 461-468. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1996.tb00960.x>
- Boy, D. (2010). Le Grenelle de l'environnement : une novation politique ? *Revue française d'administration publique*, 134(2), 313-324. <https://doi.org/10.3917/rfap.134.0313>
- Branson, K., Robie, A. A., Bender, J., Perona, P. et Dickinson, M. H. (2009). High-throughput ethomics in large groups of *Drosophila*. *Nature methods*, 6(6), 451-457.
- Bueno, R. C. O. de F., Parra, J. R. P. et Bueno, A. de F. (2012). *Trichogramma pretiosum* parasitism and dispersal capacity: a basis for developing biological control programs for soybean caterpillars. *Bulletin of Entomological Research*, 102(1), 1-8. <https://doi.org/10.1017/S0007485311000289>
- Burbutis, P. P., Curl, G. D. et Davis, C. P. (1977). Host Searching Behavior by *Trichogramma nubilale* on Corn 12. *Environmental Entomology*, 6(3), 400-402. <https://doi.org/10.1093/ee/6.3.400>
- Butet, A., Burel, F., Delettre, Y. et Michel, N. (2004). Bocages et biodiversité, évolution des assemblages d'espèces sous l'effet de l'intensification de l'agriculture.
- Calame, M. (2016). *Comprendre l'agroécologie: origines, principes et politiques (Charles Léopold Mayer)*.
- Calcagno, V. On predicting the long-term coefficient of diffusion from short-term behavioral observations. 2023.
- Campbell, B. M., Beare, D. J., Bennett, E. M., Hall-Spencer, J. M., Ingram, J. S. I., Jaramillo, F., Ortiz, R., Ramankutty, N., Sayer, J. A. et Shindell, D. (2017). Agriculture production as a major driver of the Earth system exceeding planetary boundaries. *Ecology and Society*, 22(4). <https://www.jstor.org/stable/26798991>
- Carson, R. (1962). *Silent Spring (40th Anniversary ed. édition)*. Mariner Books.
- Cascone, P., Carpenito, S., Slotsbo, S., Iodice, L., Sørensen, J., Holmstrup, M. et Guerrieri, E. (2015). Improving the efficiency of *Trichogramma achaeae* to control *Tuta absoluta*. *Biocontrol*, 60, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9684-1>

- Chaplin-Kramer, R., O'Rourke, M. E., Blitzer, E. J. et Kremen, C. (2011). A meta-analysis of crop pest and natural enemy response to landscape complexity. *Ecology Letters*, 14(9), 922-932. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01642.x>
- Chapman, A. V., Kuhar, T. P., Schultz, P. B. et Brewster, C. C. (2009). Dispersal of *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Potato Fields. *Environmental Entomology*, 38(3), 677-685. <https://doi.org/10.1603/022.038.0319>
- Chapman, J. W., Reynolds, D. R. et Smith, A. D. (2003). Vertical-Looking Radar: A New Tool for Monitoring High-Altitude Insect Migration. *BioScience*, 53(5), 503-511. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2003\)053\[0503:VRANTF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2003)053[0503:VRANTF]2.0.CO;2)
- Chen, L., Sørensen, J. G. et Enkegaard, A. (2021). Acclimation for optimisation: effects of temperature on development, reproduction and size of *Trichogramma achaeae*. *Biocontrol Science and Technology*, 0(0), 1-14. <https://doi.org/10.1080/09583157.2021.1963679>
- Cherif, A., Mansour, R. et Grissa-Lebdi, K. (2021). The egg parasitoids *Trichogramma*: from laboratory mass rearing to biological control of lepidopteran pests. *Biocontrol Science and Technology*, 31(7), 661-693. <https://doi.org/10.1080/09583157.2020.1871469>
- Chihrane, J., Laugé, G. et Hawlitzky, N. (1993). Effects of high temperature shocks on the development and biology of *Trichogramma brassicae* [Hym.: Trichogrammatidae]. *Entomophaga*, 38(2), 185-192. <https://doi.org/10.1007/BF02372552>
- Chitra, P., Sujatha, K. et Alagarmalai, J. (2017). Entomopathogenic nematode as a biocontrol agent – Recent trends – A Review. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences (IJARBS)*, 4, 9-20. <https://doi.org/10.22192/ijarbs.2017.04.01.002>
- Chouin, A. L. (2019, 1er juin). Quand les coopératives agricoles deviennent des multinationales. Dans *France Inter*. <https://www.radiofrance.fr/franceinter/podcasts/secrets-d-info/quand-les-cooperatives-agricoles-deviennent-des-multinationales-9806280>
- Clausen, C. P. (1976). Phoresy Among Entomophagous Insects. *Annual Review of Entomology*, 21(1), 343-368. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.21.010176.002015>
- Clobert, J., Le Galliard, J.-F., Cote, J., Meylan, S. et Massot, M. (2009). Informed dispersal, heterogeneity in animal dispersal syndromes and the dynamics of spatially structured

populations. *Ecology Letters*, 12(3), 197-209. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01267.x>

Cock, M. J. W., Murphy, S. T., Kairo, M. T. K., Thompson, E., Murphy, R. J. et Francis, A. W. (2016). McCLO. *BioControl*, 61(4), 349-363. <https://doi.org/10.1007/s10526-016-9726-3>

Cointe, M., Burte, V., Perez, G., Mailleret, L. et Calcagno, V. (2023). A double-spiral maze and hi-resolution tracking pipeline to study dispersal by groups of minute insects. *Scientific Reports*, 13(1), 5200. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31630-8>

Colombel, E., Venard, M. et Tabone, E. (2020). *Technique d'élevage des trichogrammes*, 9.

Compagnone, C., Lamine, C. et Dupré, L. (2018). The production and circulation of agricultural knowledge as interrogated by agroecology. Of old and new. *Revue d'anthropologie des connaissances*, 12, 2(2), a-aa. <https://doi.org/10.3917/rac.039.a>

Cônsoli, F. L. et Parra, J. R. P. (1995). Effects of constant and alternating temperatures on *Trichogramma galloi* Zucchi (Hym., Trichogrammatidae) biology II.—parasitism capacity and longevity. *Journal of Applied Entomology*, 119(1-5), 667-670. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1995.tb01355.x>

Cônsoli, F. L., Parra, J. et Zucchi, R. (2010). Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on *Trichogramma*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9110-0>

Cook, J. M. et Butcher, R. D. J. (1999). The transmission and effects of *Wolbachia* bacteria in parasitoids. *Population Ecology*, 41(1), 15-28. <https://doi.org/10.1007/PL00011978>

Corbett, A. et Rosenheim, J. A. (1996). Quantifying Movement of a Minute Parasitoid, *Anagrus epos* (Hymenoptera: Mymaridae), Using Fluorescent Dust Marking and Recapture. *Biological Control*, 6(1), 35-44. <https://doi.org/10.1006/bcon.1996.0005>

Cordell, D., Drangert, J.-O. et White, S. (2009). The story of phosphorus: Global food security and food for thought. *Global Environmental Change*, 19(2), 292-305. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2008.10.009>

Cronin, J. T. et Reeve, J. D. (2005). Host–parasitoid spatial ecology: a plea for a landscape-level synthesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1578), 2225-2235. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3286>

- Croteau, E. (2010). Causes and Consequences of Dispersal in Plants and Animals | Learn Science at Scitable. <https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/causes-and-consequences-of-dispersal-in-plants-15927714/>
- Danthanarayana, W. (dir.). (1986). Insect Flight: Dispersal and Migration. Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-71155-8>
- De Clercq, P., Mason, P. G. et Babendreier, D. (2011). Benefits and risks of exotic biological control agents. *BioControl*, 56(4), 681-698. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9372-8>
- Deguine, J.-P. (2023). Lutte biologique et biocontrôle : un besoin de clarification. *Cahiers Agricultures*, 32, 11. <https://doi.org/10.1051/cagri/2023004>
- Dehimeche, N. (2021). Rôle des trichomes et des composés organiques volatils dans le dépôt d’ozone et la réponse des plantes de tomate au stress [phdthesis, Université Montpellier]. <https://theses.hal.science/tel-03343979>
- Denno, R. F., Olmstead, K. L. et McCloud, E. S. (1989). Reproductive cost of flight capability: a comparison of life history traits in wing dimorphic planthoppers. *Ecological Entomology*, 14(1), 31-44. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1989.tb00751.x>
- Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K. A. G., Burgio, G., Arpaia, S., Narváez-Vasquez, C. A., González-Cabrera, J., Catalán Ruescas, D., Tabone, E., Frandon, J., Pizzol, J., Poncet, C., Cabello, T. et Urbaneja, A. (2010). Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, 83(3), 197-215. <https://doi.org/10.1007/s10340-010-0321-6>
- Dragicevic, P. (2016). Fair Statistical Communication in HCI. Dans J. Robertson et M. Kaptein (dir.), *Modern Statistical Methods for HCI* (p. 291-330). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-26633-6\\_13](https://doi.org/10.1007/978-3-319-26633-6_13)
- Dragicevic, P., Chevalier, F. et Huot, S. (2014). Running an HCI Experiment in Multiple Parallel Universes, 607. <https://doi.org/10.1145/2559206.2578881>
- Dubon, G. (2020). Poivron, aubergine et courgette : une consommation en hausse. Réussir fruits & légumes | FLD. <https://www.reussir.fr/fruits-legumes/la-ratatouille-passe-a-la-table>

- Dunn, G. A. et Brown, A. F. (1987). A unified approach to analysing cell motility. *Journal of Cell Science. Supplement*, 8, 81-102. [https://doi.org/10.1242/jcs.1987.supplement\\_8.5](https://doi.org/10.1242/jcs.1987.supplement_8.5)
- Duru, M. (2021). Repenser le système alimentaire. *Études*, Juin(6), 33-44. <https://doi.org/10.3917/etu.4283.0033>
- Eggleton, P. et Belshaw, R. (1992). Insect parasitoids: an evolutionary overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 337(1279), 1-20. <https://doi.org/10.1098/rstb.1992.0079>
- Eilenberg, J., Hajek, A. et Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl*, 46(4), 387-400. <https://doi.org/10.1023/A:1014193329979>
- Errabi, G. et Hamadi, C. (2023). De la sélection à la structure factorielle de l'instrument de mesure : Principes et exemple d'application. *Revue Internationale du Chercheur*, 4(2). <https://www.revuechercheur.com/index.php/home/article/view/596>
- Fallet, M. (2019). Etude de la réponse environnementale et transgénérationnelle chez l'huitre creuse *Crassostrea gigas* : focus sur les mécanismes épigénétiques [These de doctorat, Perpignan]. <https://www.theses.fr/2019PERP0036>
- Faria, C., Fernandes, A. et Farias, A. (2008). Parasitism of *Tuta absoluta* in tomato plants by *Trichogramma pretiosum* Riley in response to host density and plant structures. *Ciencia rural*, ISSN 0103-8478, Vol. 38, No. 6, 2008, pags. 1504-1509, 38. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000600002>
- Fatouros, N. E. et Huigens, M. E. (2012). Phoresy in the field: natural occurrence of *Trichogramma* egg parasitoids on butterflies and moths. *BioControl*, 57(4), 493-502. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9427-x>
- Fatouros, N. E., Huigens, M. E., van Loon, J. J. A., Dicke, M. et Hilker, M. (2005). Butterfly anti-aphrodisiac lures parasitic wasps. *Nature*, 433(7027), 704-704. <https://doi.org/10.1038/433704a>
- Fauvergue, X., Rusch, A., Barret, M., Bardin, M., Jacquin-Joly, E., Malausa, T. et Lannou, C. (2020). Biocontrôle: éléments pour une protection agroécologique des cultures (Quae).

- Ferguson, K. B., Kursch-Metz, T., Verhulst, E. C. et Pannebakker, B. A. (2020). Hybrid Genome Assembly and Evidence-Based Annotation of the Egg Parasitoid and Biological Control Agent *Trichogramma brassicae*. *G3 Genes|Genomes|Genetics*, 10(10), 3533-3540. <https://doi.org/10.1534/g3.120.401344>
- Ferran, A., Giuge, L., Tourniaire, R., Gambier, J. et Fournier, D. (1998). An artificial non-flying mutation to improve the efficiency of the ladybird *Harmonia axyridis* in biological control of aphids. *BioControl*, 43(1), 53-64. <https://doi.org/10.1023/A:1009970004842>
- Firake, D. M. et Khan, M. A. (2014). Alternating temperatures affect the performance of *Trichogramma* species. *Journal of Insect Science*, 14. <https://doi.org/10.1093/jis/14.1.41>
- Foerster, M. R. et Foerster, L. A. (2009). Effects of temperature on the immature development and emergence of five species of *Trichogramma*. *BioControl*, 54(3), 445-450. <https://doi.org/10.1007/s10526-008-9195-4>
- Forsse, E., Smith, S. M. et Bourchier, R. S. (1992). Flight initiation in the egg parasitoid *Trichogramma minutum*: Effects of ambient temperature, mates, food, and host eggs. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 62(2), 147-154. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1992.tb00654.x>
- Fournier, F. et Boivin, G. (2000). Comparative Dispersal of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Relation to Environmental Conditions. *Environmental Entomology*, 29(1), 55-63. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-29.1.55>
- Fournier, F., Pelletier, D., Vigneault, C., Goyette, B. et Boivin, G. (2005). Effect of Barometric Pressure on Flight Initiation by *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Environmental Entomology*, 34(6), 1534-1540. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-34.6.1534>
- Francis, C., Lieblein, G., Gliessman, S., Breland, T. A., Creamer, N., Harwood, R., Salomonsson, L., Helenius, J., Rickerl, D., Salvador, R., Wiedenhoef, M., Simmons, S., Allen, P., Altieri, M., Flora, C. et Poincelot, R. (2003). Agroecology: The ecology of food systems. *Journal of Sustainable Agriculture*, 22, 99-118. [https://doi.org/10.1300/J064v22n03\\_10](https://doi.org/10.1300/J064v22n03_10)

Gardner, J., Wright, M. G., Kuhar, T. P., Pitcher, S. A. et Hoffmann, M. P. (2012). Dispersal of *Trichogramma ostrinae* in field corn. *Biocontrol Science and Technology*, 22(10), 1221-1233. <https://doi.org/10.1080/09583157.2012.723676>

Gariépy, V., Boivin, G. et Brodeur, J. (2015). Why two species of parasitoids showed promise in the laboratory but failed to control the soybean aphid under field conditions. *Biological Control*, 80, 1-7.

Garratt, M. P. D., Wright, D. J. et Leather, S. R. (2011). The effects of farming system and fertilisers on pests and natural enemies: A synthesis of current research. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 141(3), 261-270. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.03.014>

Gayrard, M. (2020). Quelles solutions alternatives pour les ravageurs émergents ? 2. Le cas de *Tuta absoluta* | Ecophytopic. Ecophytopic. <https://ecophytopic.fr/prevenir/quelles-solutions-alternatives-pour-les-ravageurs-emergents-2-le-cas-de-tuta-absoluta>

Geissmann, Q., Garcia Rodriguez, L., Beckwith, E. J., French, A. S., Jamasb, A. R. et Gilestro, G. F. (2017). Ethoscopes: An open platform for high-throughput ethomics. *PLoS biology*, 15(10), e2003026.

Genevois, L. (1972). La révolution verte. *Les Cahiers d'Outre-Mer*, 25(99), 347-356. <https://doi.org/10.3406/caoum.1972.2630>

Geuther, B. Q., Deats, S. P., Fox, K. J., Murray, S. A., Braun, R. E., White, J. K., Chesler, E. J., Lutz, C. M. et Kumar, V. (2019). Robust mouse tracking in complex environments using neural networks. *Communications Biology*, 2(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0362-1>

Ghaemmaghani, E., Fathipour, Y., Bagheri, A., Talebi, A. A. et Reddy, G. V. P. (2022). Monitoring of Mutual Interference Behavior of *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) over 45 Generations of Rearing on Angoumois Grain Moth. *Neotropical Entomology*, 51(1), 54-64. <https://doi.org/10.1007/s13744-021-00919-6>

Gingras, D., Dutilleul, P. et Boivin, G. (2008). Effect of Plant Structure on Searching Strategy and Searching Efficiency of *Trichogramma turkestanica*. *Journal of Insect Science*, 8, 28. <https://doi.org/10.1673/031.008.2801>



- Gonzalez, D., Orphanides, G., Van Den Bosch, R. et Leigh, T. F. (1970). Field-Cage Assessment of *Trichogramma* as Parasites of *Heliothis zea*: Development of Methods. *Journal of Economic Entomology*, 63(4), 1292-1296. <https://doi.org/10.1093/jee/63.4.1292>
- Goossens, S., Wybouw, N., Van Leeuwen, T. et Bonte, D. (2020). The physiology of movement. *Movement Ecology*, 8(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s40462-020-0192-2>
- Greatti, M. et Zandigiaco, P. (1995). Postrelease dispersal of *Trichogramma brassicae* Bezdenko in corn fields. *Journal of Applied Entomology*, 119(1-5), 671-675. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1995.tb01356.x>
- Griffon, M. (2014). L'agroécologie, un nouvel horizon pour l'agriculture. *Études*, décembre(12), 31-39. <https://doi.org/10.3917/etu.4211.0031>
- Guerra, P. A. (2011). Evaluating the life-history trade-off between dispersal capability and reproduction in wing dimorphic insects: a meta-analysis. *Biological Reviews*, 86(4), 813-835. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2010.00172.x>
- Hajek, A. E., Hurley, B. P., Kenis, M., Garnas, J. R., Bush, S. J., Wingfield, M. J., van Lenteren, J. C. et Cock, M. J. W. (2016). Exotic biological control agents: A solution or contribution to arthropod invasions? *Biological Invasions*, 18(4), 953-969. <https://doi.org/10.1007/s10530-016-1075-8>
- Hansen, L. S. (2000). Development time and activity threshold of *Trichogramma turkestanica* on *Ephestia kuehniella* in relation to temperature. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 96(2), 185-188. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2000.00694.x>
- Hassan, K. A., Hashim, S., Mostafa, I. M. Y., Sanad, A. S. et Abdel-Hameid, N. F. (2018). Assessment of Dispersal and Parasitism of the Laboratory Reared *Trichogramma evanescens* West. under Field Conditions. <https://doi.org/10.21608/jppp.2018.41666>
- Hawkes, O. A. M. (1920). 30. Observations on the Life-History, Biology, and Genetics of the Lady-bird Beetle, *Adalia bipunctata* (Mulsant). *Proceedings of the Zoological Society of London*, 90(4), 475-490. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1920.tb03241.x>
- Hawltzky, N. (1982). La lutte biologique à l'aide de Trichogrammes, (16).

Hegazi, E., Khafagi, W., Herz, A., Konstantopoulou, M., Hassan, S., Agamy, E., Atwa, A. et Shweil, S. (2012). Dispersal and field progeny production of *Trichogramma* species released in an olive orchard in Egypt. *BioControl*, 57(4), 481-492. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9420-4>

Heimpel, G. E. et Asplen, M. K. (2011). A 'Goldilocks' hypothesis for dispersal of biological control agents. *BioControl*, 56(4), 441-450. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9381-7>

Heimpel, G. E. et Mills, N. J. (2017, avril). *Biological Control: Ecology and Applications*. Cambridge Core. Cambridge University Press. <https://www.cambridge.org/core/books/biological-control/0C7E4E84AAB030EB1CD06D93EA288C95>

Hemptinne, J.-L., Magro, A., Evans, E. W. et Dixon, A. F. G. (2012). Body size and the rate of spread of invasive ladybird beetles in North America. *Biological Invasions*, 14(3), 595-605. <https://doi.org/10.1007/s10530-011-0101-0>

Hendricks, D. E. (1967). Effect of Wind on Dispersal of *Trichogramma semifumatum*. *Journal of Economic Entomology*, 60(5), 1367-1373. <https://doi.org/10.1093/jee/60.5.1367>

Honda, J. Y., Silva, I. M. M. S., Vereijssen, J. et Stouthamer, R. (1999). Laboratory bioassay and greenhouse evaluation of *Trichogramma cordubensis* strains from Portugal. *BioControl*, 44(1), 1-11. <https://doi.org/10.1023/A:1009985806745>

Hopper, K. R. (2001). Research needs concerning non-target impacts of biological control introductions. Dans E. Wajnberg, J. K. Scott et P. C. Quimby (dir.), *Evaluating indirect ecological effects of biological control. Key papers from the symposium « Indirect ecological effects in biological control »*, Montpellier, France, 17-20 October 1999 (1re éd., p. 39-56). CABI Publishing. <https://doi.org/10.1079/9780851994536.0039>

Hopper, K. R. et Roush, R. T. (1993). Mate finding, dispersal, number released, and the success of biological control introductions. *Ecological Entomology*, 18(4), 321-331. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1993.tb01108.x>

Hopper, K. R., Roush, R. T. et Powell, W. (1993). Management of Genetics of Biological-Control Introductions. *Annual Review of Entomology*, 38(1), 27-51. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.38.010193.000331>

Huyghe, C. (2020). Production agricole et préservation de l'environnement est-ce possible ?, (331).

Ion Scotta, M., Margris, L., Sellier, N., Warot, S., Gatti, F., Siccardi, F., Gibert, P., Vercken, E. et Ris, N. (2021). Genetic Variability, Population Differentiation, and Correlations for Thermal Tolerance Indices in the Minute Wasp, *Trichogramma cacoeciae*. *Insects*, 12(11), 1013. <https://doi.org/10.3390/insects12111013>

Ivezić, A., Rugman-Jones, P., Malausa, T., Ris, N. et Ignjatović-Ćupina, A. (2021). Molecular identification of *Trichogramma* species parasitizing *Ostrinia nubilalis* in corn and pepper in south-east border of Europe. *International Journal of Pest Management*, 67(4), 346-357. <https://doi.org/10.1080/09670874.2020.1779383>

Ivezić, A., Trudić, B. et Draškić, G. (2022). The usage of beneficial insects as a biological control measure in large-scale farming - a case study review on *Trichogramma* spp. *Acta agriculturae Slovenica*, 118(2), 1-13. <https://doi.org/10.14720/aas.2022.118.2.2402>

Jalali, S. K. et Singh, S. P. (1992). Differential response of four *Trichogramma* species to low temperatures for short term storage. *Entomophaga*, 37(1), 159-165. <https://doi.org/10.1007/BF02372984>

Jeanneaux, P. (2014). Des politiques publiques à l'efficacité économique des entreprises agricoles : quelles synergies entre économie et agronomie ? [https://www.academia.edu/79041790/Des\\_politiques\\_publicques\\_%C3%A0\\_1\\_efficacit%C3%A9\\_%C3%A9conomique\\_des\\_entreprises\\_agricoles\\_quelles\\_synergies\\_entre\\_%C3%A9conomie\\_et\\_agronomie\\_](https://www.academia.edu/79041790/Des_politiques_publicques_%C3%A0_1_efficacit%C3%A9_%C3%A9conomique_des_entreprises_agricoles_quelles_synergies_entre_%C3%A9conomie_et_agronomie_)

Jeuffroy, M.-H. (2014). Agronomie et économie face aux enjeux de durabilité en agriculture: pourquoi et comment faire converger les approches? Le témoignage d'une agronome. [https://agronomie.asso.fr/fileadmin/user\\_upload/revue\\_aes/aes\\_vol4\\_n1\\_juin2014/pdf/aes\\_vol4\\_n1\\_03\\_jeuffroy.pdf](https://agronomie.asso.fr/fileadmin/user_upload/revue_aes/aes_vol4_n1_juin2014/pdf/aes_vol4_n1_03_jeuffroy.pdf)

Jones, R. L., Lewis, W. J., Beroza, M., Bierl, B. A. et Sparks, A. N. (1973). Host-Seeking Stimulants (Kairomones) for the Egg Parasite, *Trichogramma evanescens*1 , 2 , 3. *Environmental Entomology*, 2(4), 593-596. <https://doi.org/10.1093/ee/2.4.593>

- Junce, T., Guorong, W., Xusong, Z. et Zhongxian, L. (2018). The Effect of Sesame Flowers on the Fecundity and Dispersal Ability of *Trichogramma japonicum*. *Chinese Journal of Biological Control*, 34(6), 807. <https://doi.org/10.16409/j.cnki.2095-039x.2018.06.001>
- Kaiser, L., Pham-Delegue, M., Bakchine, E. et Masson, C. (1989). Olfactory responses of *Trichogramma maidis* Pint, et Voeg.: Effects of chemical cues and behavioral plasticity. *Journal of Insect Behavior - J INSECT BEHAV*, 2, 701-712. <https://doi.org/10.1007/BF01065787>
- Kalt, A. (2017, 18 mars). L'agroécologie décrite par Christophe Taton, un paysan lançonnais éveillé. <http://environnement-lanconnais.asso.fr/>. <http://environnement-lanconnais.asso.fr/spip.php?article1215>
- Kareiva, P. M. et Shigesada, N. (1983). Analyzing insect movement as a correlated random walk. *Oecologia*, 56(2-3), 234-238. <https://doi.org/10.1007/BF00379695>
- Kawecki, T. J., Lenski, R. E., Ebert, D., Hollis, B., Olivieri, I. et Whitlock, M. C. (2012). Experimental evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 27(10), 547-560. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.06.001>
- Kay, M., Haroz, S., Guha, S. et Dragicevic, P. (2016a). Special Interest Group on Transparent Statistics in HCI. Dans *Proceedings of the 2016 CHI Conference Extended Abstracts on Human Factors in Computing Systems* (p. 1081-1084). ACM. <https://doi.org/10.1145/2851581.2886442>
- Kay, M., Nelson, G. L. et Hekler, E. B. (2016b). Researcher-Centered Design of Statistics: Why Bayesian Statistics Better Fit the Culture and Incentives of HCI. Dans *Proceedings of the 2016 CHI Conference on Human Factors in Computing Systems* (p. 4521-4532). Association for Computing Machinery. <https://doi.org/10.1145/2858036.2858465>
- Kays, R., Crofoot, M. C., Jetz, W. et Wikelski, M. (2015). Terrestrial animal tracking as an eye on life and planet. *Science*, 348(6240), aaa2478. <https://doi.org/10.1126/science.aaa2478>
- Keil, S., Gu, H. et Dorn, S. (2001). Response of *Cydia pomonella* to selection on mobility: laboratory evaluation and field verification. *Ecological Entomology*, 26(5), 495-501. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2001.00346.x>

Keller, Lewis, W. et Stinner, R. (1985). Biological and practical significance of movement by *Trichogramma* species: a review. undefined. <https://www.semanticscholar.org/paper/Quantifying-Movement-of-a-Minute-Parasitoid%2C-epos-Corbett-Rosenheim/cf7e055cca2d3a956a587f81a01436efb54167bf>

Keller, M. A. (1987). Influence of leaf surfaces on movements by the hymenopterous parasitoid *Trichogramma exiguum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 43(1), 55-59. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1987.tb02202.x>

Kenward, R. (2000). *A Manual for Wildlife Radio Tagging - 2nd Edition*. <https://www.elsevier.com/books/a-manual-for-wildlife-radio-tagging/kenward/978-0-08-057420-2>

Kimura, T., Ohashi, M., Crailsheim, K., Schmickl, T., Okada, R., Radspieler, G. et Ikeno, H. (2014). Development of a New Method to Track Multiple Honey Bees with Complex Behaviors on a Flat Laboratory Arena. *PLOS ONE*, 9(1), e84656. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084656>

Kishani Farahani, H., Ashouri, A., Zibae, A., Abroon, P. et Alford, L. (2016). The effect of host nutritional quality on multiple components of *Trichogramma brassicae* fitness. *Bulletin of Entomological Research*, 106(5), 633-641. <https://doi.org/10.1017/S000748531600033X>

Knutson, A. *The Trichogramma manual*. 1998.

Kot, J. (1964). Experiments in the biology and ecology of species of the genus *Trichogramma* westwood and their use in plant protection.

Krzywinski, M. et Altman, N. (2013). Error bars. *Nature Methods*, 10(10), 921-922. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2659>

Kučera, O., Šamajová, K., Cizmarova, R. et Faltýnek, D. (2018). On the Origin of Chinese Cabbage. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.17631.71848>

Kuske, S., Widmer, F., Edwards, P. J., Turlings, T. C. J., Babendreier, D. et Bigler, F. (2003). Dispersal and persistence of mass released *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in non-target habitats. *Biological Control*, 27(2), 181-193. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00191-3](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00191-3)

L E Caltagirone, and et Douutt, R. L. (2003, 28 novembre). The History of the Vedalia Beetle Importation to California and its Impact on the Development of Biological Control [review-article]. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.en.34.010189.000245>. Annual Reviews 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA. <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.en.34.010189.000245>

Lacey, L. A. (2007). *Bacillus thuringiensis* serovariety *israelensis* and *bacillus sphaericus* for mosquito control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(sp2), 133-163. [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[133:BTSIAB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[133:BTSIAB]2.0.CO;2)

Ladrangé, B., Boutitie, A., Thevier, J. et Riquet, J. (2013). Poivron sous tunnel - Eléments techniques et économiques pour les zones de montagne sèche du Languedoc-Roussillon. [https://occitanie.chambre-agriculture.fr/fileadmin/user\\_upload/National/FAL\\_commun/publications/Occitanie/FTE\\_poi-vron-tunnel\\_2013.pdf](https://occitanie.chambre-agriculture.fr/fileadmin/user_upload/National/FAL_commun/publications/Occitanie/FTE_poi-vron-tunnel_2013.pdf)

Lagarrigue, S. et Tixier-Boichard, M. (2011). Nouvelles approches de phénotypage pour la sélection animale. *INRA Productions Animales*, 24(4), 377-386.

Langellotto, G. A., Denno, R. F. et Ott, J. R. (2000). A Trade-Off Between Flight Capability and Reproduction in Males of a Wing-Dimorphic Insect. *Ecology*, 81(3), 865-875. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2000\)081\[0865:ATOBFC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081[0865:ATOBFC]2.0.CO;2)

Laparie, M., Renault, D., Lebouvier, M. et Delattre, T. (2013). Is dispersal promoted at the invasion front? Morphological analysis of a ground beetle invading the Kerguelen Islands, *Merizodus soledadinus* (Coleoptera, Carabidae). *Biological Invasions*, 15(8), 1641-1648. <https://doi.org/10.1007/s10530-012-0403-x>

Lartigue, S., Yalaoui, M., Belliard, J., Caravel, C., Jeandroz, L., Groussier, G., Calcagno, V., Louâpre, P., Dechaume-Moncharmont, F.-X., Malausa, T. et Moreau, J. (2022). Consistent variations in personality traits and their potential for genetic improvement in biocontrol agents: *Trichogramma evanescens* as a case study. *Evolutionary Applications*, 15(10), 1565-1579. <https://doi.org/10.1111/eva.13329>

Lasbleiz, R. (2015). L'AGROÉCOLOGIE : Inscrire l'agriculture dans la transition.

- Le, S., Josse et Husson, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, 25(1), 1-18. [10.18637/jss.v025.i01](https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01).
- Lee, D.-H., Nielsen, A. L. et Leskey, T. C. (2014). Dispersal Capacity and Behavior of Nymphal Stages of *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae) Evaluated Under Laboratory and Field Conditions. *Journal of Insect Behavior*, 27(5), 639-651. <https://doi.org/10.1007/s10905-014-9456-2>
- Legner, E. (2008). *Biological pest control: a history* (Pimentel D). Taylor and Francis. <https://faculty.ucr.edu/~legnerref/eflpub/269b.htm>
- Leopold, R. A., Wang, W. B., Berkebile, D. R. et Freeman, T. P. (2001). Cryopreservation of Embryos of the New World Screwworm *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). *Annals of the Entomological Society of America*, 94(5), 695-701. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2001\)094\[0695:COEOTN\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2001)094[0695:COEOTN]2.0.CO;2)
- Leopold, R. et Rinehart, J. (2010). A template for insect cryopreservation. *Low Temperature Biology of Insects*. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511675997.014>
- Lewis, M. A., Maini, P. K. et Petrovskii, S. V. (2013). Dispersal, individual movement and spatial ecology. *Lecture Notes in Mathematics (Mathematics Bioscience Series)*, 2071.
- Lirakis, M. et Magalhães, S. (2019). Does experimental evolution produce better biological control agents? A critical review of the evidence. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 167(7), 584-597. <https://doi.org/10.1111/eea.12815>
- Loomans, A. J. M. (2021). Every generalist biological control agent requires a special risk assessment. *BioControl*, 66(1), 23-35. <https://doi.org/10.1007/s10526-020-10022-1>
- Losey, J. E. et Calvin, D. D. (1995). Quality Assessment of Four Commercially Available Species of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Journal of Economic Entomology*, 88(5), 1243-1250. <https://doi.org/10.1093/jee/88.5.1243>
- Lukianchuk, J. L. (1994). The influence of female age and plant surfaces on the foraging success of *Trichogramma minutum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) with emphasis on plant structural complexity., 1.

Lundgren, J. G. et Heimpel, G. E. (2003). Quality assessment of three species of commercially produced *Trichogramma* and the first report of thelytoky in commercially produced *Trichogramma*. *Biological Control*, 26(1), 68-73. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00117-2](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00117-2)

Lynch, L. D., Hokkanen, H. M. T., Babendreier, D., Bigler, F., Burgio, G., Gao, Z. H., Kuske, S., Loomans, A., Menzler-Hokkanen, I., Thomas, M. B., Tommasini, G., Waage, J. K., Lenteren, J. C. van et Zeng, Q. Q. (2001). Insect biological control and non-target effects: a European perspective. Evaluating indirect ecological effects of biological control. Key papers from the symposium « Indirect ecological effects in biological control », Montpellier, France, 17-20 October 1999, 99-125. <https://doi.org/10.1079/9780851994536.0099>

Lyons, K. et Lawrence, G. (1999). Alternative knowledges, organic agriculture and the biotechnology debate. [https://acquire.cqu.edu.au/articles/journal\\_contribution/Alternative\\_knowledges\\_organic\\_agriculture\\_and\\_the\\_biotechnology\\_debate/13405343/1](https://acquire.cqu.edu.au/articles/journal_contribution/Alternative_knowledges_organic_agriculture_and_the_biotechnology_debate/13405343/1)

Macdonald, D. et Johnson, D. (2001). 25. Dispersal in theory and practice: consequences for conservation biology.

Makee, H. (2005). Effects of repeated and delayed exposure to codling moth eggs on reproduction of *Trichogramma cacoeciae* and *T. principium* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) females. *Journal of Pest Science*, 78(2), 83-89. <https://doi.org/10.1007/s10340-004-0072-3>

Malézieux, E., Beillouin, D. et Makowski, D. (2022). Mieux nourrir la planète : diversifier les cultures pour construire des systèmes alimentaires durables. *Perspective*, 58, 1. <https://doi.org/10.19182/perspective/36931>

Marchand, A., Sellier, N., Warot, S., Ion-Scotta, M., Ris, N. et Groussier-Bout, G. (2022). Formalisation d'un centre de ressources biologiques dédié aux parasitoïdes oophages: CRB Ep-Coll.

Marchand, P. (2020). Macroorganismes de biocontrôle en France, état des lieux, 79, 425-439.



- Marston, N. et Ertle, L. R. (1969). Host Age and Parasitism by *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 62(6), 1476-1482. <https://doi.org/10.1093/aesa/62.6.1476>
- Mascanzoni, D. et Wallin, H. (1986). The harmonic radar: a new method of tracing insects in the field. *Ecological Entomology*, 11(4), 387-390. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1986.tb00317.x>
- Mauguet, C. (2021). Economies d'échelle: définition et tout ce qu'il faut savoir. <https://agicap.com/fr/article/definition-economies-dechelle/>
- Maw, M. G. (1961). Behaviour of an Insect on an Electrically Charged Surface. *The Canadian Entomologist*, 93(5), 391-393. <https://doi.org/10.4039/Ent93391-5>
- Mcgregor, R., Prasad, R. et Henderson, D. (2002). Searching behaviour of *Trichogramma* wasps (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on tomato and pepper leaves. undefined. </paper/Searching-behaviour-of-Trichogramma-wasps-on-tomato-Mcgregor-Prasad/dde2101e0db0cbd3a3af2c7b6d637ae51eb13036>
- Meissle, M., Bilger, F., Mouron, P., Kabiri, F. et Pons, X. (2010). Lutte non chimique contre la pyrale du maïs utilisant des Trichogrammes ou du maïs Bt. De la Théorie à la Pratique, ENDURE : Étude de Cas sur le Maïs, Guide N°1, 6.
- Morales, J. M. et Ellner, S. P. (2002). Scaling up Animal Movements in Heterogeneous Landscapes: The Importance of Behavior. *Ecology*, 83(8), 2240-2247. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2002\)083\[2240:SUAMIH\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083[2240:SUAMIH]2.0.CO;2)
- Murdoch, W., Chesson, J. et Chesson, P. (1985). Biological Control in Theory and Practice. *The American Naturalist*, 125, 344-366. <https://doi.org/10.1086/284347>
- Myint, Y. Y., Bai, S., Zhang, T., Babendreier, D., He, K. et Wang, Z. (2022). Selection of the Most Effective *Trichogramma* Strains (Hymenoptera: Trichogrammatidae) From Myanmar to Control Asian Corn Borer, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Economic Entomology*, 115(1), 81-92. <https://doi.org/10.1093/jee/toab241>

Naïbo, B. et Druesne, C. (2008). Luttés alternatives : Les trichogrammes au secours du maïs | Ecophytopic. <https://ecophytopic.fr/pic/proteger/luttés-alternatives-les-trichogrammes-au-secours-du-mais>

Naika, S., Van Lidt de Jeude, J., de Goffau, M., Hilmi, M. et van Dam, B. (2005). La culture des tomates: production, transformation et commercialisation. <https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/64598/AD17fr.pdf?sequence=1>

Nandagopal, G. et Balakrishn, R. (2011). Temporal and Spatial Dispersal of Laboratory-Reared *Trichogramma chilonis* Ishii in Open Field. *Journal of Entomology*, 8, 164-173. <https://doi.org/10.3923/je.2011.164.173>

Narimanov, N., Bonte, D. et Entling, M. H. (2022). Heritability of dispersal in a rapidly spreading invasive spider. *Animal Behaviour*, 183, 93-101. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2021.11.002>

Noldus, L. P. J. J. et van Lenteren, J. C. (1985). Kairomones for the egg parasite *Trichogramma evanescens* Westwood. *Journal of Chemical Ecology*, 11(6), 781-791. <https://doi.org/10.1007/BF00988305>

Nowak, J. (2019). 2. Morphologie et plan d'organisation. entomoLOGIC. <http://entomologic.jimdofree.com/les-insectes/morphologie-et-plan-d-organisation/>

Obrycki, J. J., Lewis, L. C. et Orr, D. B. (1997). Augmentative Releases of Entomophagous Species in Annual Cropping Systems. *Biological Control*, 10(1), 30-36. <https://doi.org/10.1006/bcon.1997.0546>

Oliveira, R. C. M., Pastori, P. L., Barbosa, M. G., Pereira, F. F., Melo, J. W. S. et André, T. P. P. (2020). Dispersal of *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in cabbage, cucumber, and sweet corn. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92(suppl 1), e20190412. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020190412>

Olkowski, W. et Zhang, A. (1998). Habitat management for biological control, examples from China. Dans *Enhancing Biological Control* (Pickett CH&Bugg RL, p. 255-270).

Olson, D. M. et Andow, D. A. (2002). Inheritance of an oviposition behavior by an egg parasitoid. *Heredity*, 88(6), 437-443. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800076>

Olson, D. M. et Andow, D. A. (2006). Walking pattern of *Trichogramma nubilale* Ertle & Davis (Hymenoptera; Trichogrammatidae) on various surfaces. *Biological Control*, 39(3), 329-335. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.08.018>

Osborne, J., Loxdale, H. et Woiwod, I. (2002). Monitoring insect dispersal: methods and approaches. *undefined*. </paper/Monitoring-insect-dispersal%3A-methods-and-approaches-Osborne-Loxdale/3a4e69a3736f5e1ba47cb2556c35d63fbflac765>

Özder, N. et Kara, G. (2010). Comparative biology and life tables of *Trichogramma cacoeciae*, *T. brassicae* and *T. evanescens* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) with *Ephestia kuehniella* and *Cadra cautella* (Lepidoptera: Pyralidae) as hosts at three constant temperatures. *Biocontrol Science and Technology*, 20, 245-255. <https://doi.org/10.1080/09583150903497880>

Pak, G. A. (2003). Inundative Release of *Trichogramma* for the Control of Cruciferous Lepidoptera: Preintroductory Selection of an Effective Parasitoid, 12.

Park, Y.-K., Lee, H.-P. et Lee, K.-S. (2000). Effect of Temperature on the Biology of *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) Reared on a Factitious Host, *Antheraea pernyi* (Lepidoptera: Saturniidae) Egg. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 3(2), 65-70. [https://doi.org/10.1016/S1226-8615\(08\)60057-6](https://doi.org/10.1016/S1226-8615(08)60057-6)

Parmentier, B. (2014). Nourrir l'humanité: Les grands problèmes de l'agriculture mondiale au XXIe siècle. *La Découverte*.

Pemberton, R. et Cordo, H. (2001). Potential and Risks of Biological Control of *Cactoblastis cactorum* (Lepidoptera: Pyralidae) in North America. *The Florida Entomologist*, 84, 513. <https://doi.org/10.2307/3496382>

Peter, A. J., Shanower, T. G. et Romeis, J. (1995). The role of plant trichomes in insect resistance: a selective review. *Phytophaga*, 7, 41-63.

Petrovskii, S. et Morozov, A. (2009). Dispersal in a statistically structured population: fat tails revisited. *The American Naturalist*, 173(2), 278-289.

Pielou, E. C. (1981). *Crosscurrents in Biogeography: Vicariance Biogeography. A Critique.* Papers from a symposium, May 1979. Gareth Nelson and Donn E. Rosen, Eds. Columbia

University Press, New York, 1981. xviii, 594 pp., illus. \$35. Science, world.  
<https://doi.org/10.1126/science.213.4505.324>

Pintureau, B. (2012). Les hyménoptères parasitoïdes oophages d'Europe (Quae).  
<https://www.quae.com/produit/1104/9782759219278/les-hymenopteres-parasitoïdes-oophages-d-europe/preview?escape=false#lg=1&slide=0>

Pitcher, S. A., Hoffmann, M. P., Gardner, J., Wright, M. G. et Kuhar, T. P. (2002). Cold storage of *Trichogramma ostrinae* reared on *Sitotroga cerealella* eggs. *BioControl*, 47(5), 525-535.  
<https://doi.org/10.1023/A:1016533116798>

Pizzol, J. et Pintureau, B. (2008). Effect of photoperiod experienced by parents on diapause induction in *Trichogramma cacoeciae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 127(1), 72-77. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2008.00671.x>

Polilov, A. (2012). The smallest insects evolve anucleate neurons. *Arthropod structure & development*, 41(1). <https://doi.org/10.1016/j.asd.2011.09.001>

Pompanon, F., Fouillet, P., Allemand, R. et Bouletreau, M. (1993). Temporal Organization of Locomotor-Activity in *Trichogramma* Species (hym Trichogrammatidae) - Variability and Relation to Efficiency of Parasitism. *Bulletin De La Societe Zoologique De France-Evolution Et Zoologie*, 118(2), 141-148.

Pompanon, F., Fouillet, P. et Bouletréau, M. (1995). Emergence rhythms and protandry in relation to daily patterns of locomotor activity in *Trichogramma* species. *Evolutionary Ecology*, 9(5), 467-477. <https://doi.org/10.1007/BF01237829>

Ponce, F. da S., Oliveira, M. D. de, Toledo, C. A. de L., Oliveira, L. A. de, Silva, W. R. M. da, Júnior, S. S. et Oliveira, R. C. de. (2022). Dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em cultivos de couve e repolho. *Comunicata Scientiae*, 13, e3834-e3834. <https://doi.org/10.14295/cs.v13.3834>

Pratissoli, D., Vianna, U. R., Zago, H. B. et Pastori, P. L. (2005). Capacidade de dispersão de *Trichogramma* em tomateiro estaqueado. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(6), 613-616. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2005000600013>

- Querino, R. B., Zucchi, R. A. et Pinto, J. D. (2010). Systematics of the Trichogrammatidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) with a Focus on the Genera Attacking Lepidoptera. Dans F. L. Consoli, J. R. P. Parra et R. A. Zucchi (dir.), *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma* (p. 191-218). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9110-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9110-0_7)
- R Core Team. (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>
- Rajamohan, A. et Leopold, R. A. (2007). Cryopreservation of Mexican fruit flies by vitrification: Stage selection and avoidance of thermal stress. *Cryobiology*, 54(1), 44-54. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2006.10.192>
- Ramesh, B. et Manickavasagam, S. (2003). Tradeoff Between Longevity and Fecundity in Relation to Host Availability in a Thelytokous Oophagous Parasitoid, *Trichogramma brasiliensis* Ashmead (Trichogrammatidae: Hymenoptera). *International Journal of Tropical Insect Science*, 23(3), 207-210. <https://doi.org/10.1017/S1742758400023602>
- Remaudière, G. et Leclant, F. (1971). Le complexe des ennemis naturels des Aphides du Pêcher dans la moyenne vallée du Rhone. *Entomophaga*, 16(3), 255-267. <https://doi.org/10.1007/BF02371105>
- Remongin, X. (2016). Le projet agro-écologique en 12 clés. *Agriculture.gouv.fr*. <https://onurrome.delegfrance.org/L-agro-ecologie>
- Reynolds, A. M. (2014). Mussels realize Weierstrassian Lévy walks as composite correlated random walks. *Scientific Reports*, 4(1), 4409. <https://doi.org/10.1038/srep04409>
- Reynolds, D. R. et Riley, J. R. (1997). Flight behaviour and migration of insect pests: radar studies in developing countries. Natural Resources Institute.
- Richardson, B. J., Baverstock, P. R. et Adams, M. (2012). *Allozyme Electrophoresis: A Handbook for Animal Systematics and Population Studies*. Academic Press.
- Rincon Lopez, C. (2006). Différenciation populationnelle chez le parasitoïde *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) : génétique, comportement et évolution (Publication no Bénin) [thesis, ENSAM]. <https://agritrop.cirad.fr/536060/>

- Robinson, R. A. et Sutherland, W. J. (2002). Post-war changes in arable farming and biodiversity in Great Britain. *Journal of Applied Ecology*, 39(1), 157-176. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2002.00695.x>
- Roderick, G. K. et Caldwell, R. L. (1992). An entomological perspective on animal dispersal. Dans N. Chr. Stenseth et W. Z. Lidicker (dir.), *Animal Dispersal: Small mammals as a model* (p. 274-290). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-2338-9\\_13](https://doi.org/10.1007/978-94-011-2338-9_13)
- Roff, D. A. (1984). The Cost of Being Able to Fly: A Study of Wing Polymorphism in Two Species of Crickets. *Oecologia*, 63(1), 30-37.
- Roitberg, B. D., Boivin, G. et Vet, L. E. M. (2001). Fitness, parasitoids, and biological control: an opinion<sup>1</sup>. *The Canadian Entomologist*, 133(3), 429-438. <https://doi.org/10.4039/Ent133429-3>
- Romeis, J., Shanower, T. G. et Peter, A. J. (1996). Type and Distribution of Trichomes on Pigeonpea Leaves. *International Chickpea Newsletter*, 3, 101-102.
- Romeis, J., Shanower, T. G. et Zebitz, C. P. W. (1998a). Physical and chemical plant characters inhibiting the searching behaviour of *Trichogramma chilonis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 87(3), 275-284. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1998.00332.x>
- Romeis, J., Shanower, T. G. et Zebitz, C. P. W. (1998b). Response of *Trichogramma* egg parasitoids to colored sticky traps. *BioControl*, 43(1), 17-27. <https://doi.org/10.1023/A:1009905722193>
- Romeis, J., Shanower, T. et Zebitz, C. (1999). *Trichogramma* egg parasitism of *Helicoverpa armigera* on pigeonpea and sorghum in southern India. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 90, 69-81. <https://doi.org/10.1023/A:1003502331350>
- Ronce, O. (2007). How Does It Feel to Be Like a Rolling Stone? Ten Questions About Dispersal Evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 38(1), 231-253. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.095611>
- Rossi, R. E., Mulla, D. J., Journel, A. G. et Franz, E. H. (1992). Geostatistical Tools for Modeling and Interpreting Ecological Spatial Dependence. *Ecological Monographs*, 62(2), 277-314. <https://doi.org/10.2307/2937096>

Russo, J. et Pintureau, B. (1981). Etude biométrique du dimorphisme sexuel chez *Trichogramma maidis* et *T. nubillale* (Hym. Trichogrammatidae). Publications de la Société Linnéenne de Lyon, 50(6), 193-201. <https://doi.org/10.3406/linly.1981.10490>

Salt, G. et Gray, J. (1997). Experimental studies in insect parasitism III—host selection. Proceedings of the Royal Society of London. Series B - Biological Sciences, 117(805), 413-435. <https://doi.org/10.1098/rspb.1935.0037>

Schmidt, J. M. et Smith, J. J. B. (1989). Host examination walk and oviposition site selection of *Trichogramma minutum*: Studies on spherical hosts. Journal of Insect Behavior, 2(2), 143-171. <https://doi.org/10.1007/BF01053289>

Schöller, M. et Prozell, S. (2002). Response of *Trichogramma evanescens* to the main sex pheromone component of *Ephestia* spp. and *Plodia interpunctella*, (Z,E)-9,12-tetra-decadenyl acetate (ZETA). Journal of Stored Products Research, 38(2), 177-184. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(01\)00015-7](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(01)00015-7)

Seko, T., Yamashita, K. et Miura, K. (2008). Residence period of a flightless strain of the ladybird beetle *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) in open fields. Biological Control, 47(2), 194-198. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.08.007>

Service public. (2014). Article L253-6 - Code rural et de la pêche maritime - Légifrance. [https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article\\_lc/LEGIARTI000029595072/2014-10-15](https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000029595072/2014-10-15)

Sharma, S. et Aggarwal, N. (2015). Dispersal ability and parasitisation performance of *Trichogramma* spp (Hymenoptera:Trichogrammatidae) in organic Basmati rice. Journal of Environmental Biology, 36(6), 1345-1348.

Sigsgaard, L. (2005). Biological control of arthropod pests in outdoor crops - the new challenge. [https://research.ku.dk/search/result/?pure=en/publications/biological-control-of-arthropod-pests-in-outdoor-crops--the-new-challenge\(ac01fda0-a1bf-11dd-b6ae-000ea68e967b\)/export.html](https://research.ku.dk/search/result/?pure=en/publications/biological-control-of-arthropod-pests-in-outdoor-crops--the-new-challenge(ac01fda0-a1bf-11dd-b6ae-000ea68e967b)/export.html)

Simmonds, F. J. (1967). THE ECONOMICS OF BIOLOGICAL CONTROL. Journal of the Royal Society of Arts, 115(5135), 880-898.

Singh, K. et Xie, M. (2008). Bootstrap: A Statistical Method.

Sirami, C., Theau, J. P. et Ryschawy, J. J. (2016). Services écosystémiques dans les agroécosystèmes : Définition. <https://doi.org/10.17180/G1QE-4S49>

Sithanantham, S. (2013). Trichogramma: Nontarget Risk Assessment Methodologies and Guidelines. Dans S. Sithanantham, C. R. Ballal, S. K. Jalali et N. Bakthavatsalam (dir.), *Biological Control of Insect Pests Using Egg Parasitoids* (p. 209-222). Springer India. [https://doi.org/10.1007/978-81-322-1181-5\\_10](https://doi.org/10.1007/978-81-322-1181-5_10)

Smaili, M. C., Abbassi, M., Boutaleb, J. A. et Blenzar, A. (2013). Richesse spécifique des ennemis naturels associés aux vergers d'agrumes au Maroc: Intérêt et implication pour la lutte biologique. *EPPO Bulletin*, 43(1), 155-166. <https://doi.org/10.1111/epp.12013>

Smith, L. I. (2002). A tutorial on Principal Components Analysis.

Smith, S. (1996). Biological Control with Trichogramma: Advances, Successes, and Potential of Their Use. *Annual review of entomology*. Vol. 41, 41, 375-406. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.41.1.375>

Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F. et Sharma, A. (2020). Trichoderma: The “Secrets” of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants*, 9(6), 762. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>

Southwood, T. et Henderson, P. (2000). *Ecological Methods* 3rd edition.

Southwood, T. R. E. (1962). Migration of Terrestrial Arthropods in Relation to Habitat. *Biological Reviews*, 37(2), 171-211. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1962.tb01609.x>

Stiling, P. et Cornelissen, T. (2005). What makes a successful biocontrol agent? A meta-analysis of biological control agent performance. *Biological Control*, 34(3), 236-246. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.02.017>

Stinner, R. E., Barfield, C. S., Stimac, J. L. et Dohse, L. (1983). Dispersal and Movement of Insect Pests. *Annual Review of Entomology*, 28(1), 319-335. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.28.010183.001535>

Stoffel, M. et Schielzeth, H. (2017). rptR: Repeatability estimation and variance decomposition by generalized linear mixed-effects models. *Methods in Ecology and Evolution*, 8. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12797>



Storey, J. D. (2010). Princeton University, Princeton, USA.

Stork, N. E. (2018). How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth? *Annual Review of Entomology*, 63(1), 31-45. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-020117-043348>

Strand, M. R., Vinson, S. B., Nettles, W. C. et Xie, Z. N. (1988). In vitro culture of the egg parasitoid *Telenomus heliothidis*: the role of teratocytes and medium consumption in development. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 46(1), 71-78. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1988.tb02269.x>

Sumer, F., Tuncbilek, A. S., Oztemiz, S., Pintureau, B., Rugman-Jones, P. et Stouthamer, R. (2009). A molecular key to the common species of *Trichogramma* of the Mediterranean region. *BioControl*, 54(5), 617-624. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9219-8>

Suverkropp, B. P., Bigler, F. et Lenteren, J. C. V. (2001). Temperature influences walking speed and walking activity of *Trichogramma brassicae* (Hym., Trichogrammatidae). *Journal of Applied Entomology*, 125(6), 303-307. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2001.00546.x>

Suzuki, Y., Tsuji, H. et Sasakawa, M. (1984). Sex allocation and effects of superparasitism on secondary sex ratios in the gregarious parasitoid, *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Animal Behaviour*, 32(2), 478-484. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(84\)80284-5](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(84)80284-5)

Talley, J. L., White, E. B. et Willis, M. A. (2023). A comparison of odor plume-tracking behavior of walking and flying insects in different turbulent environments. *Journal of Experimental Biology*, 226(2), jeb244254. <https://doi.org/10.1242/jeb.244254>

Thibierge, J. (2015). Mise en oeuvre du biocontrôle par les agriculteurs. Retour d'expérience sur le succès du trichogramme contre la pyrale du maïs. Quels enseignements pour développer de nouvelles solutions ?, (46), 95-104.

Tigreros, N. et Davidowitz, G. (2019). Chapter One - Flight-fecundity tradeoffs in wing-monomorphic insects. Dans R. Jurenka (dir.), *Advances in Insect Physiology* (vol. 56, p. 1-41). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.aiip.2019.02.001>

Tilman, D., Cassman, K. G., Matson, P. A., Naylor, R. et Polasky, S. (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*, 418(6898), 671-677. <https://doi.org/10.1038/nature01014>

Treacy, M. F., Benedict, J., Segers, J. C., Morrison, R. K. et López, J. (1986). Role of cotton trichome density in bollworm (Lepidoptera: Noctuidae) egg parasitism. <https://doi.org/10.1093/EE/15.2.365>

Turchin, P. (1998). *Quantitative Analysis of Movement: Measuring and Modeling Population Redistribution in Animals and Plants*. Sinauer.

van den Bosch, R. (1975). Biological Control of Insects by Predators and Parasites. *Environmental Letters*, 8(1), 5-21. <https://doi.org/10.1080/00139307509435833>

Van Driesche, R., Hoddle, M. et Center, T. (2008). *Control of Pests and Weeds by Natural Enemies: an introduction to biological control*. Blackwell Publishing.

Van Hezewijk, B. H., Bouchier, R. S. et Smith, S. M. (2000). Searching Speed of *Trichogramma minutum* and Its Potential as a Measure of Parasitoid Quality. *Biological Control*, 17(2), 139-146. <https://doi.org/10.1006/bcon.1999.0785>

Vandermeer, J. (1995). The Ecological Basis of Alternative Agriculture. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 26(1), 201-224. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.26.110195.001221>

Vanderpooten, M. (2001). *Eléments techniques d'une révolution agricole au début de l'époque contemporaine* [These de doctorat, Toulouse 2]. <https://www.theses.fr/2001TOU20008>

van Lenteren, J. (1986). Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. *Biological Plant and Health Protection. Series on Progress in Zoology*, 32, 31-56.

van Lenteren, J. C. (2000). Success in Biological Control of Arthropods by Augmentation of Natural Enemies. Dans G. Gurr et S. Wratten (dir.), *Biological Control: Measures of Success* (p. 77-103). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-4014-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-011-4014-0_3)

- van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J. et Urbaneja, A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, 63(1), 39-59. <https://doi.org/10.1007/s10526-017-9801-4>
- Varley, M. J., Copland, M. J. W., Wratten, S. D. et Bowie, M. H. (1994). Parasites and Predators. Dans S. D. Wratten (dir.), *Video Techniques in Animal Ecology and Behaviour* (p. 33-63). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-0699-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0699-3_3)
- Vavre, F., de Jong, J. H. et Stouthamer, R. (2004). Cytogenetic mechanism and genetic consequences of thelytoky in the wasp *Trichogramma cacoeciae*. *Heredity*, 93(6), 592-596. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800565>
- Ventura Garcia, P., Wajnberg, E., Pizzol, J. et Oliveira, M. L. M. (2002). Diapause in the egg parasitoid *Trichogramma cordubensis*: role of temperature. *Journal of Insect Physiology*, 48(3), 349-355. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(02\)00052-5](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(02)00052-5)
- Vieira, S., Hatfield, J., Nielsen, D. et Biggar, J. (1983). Geostatistical theory and application to variability of some agronomical properties. *Hilgardia*, 51, 1-75. <https://doi.org/10.3733/hilg.v51n03p075>
- Villemaine, R., Compagnone, C. et Falconnet, C. (2021). The social construction of alternatives to pesticide use: A study of biocontrol in Burgundian viticulture. *Sociologia Ruralis*, 61(1), 74-95. <https://doi.org/10.1111/soru.12320>
- Wajnberg, E. (2004). Measuring genetic variation in natural enemies used for biological control: why and how? *Genetics, evolution and biological control*, 19-37. <https://doi.org/10.1079/9780851997353.0019>
- Wajnberg, E. et Colazza, S. (1998). Genetic variability in the area searched by a parasitic wasp: analysis from automatic video tracking of the walking path. *Journal of Insect Physiology*, 44(5), 437-444. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(98\)00032-8](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(98)00032-8)
- Wajnberg, E. et Hassan, S. A. (dir.). (1994). *Biological control with egg parasitoids*. CAB International on behalf of the International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants.

- Wang, B., Tian, C. et Sun, J. (2019). Effects of landscape complexity and stand factors on arthropod communities in poplar forests. *Ecology and Evolution*, 9(12), 7143-7156. <https://doi.org/10.1002/ece3.5285>
- Wang, D., He, X., Zhao, C., He, Y., Lu, L., Luo, Y. et Qiu, H. (2020). Walking patterns of *Trichogramma chilonis* and *Trichogrammatoidea bactrae* upon vegetable leaf surfaces. *Entomological Research*, 50(1), 38-49. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12408>
- Wang, K. et Shipp, J. (2004). Effect of release point density of *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera:Trichogrammatidae) on control efficacy of *Keiferia lycopersicella* (Walsingham) (Lepidoptera:Gelechiidae) in greenhouse tomato. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2004.01.016>
- Wang, W. B., Leopold, R. A., Nelson, D. R. et Freeman, T. P. (2000). Cryopreservation of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) embryos. *Cryobiology*, 41(2), 153-166. <https://doi.org/10.1006/cryo.2000.2278>
- Wang, Y., Hou, Y.-Y., Benelli, G., Desneux, N., Ali, A. et Zang, L.-S. (2022). *Trichogramma ostrinae* Is More Effective Than *Trichogramma dendrolimi* As a Biocontrol Agent of the Asian Corn Borer, *Ostrinia furnacalis*. *Insects*, 13(1), 70. <https://doi.org/10.3390/insects13010070>
- Wehrens, R., Putter, H. et Buydens, L. M. C. (2000). The bootstrap: a tutorial. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 54(1), 35-52. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(00\)00102-7](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(00)00102-7)
- Wright, M., Hoffmann, M. P., Chenus, S. A. et Gardner, J. (2001). Dispersal Behavior of *Trichogramma ostrinae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Sweet Corn Fields: Implications for Augmentative Releases against *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). <https://doi.org/10.1006/BCON.2001.0948>
- Zang, L.-S., Wang, S., Zhang, F. et Desneux, N. (2021). Biological Control with *Trichogramma* in China: History, Present Status, and Perspectives. *Annual Review of Entomology*, 66(1), 463-484. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-060120-091620>
- Zaslavski, V. A. et Umarova, T. Ya. (1990). Environmental and endogenous control of diapause in *Trichogramma* species. *Entomophaga*, 35(1), 23-29. <https://doi.org/10.1007/BF02374297>

Zhou, J., Dong, Q., Zhang, T., Duan, L., Ning, S., Liu, Q., Li, Y., Li, C. et Dong, H. (2019). Effect of wind time on the dispersal capacity of *Trichogramma dendrolimi* Matsumura (Hymenoptera Trichogrammatidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 22(3), 742-749. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.06.001>