



Effacité potentielle des nématodes entomopathogènes pour contrôler la mouche de l'olive *Bactrocera oleae*:

Présentation des résultats obtenus lors de la campagne d'essais 2006 du laboratoire au plein champ

Direction : Philippe Olivier et Philippe Jean COULOMB

JUAN, Delphine., 10/05/2007

Société ENIGMA-Recherche

Domus Claudia, Hameau de St Véran

84 190 Beaumes de Venise

Tel : +33 (0) 4 90 65 06 54

<http://www.enigma-france.com>



Région



Provence-Alpes-Côte d'Azur

Introduction

- Mouche de l'olive = ravageur économiquement conséquent.
- Méthodes de lutte chimiques limitées : seulement trois molécules homologuées.
- Profil écotoxicologique très défavorable de ces molécules : forte toxicité pour les arthropodes non cibles.
- En agriculture biologique aucune alternative : échec de l'introduction du parasitoïde *Psytalia concolor*.
- Les nématodes sont étudiés outre-Atlantique sur *Ceratitis capitata*.
- Effets sur *Rhagoletis cerasi*.
- Efficacité sur mouches de la famille des Tephritidae.
- Efficacité sur *Bactrocera oleae*.
- Effets sur adultes mis en évidence en conditions contrôlées et sur essai en conditions naturelles.

I- Rappel sur les nématodes (1)

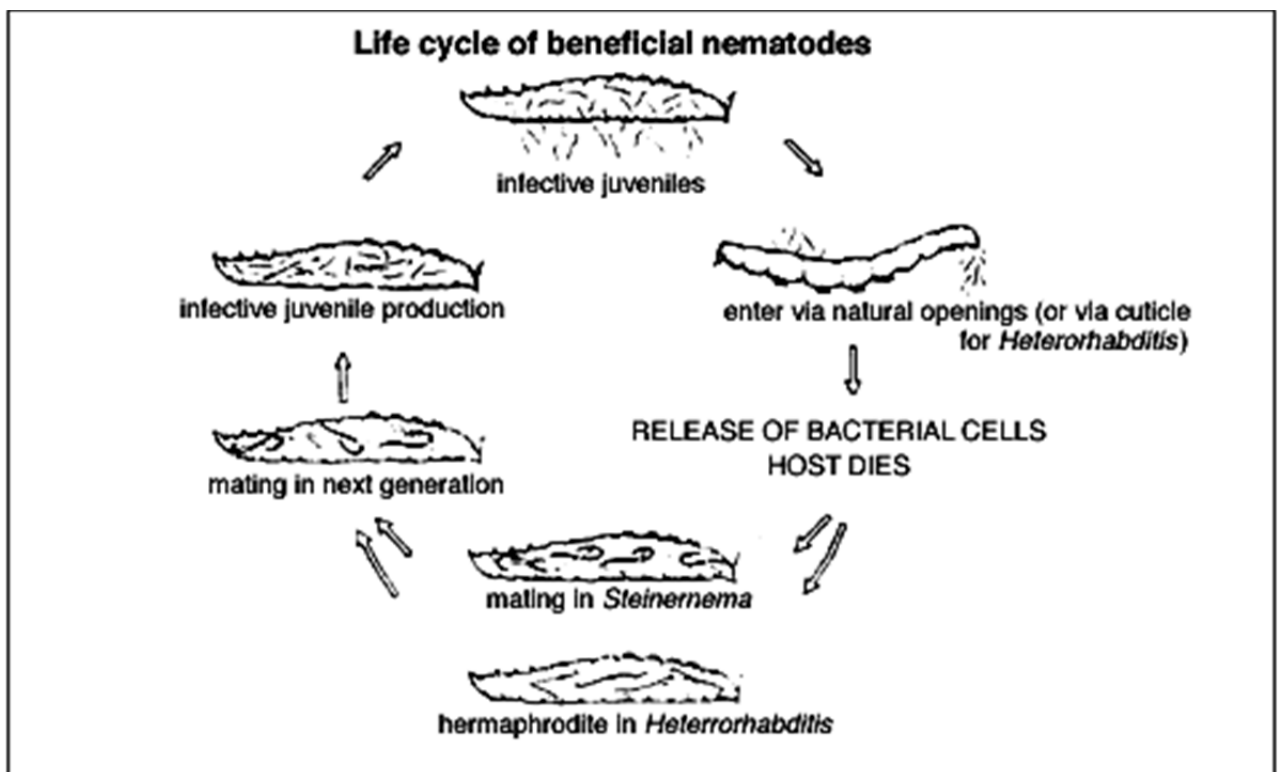
- Deux familles mono-génériques :
 - Steinernematidae genre *Steinernema*,
 - Heterorhabditidae genre *Heterorhabditis*.
- Steinernematidae :
 - *Steinernema feltiae* contre les larves de Sciaridae,

- *Steinernema kraussei* contre les larves d'otiorhynque,
- *Steinernema carpocapsae* contre les larves de coléoptères, orthoptères, noctuelles et tipules.
- Heterorhabditidae :
 - *Heterorhabditis bacteriophora* contre les larves de coléoptères.
 - *Heterorhabditis megidis* contre les larves d'otiorhynque.

I- Rappel (2)

Association mutualiste avec bactérie du genre :

- Xenorhabdus pour les nématodes du genre *Steinernema*,
- Photorhabdus pour les nématodes du genre *Heterorhabditis*,
- Stade infectieux du nématode = 3ème stade larvaire.
- Cycle :



I- Rappel (3)

- Comportements de localisation de l'hôte par le nématode :
 - « Cruisers » = nématodes qui recherchent activement l'hôte en se déplaçant dans le substrat (**exemple : *Steinernema feltiae***),
 - « Ambushers » = nématodes qui attendent le passage de l'hôte à proximité (**exemple : *Steinernema carpocapsae***).
- Conditions idéales de développement et d'infection :
 - Températures moyennes,
 - Hygrométrie élevée plus favorable,
 - Résistance et persistance d'action variable selon les espèces.

I- Rappel des travaux réalisés (4)

Lindegren J.E. and Vail P., 1986, Susceptibility of Mediterranean Fruit Fly, Melon Fly and Oriental Fruit Fly (Diptera : Tephritidae) to the Entomogeneous Nematode *Steinernema feltiae* in laboratory test, Environmental Entomology, 15, pp 465-468 : Evaluation de l'efficacité en conditions de laboratoire sur larves et pupes.

- Lindegren J.E., Wong T.T. and McInnis D.O., 1990, Response of Mediterranean Fruit Fly (Diptera : Tephritidae) to the Entomogeneous Nematode *Steinernema feltiae* in field tests in Hawäi, Environmental Entomology, 19(2), pp 383-386 : Evaluation de l'efficacité en conditions naturelles sur pupes.

- Patterson Stark J.E and Lacey L.A., 1999, Susceptibility of Western Cherry Fruit Fly (Diptera : Tephritidae) to five species of Entomopathogenic Nematodes in laboratory studies, Journal of Invertebrate Pathology, 74, pp 206-208 : Evaluation de l'efficacité en conditions de laboratoire sur pupes.

Efficacité des nématodes sur mouches de la famille des Tephritidae

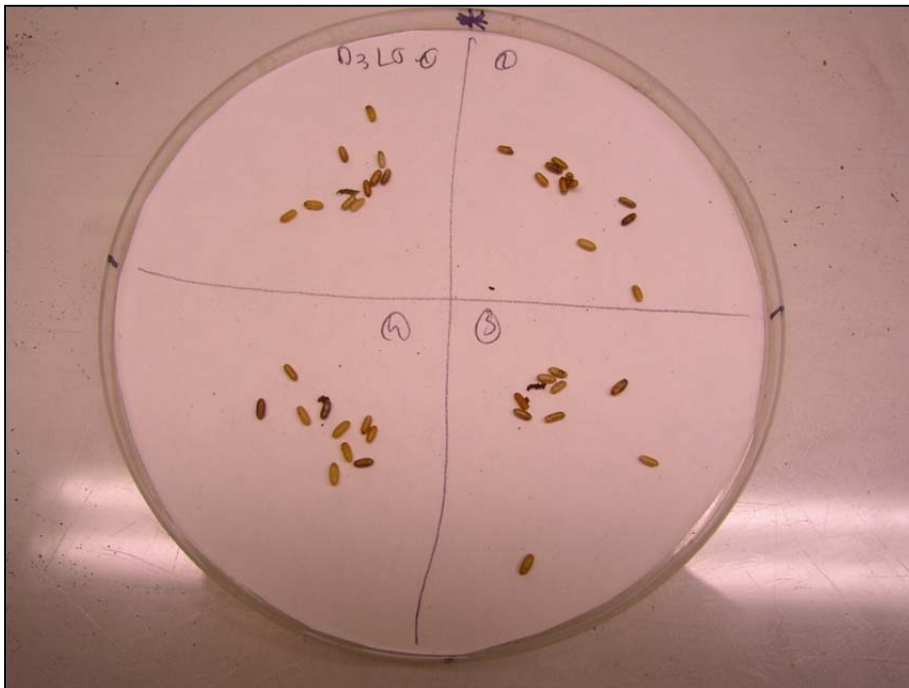
II- Etudes réalisées sur le stade pupa

- Les études réalisées sur pupes ont été réalisées dans des conditions de :
 - Laboratoire : test d'exposition de différents stades de pupes à des concentrations croissantes de nématodes *S.feltiae*,
 - Semi-field : exposition en tubes PVC enterrés dans le sol aux nématodes *S.feltiae*,
 - Plein champ : en oliveraie et en sol nu (2ème cas avec infestation artificielle de pupes) exposition à *S.feltiae*.



IIa- Etudes réalisées en conditions de laboratoire (1)

- Protocole:
 - Exposition de pupes jeunes (<48h) et de pupes dites âgées (>48h)
 - Exposition sur deux supports : papier filtre et terre tamisée
 - 4 répétitions
 - Témoin traité à l'eau
 - Doses de nématodes appliquées IJ/m² :
 - 500 000
 - 1 600 000
 - 5 000 000
 - Suivi émergence des pupes



Pupes sur filtre



Pupes sur terre tamisée

IIa- Etudes réalisées en conditions de laboratoire (2)

Organisme testé		<i>Bactrocera oleae</i>		
Exposition		Pupes Jeunes B		
Observations		T0	T+15	
Modalité	Nématodes IJ/m ²	Pupes	Pupes	Emergence%
Témoin	0	28	5	82.14 B
Dose 1	500 000	44	17	46.88 C
Dose 2	1 600 000	44	44	0.00 F
Dose 3	5 000 000	44	38	2.56 F
Exposition *		Pupes Agées A		
Observations		T0	T+15	
Modalité	Nématodes IJ/m ²	Pupes	Pupes	Emergence%
Témoin	0 A	36	0	100.00 A
Dose 1	500 000 B	72	46	36.11 D
Dose 2	1 600 000 D	72	1	1.41 F
Dose 3	5 000 000 C	72	7	10.00 E



pupesnema

IIa- Etudes réalisées en conditions de laboratoire (3)

- Commentaires et conclusion

- La sensibilité des pupes jeunes aux nématodes est plus importante que celle des pupes âgées
- Dès la première dose appliquée, on observe une réduction d'émergence significative pour les deux stades de pupes

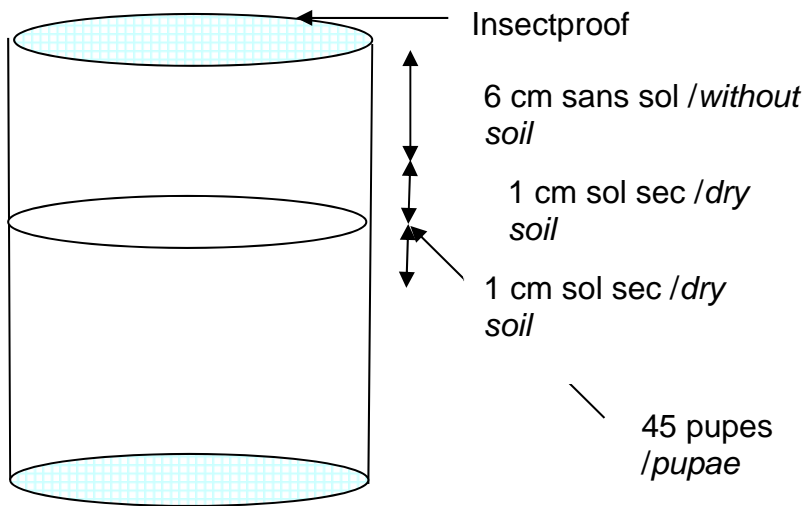
Les nématodes réduisent donc l'émergence des pupes de mouches de l'olive en les contaminant (cf photo ci-dessous)



Effet contamination

Iib- Etudes réalisées en conditions de semi-field (1)

- Protocole
 - Tubes PVC (25 cm de long et 9.5 cm de Ø)
 - Remplissage détaillé ci-contre
 - 4 répétitions
 - Témoin traité à l'eau
 - 5 doses IJ/m²
 - 500 000
 - 1 600 000
 - 5 000 000
 - Suivi émergence des pupes



Iib- Etudes réalisées en conditions de semi-field (2)

- Résultats
 - Pas de différence d'émergence entre les modalités
 - Résultats de prospection dans le sol

Modalités		Tubes en conditions naturelles				Tubes en conditions de laboratoire	
Répétition		1	2	3	4	1	2
Témoin	Niveau pupes	0	0	0	0	0	0
	Mi-hauteur	0	0	0	0	0	0
	Fond	0	0	0	0	0	0
Dose 1	Niveau pupes	0	0	0	0	0	0
	Mi-hauteur	0	0	0	0	0	0
	Fond	0	0	0	0	0	0
Dose 2	Niveau pupes	0	0	0	0	0	0
	Mi-hauteur	0	0	0	0	0	0
	Fond	0	0	0	0	1	1
Dose 3	Niveau pupes	0	0	0	0	0	0



Iib- Etudes réalisées en conditions de semi-field (3)

- Commentaires et conclusion
- L'effet des nématodes entomopathogènes sur l'émergence des pupes de mouche de l'olive n'a pas été mis en évidence.

- Le dispositif expérimental n'a pas permis aux nématodes de rester au contact des pupes.
- Les prélèvements de sol confirment cette hypothèse : aucun nématode n'a été retrouvé dans les tubes en plein champ aux différentes hauteurs et ceux retrouvés dans les tubes en laboratoire ont été localisés dans le sol à 15 cm en dessous du niveau où les pupes avaient été disposées.
- Le sol mis dans les tubes a été travaillé et partiellement tamisé. Les nématodes, ayant été appliqués en solution aqueuse par gravité, sont descendus dans la colonne de sol et ne sont pas restés suffisamment longtemps en contact avec les pupes pour les infecter.



Iic- Etudes réalisées en conditions de Plein champ (1)

- Protocole
 - 2 sites
 - 1 souche naturelle et 1 artificiellement infestés
 - Cadre aluminium, filet, piège englué
 - Témoin traité à l'eau
 - 4 répétitions
 - Traitement au sol avec nématodes aux doses (IJ/m²) de
 - 100 000
 - 180 000
 - 320 000
 - 570 000
 - 1 000 000
 - Suivi captures sur pièges englués

– Suivi des émergences avec pièges alimentaires Tephri-traps® sur le site



IIc- Etudes réalisées en conditions de Plein champ (2)

- Résultat
- les résultats de cette étude ne permettent pas de conclure à un effet potentiel des nématodes sur les pupes mouches : aucune mouche n'a été capturée dans les unités témoins au sol sur les deux sites.
- Les captures dans les pièges alimentaires ont démarrés fin août.



IIC- Etudes réalisées en conditions de Plein champ (3)

- Commentaires et conclusion
- Sur plusieurs sites et deux saisons :
 - aucune mouche capturée au sol sur une surface cumulée d'environ 100m² (24 m² de cadre par essai, 2 essais par saison et 2 saisons d'essais).
 - Les sols, sur lesquels les essais étaient mis en place, nus et peu travaillés.
 - Type de sol potentiellement défavorable aux mouches.
 - Aucune capture n'a été observée au sol sur le second site artificiellement infesté alors que des pupes avaient émergé du lot de contrôle conservé hors sol, à des conditions climatiques comparables à celles du site 2.
- **D'où viennent les mouches?**
- **Pas du site... pas de la région?**



III- Etudes réalisées sur le stade adulte

- Les études réalisées sur adultes ont été réalisées dans des conditions de :
 - Laboratoire : exposition des adultes via un support alimentaire + nématodes (*S.feltiae*),
 - Laboratoire : cinétique de contact nématodes (*S.feltiae*)/mouches,
 - Plein champ : comparaison de deux systèmes de capture dont un utilisant des nématodes *S.feltiae*.



IIIa- Etudes réalisées sur le stade adulte en laboratoire sur support alimentaire (1)

- Protocole
 - Boîte de polystyrol
 - Solution de nématodes à 50 000IJ/mL
 - Source d'aliment avec nématodes incorporés à différentes concentrations :
 - 0% (témoin)
 - 25%
 - 50%
 - 75%
 - 100%
 - Suivi mortalité des adultes et contamination par nématodes



Boîte de polystyrol

IIIa- Etudes réalisées sur le stade adulte en laboratoire sur support alimentaire (2)

Formulations d'essai		T+1	T+2	T+4	T+10
Proportions		M%			
0%	Témoin	5.00 B	5.00 B	10.00 C	20.00 CD
25%	Nématodes	33.33 A	47.62 A	61.90 B	71.43 B
50%		0.00 B	0.00 B	0.00 C	10.00 D
75%		10.00 B	20.00 B	20.00 C	45.00 BC
100%		35.71 A	73.33 A	100.00 A	100.00 A



Mouche attaquée par des nématodes

Film montrant une mouche de l'olive attaquée par des nématodes.

Laboratoire ENIGMA,
Beaumes-de-Venise.

Cf vidéo en bas de page internet

Le mucus blanchâtre qui recouvre la mouche est constitué des nématodes qui attaquent celle-ci.

IIIa- Etudes réalisées sur le stade adulte en laboratoire sur support alimentaire (3)

- Commentaires et conclusion
- Efficacité potentielle des nématodes entomopathogènes pour contrôler les populations de mouches de l'olive au stade adulte.
- Effet choc après 24 heures pour les mouches adultes se posant sur le coton imbibé de sucre et de nématodes.
- Meilleure approche de ce qui pourrait se passer en plein champ : un délai d'action court après contact et la possibilité d'une contamination entre les mouches infectées et les mouches saines après prise de nourriture dans un piège alimentaire.



Les filaments blancs de la photo ci-dessus sont les nématodes qui attaquent la mouche

IIIb- Etudes réalisées sur le stade adulte en laboratoire sur papier filtre (1)

- *Protocole:*

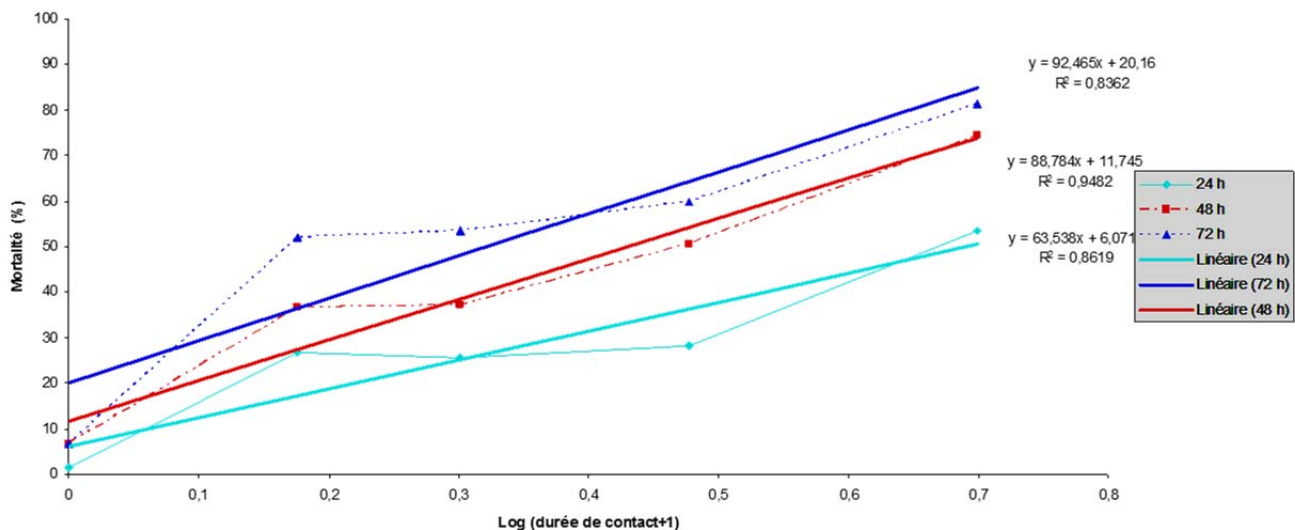
- *Mise en contact d'adultes de mouche âgés de 24-48h avec solution de nématodes concentrées à 50 000 IJ/mL*
- *Temps de contact :*
 - *0 seconde (témoin)*
 - *30 secondes*

- 60 secondes
- 120 secondes
- 240 secondes

IIIb- Etudes réalisées sur le stade adulte en laboratoire sur papier filtre (2)

- *Résultats : Les nématodes entomopathogènes sont efficaces pour contrôler les adultes de la mouche de l'olive.*
- *La mortalité occasionnée par le contact des adultes de mouche avec les nématodes est significativement augmentée lorsque le contact dure plus de 120 secondes, 24 et 48 heures après le contact. 72 heures après l'exposition, toutes les durées de contact occasionnent une mortalité comparable et significativement supérieure à celle observée dans le témoin.*

Cinétique de mortalité des adultes de *Bactrocera oleae* en fonction du log(durée de contact+1)



IIIb- Etudes réalisées sur le stade adulte en laboratoire sur papier filtre (3)

- Commentaires et conclusion :
- Augmentation significative de la mortalité des adultes de mouche après contact avec une solution de nématodes entomopathogènes (concentrée à 50 000 IJ/mL)
- Effet choc de la contamination plus marqué pour des contacts de 240 secondes (4 minutes).
- Au bout de 72 heures, les mortalités obtenues pour les différents temps de contact ne sont plus significativement différentes.
- **la contamination est effective dès un court contact (30 secondes), le temps qui s'écoule avant la mort des mouches est lié ensuite au temps nécessaire aux nématodes présents sur l'adulte pour se reproduire et occasionner sa mort.**

IIIc- Etudes réalisées sur le stade adulte en plein champ (1)

- Protocole :
 - Test sur microsite

- Utilisation de pièges Tephritraps[®] (photo ci-dessous) avec phéromone
- 2 pièges par arbre (Nord/Sud)
 - Pièges avec nématodes (50 000IJ/mL) (25% v/v) + Hydrolysate (75% v/v)
 - Pièges avec hydrolysate seul
- Captures comparées avec Dacus Stick



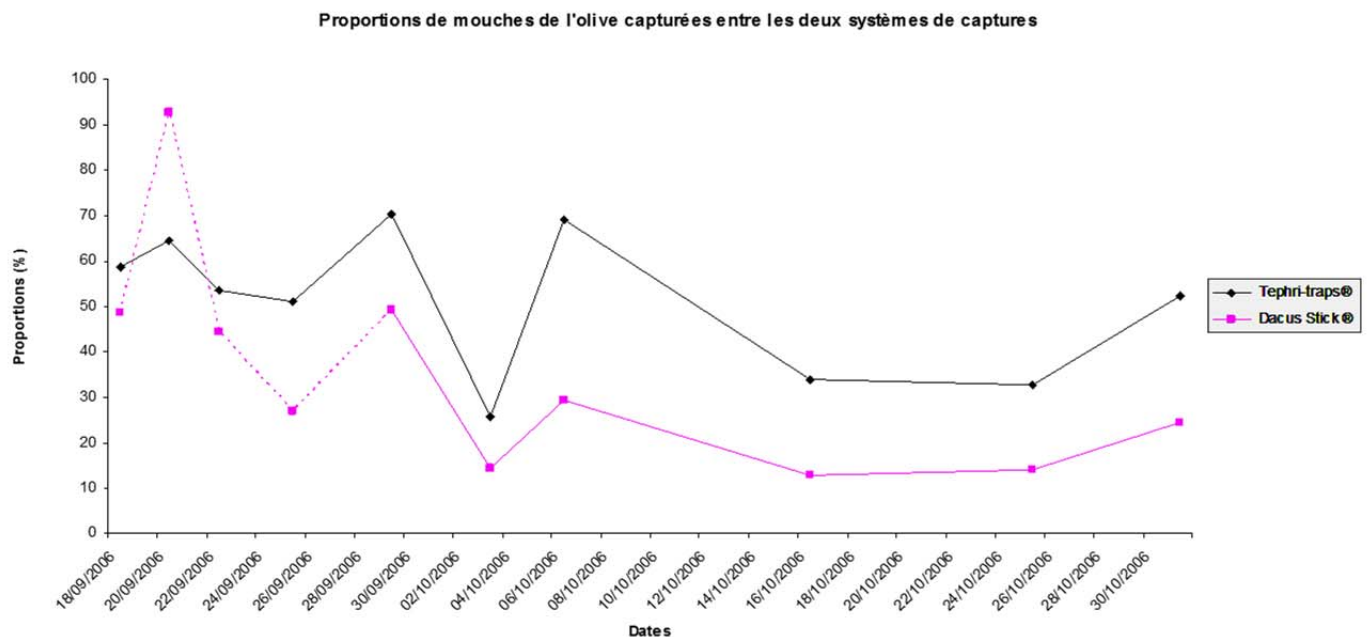
Piège Tephritraps



Piège Dacus stick

IIIc- Etudes réalisées sur le stade adulte en plein champ (2)

- *Résultats :*
- *Pièges Tephri-traps plus spécifiques*
- *Attractivité comparable des pièges avec nématodes et sans nématodes*
- *Avantage : les nématodes neutralisent les mouches capturées*



IIIc- Etudes réalisées sur le stade adulte en plein champ (3)

- Commentaires :
- Détection des populations de mouches dès leur arrivée sur la parcelle,
- Sélection du type d'insectes capturés par différentes voies : mécanique ; opercules d'entrée de taille limitée, chimique : phéromone spécifique de la mouche de l'olive, alimentaire : aliment attractif pour les mouches.
- La présence des nématodes permet ensuite de neutraliser les mouches capturées.
- Ce dispositif a permis de mettre en évidence l'efficacité des nématodes sur adultes dans le cadre de piégeages de masse.
- A creuser et à développer lors d'un essai en grande parcelle.

IIIc- Etudes réalisées sur le stade adulte en plein champ (4)

- Perspectives :
- Avantage de la technique:
- Réduction du nombre d'adultes présents dans le verger (effet direct) : capture **EN MASSE** les adultes présents dans le verger.
- Attraction des mouches sur les pièges (perturbation du comportement) et réduction des dégâts (effet indirect).
- Pas d'obstacle technique ou économique

Renouvellement naturel de la population de nématodes dans le piège