

Coordination de SaveBuxus : ASTREDHOR et Plante & Cité

Le programme SaveBuxus (2014/2017)

ASTREDHOR et Plante & Cité coordonnent le programme SaveBuxus qui vise à apporter des solutions concrètes pour lutter efficacement contre deux bioagresseurs du buis : la pyrale et la cylindrocladiose. Depuis 2014, des expérimentations sont en cours dans des parcs et jardins ainsi que dans les stations d'expérimentation d'ASTREDHOR et de l'Unité expérimentale Entomologie et Forêt Méditerranéenne de l'Inra PACA. Koppert France est fournisseur de solutions de biocontrôle.

Partenaires scientifiques et techniques



Partenaires financiers



Cette synthèse présente les résultats et principaux enseignements de la 2^e année de travaux du programme SaveBuxus® pour les différents axes d'expérimentation du volet « pyrale du buis ». Pour en savoir plus sur le programme SaveBuxus®, consultez le site internet des partenaires.

Bilan 2015

Les travaux réalisés en 2015 ont permis d'avancer davantage vers la construction d'une stratégie de gestion de la pyrale :

- Sur chenilles, l'efficacité du traitement à base de *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki ABTS-351 sera optimisée si ce dernier est réalisé avec un atomiseur, ou à défaut, avec un pulvérisateur à dos pour lequel le volume de bouillie permet d'atteindre la limite de ruissellement.

- Sur papillons, pour le piégeage, toutes les phéromones commercialisées en France en 2015 étaient suffisamment attractives. L'utilisation du piège BUXatrap® pour le piégeage à grande capacité offre une solution complémentaire aux traitements.

- Sur œufs, en laboratoire, plusieurs souches de trichogrammes indigènes ont démontré leur intérêt. Les travaux doivent se poursuivre pour permettre, d'ici plusieurs années, l'utilisation de cette technique.

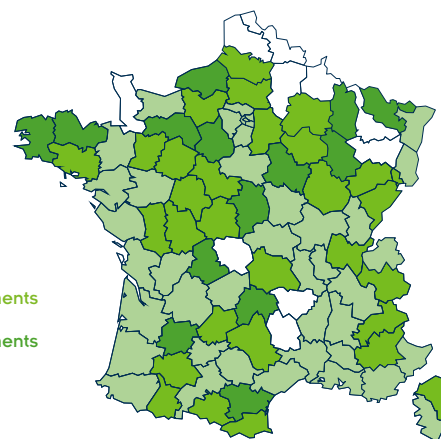
Suivi de la biologie : résultats 2015

Une connaissance fine de la biologie de la pyrale du buis est essentielle à la construction de stratégies de gestion pertinentes. Des suivis ont ainsi été effectués par un réseau de 23 partenaires en 2014 et 2015 (cf compte-rendu complet).

Les données issues de ces observations ont été complétées par l'étude des BSV Zones Non Agricoles pour apporter une vision globale du cycle de développement et de la répartition de la pyrale en France.

Répartition en France métropolitaine

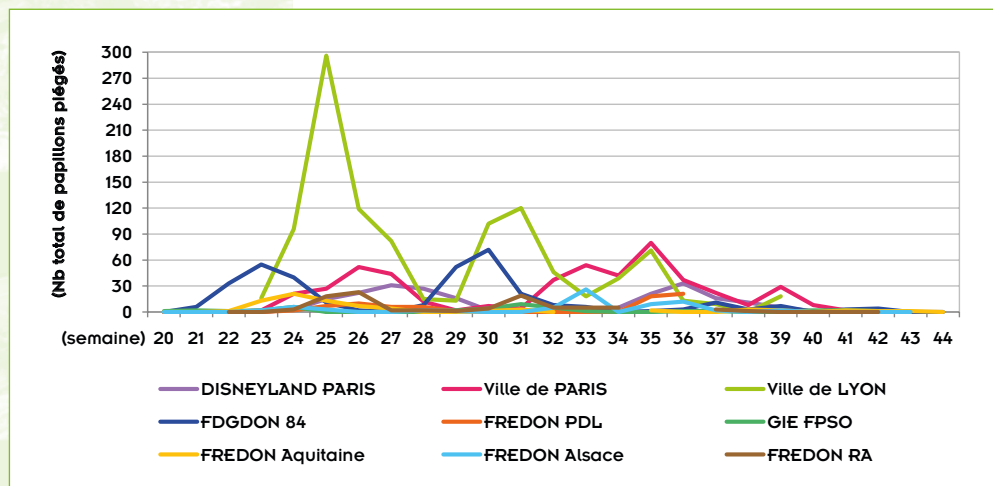
Arrivée d'Alsace en 2008, la pyrale est présente fin 2015 dans 86 départements (soit 15 départements de plus qu'en 2014). Elle occupe désormais l'ensemble des régions de France. La pression est particulièrement forte au niveau de la petite couronne parisienne, de l'Alsace, de la région bordelaise, de la région Rhône-Drôme, de l'est de la région PACA, et depuis 2015, dans le sud de la Bretagne et dans la moitié sud des Pays de la Loire.



Répartition 2013
Nouveaux départements colonisés en 2014
Nouveaux départements colonisés en 2015

Répartition de la pyrale en France métropolitaine en décembre 2015 • Source : Plante & Cité

Dynamique de développement de la pyrale



Courbes de vol 2015
Source : Plante & Cité

Des différences ont pu être observées entre 2014 et 2015 du fait de conditions météorologiques variables :

- Les chenilles hivernantes reprennent leur activité de début mars à mi-avril selon la situation géographique et les caractéristiques propres à chaque chenille.
- La 1^e génération, issue des chenilles hivernantes, est observée de mars à juillet, avec des vols courant juin.
- La 2^e génération s'observe de juin à mi-août, avec des vols en août. A partir de fin juillet-début août, les stades et générations se chevauchent, les vols s'observent en continu. Le nombre d'individus se multiplie. Selon les régions, on observe en tout de deux à, potentiellement, quatre générations.

Les dégâts sont engendrés à partir de mars-avril avec la reprise d'activité des chenilles. On peut observer dès cette époque des défoliations quasi totales des arbustes touchés

sur les sites les plus lourdement infestés. Les dégâts augmentent progressivement jusqu'à juin, lorsque les chenilles arrêtent de s'alimenter et entrent en nymphose. Les buis émettent alors de nouvelles pousses. Dès juillet-août, du fait du chevauchement des stades et générations, on observe en continu des chenilles qui s'alimentent. Les dégâts explosent en septembre. Lorsque le feuillage est largement consommé, les chenilles finissent par décapier l'écorce des rameaux. On observe alors de plus en plus de dépérissements de buis.

Les premiers cocons d'hivernation sont observés dès les premières vagues de froid en septembre 2015, ou à partir d'octobre en 2014, les dernières chenilles actives entrant en hivernation début novembre. En octobre, on observe donc simultanément cocons d'hivernation et chenilles actives. Selon les sites, le stade larvaire hivernant peut varier.

Optimisation de la pulvérisation : résultats 2015

En 2014, des essais ont été réalisés afin de tester l'efficacité des agents entomopathogènes (nématodes et *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* - Btk) pour lutter contre les stades larvaires de la pyrale. Il ressort que le Btk permet un contrôle efficace du ravageur s'il est positionné dans de bonnes conditions (climat, stade...). Cependant, pour s'assurer d'une efficacité optimale, le produit de contact (ingestion) doit pénétrer jusqu'au cœur du buis, où se logent de nombreuses chenilles.

Le buis étant un arbuste au port très compact, il s'avère nécessaire d'adapter la pulvérisation pour assurer une

bonne couverture. Des essais ont donc été conduits en 2015 par le GIE Fleurs et Plantes sur deux sites afin d'identifier les facteurs permettant une meilleure pénétration du Btk (matériel de pulvérisation, volume de bouillie, ajout d'un adjuvant - SQUAD, triglycérider issu d'une huile végétale). Sept modalités ont ainsi été testées par une série de deux traitements sur la 1^e génération de chenilles. De plus, l'efficacité du Btk ABTS-351 32000 UI/MG (0,75 Kg/ha ; BACTURA DF) a été comparée à celle du mélange huile de colza 825,3 g/L+ pyrèthres naturels 4,59 g/L (10L/ha ; SPRUTZIT EC).

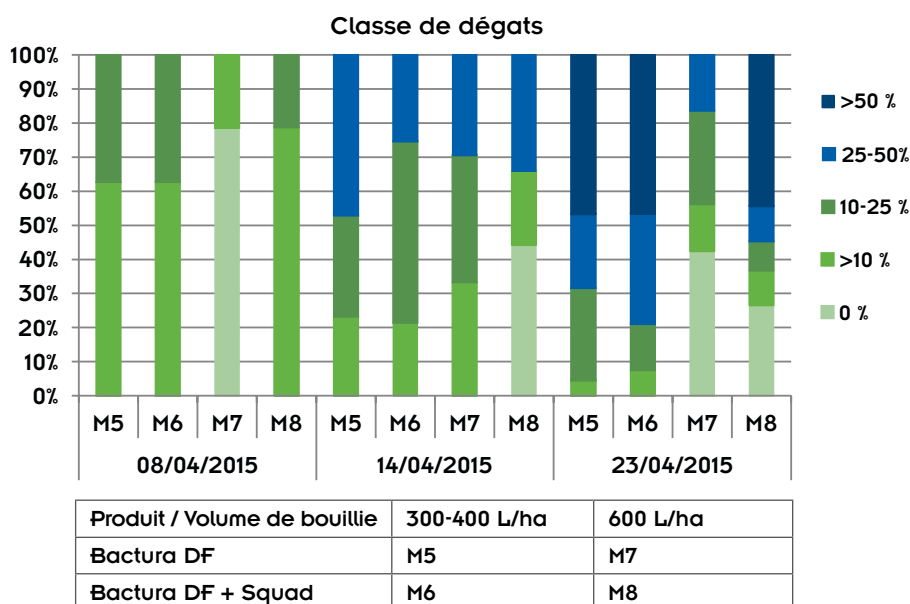
L'atomiseur ou pulvérisateur à jet porté, la solution la plus adaptée

Quelle que soit la modalité testée, faire pénétrer la bouillie jusqu'au cœur du buis reste une tâche difficile. Le végétal étant très dense, la pénétration est aléatoire. Néanmoins, certaines modalités permettent d'améliorer sensiblement la pénétration dans la plante et sa couverture, et donc l'efficacité globale du traitement. Cependant, dans tous les cas, des défoliations, plus ou moins marquées, ont eu lieu.

Dans le cadre de ces essais, c'est l'atomiseur qui apparaît comme le matériel le plus adapté pour lutter contre la pyrale

du buis en offrant la meilleure pénétration du produit et la couverture la plus homogène (face supérieure et inférieure du feuillage). L'augmentation du volume de bouillie (de 300-400 à 600 L/ha) peut permettre une pénétration plus homogène et donc mieux atteindre les grosses chenilles au comportement cryptique. En revanche, l'ajout d'un adjuvant n'a pas apporté de plus-value sur cet appareil dans les configurations de plantations du site expérimental.

Evolution des dégâts sur buis -
Château du Haut-Brion
Site traité à l'atomiseur
Source : ASTREDHOR Sud-Ouest
GIE Fleurs et Plantes



Augmenter le volume de bouillie pour les pulvérisateurs à dos

La qualité de la pulvérisation du pulvérisateur à dos est globalement moindre que celle de l'atomiseur. Cependant, l'augmentation du volume de bouillie à 800 L/ha, soit la limite de ruissellement, contre 500 L/ha permet d'améliorer la qualité de la pulvérisation de cet appareil. Pour le pulvérisateur à dos également, l'adjuvant n'a pas non plus apporté d'amélioration significative.

Il ressort enfin que l'huile de colza associée aux pyrèthres naturels, pulvérisé au pulvérisateur à dos projeté pour un volume de bouillie à 800L/ha, possède une efficacité au moins équivalente au Btk ABTS-351 sur la 1^e génération de pyrale et un bon taux de pénétration.

La pression/régime de pulvérisation et le type de buse (non testé ici) sont deux autres facteurs importants à prendre en compte. Quel que soit le matériel utilisé, les pratiques doivent être adaptées selon les contraintes de chaque site (cf. les stades du ravageur : migration des grosses chenilles au cœur des plantes).



Site de Gradignan (site où a été testé le pulvérisateur à dos) en début d'essai
Source : ASTREDHOR Sud-Ouest
GIE Fleurs et Plantes)

Axe Piégeage des adultes : résultats 2015

Dès la première année du programme SaveBuxus, des résultats ont été obtenus par l'INRA-UEFM avec la mise au point du piège BUXatrap®¹ et la mise en évidence d'une phéromone reconnue pour sa performance (attractive et persistante sur l'ensemble des trois vols).

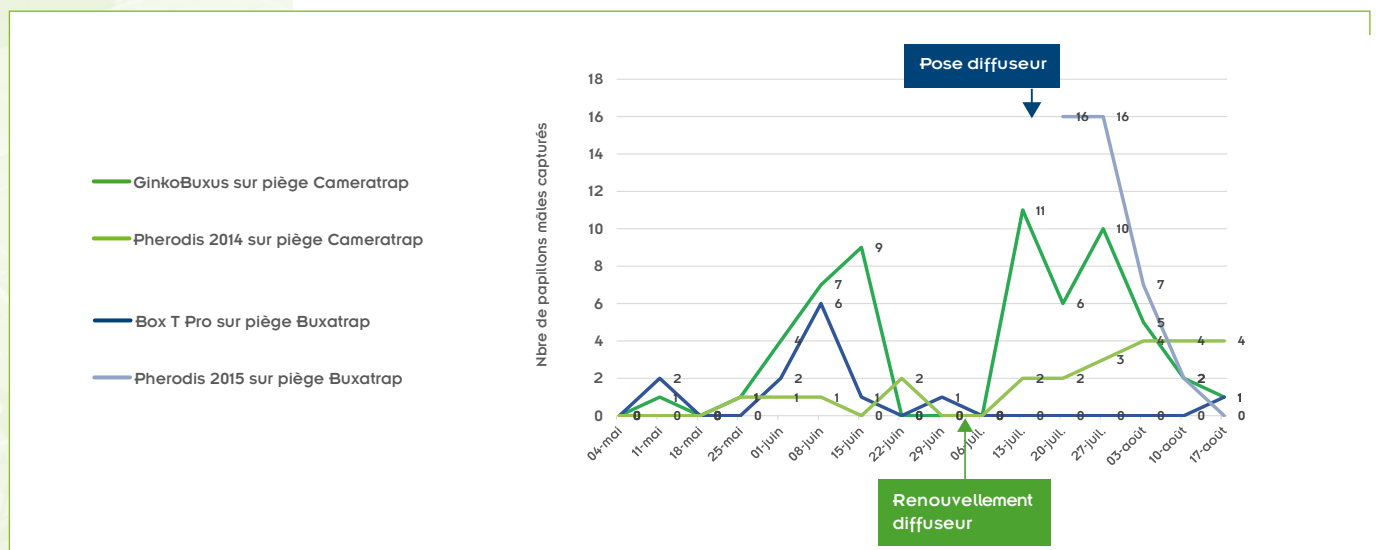
En 2015, les tests de phéromone se sont poursuivis et les premiers essais de régulation par le piégeage ont été conduits.

Screening de nouveaux diffuseurs

Plusieurs nouveaux diffuseurs ont été mis en test au cours des trois périodes de vol observées en 2015 afin de comparer l'efficacité de ces derniers avec les phéromones CPXe 211 (commercialisées sous le nom de GinkoBuxus®) et Pherodis 2014®. Un site a été choisi en bordure de la méditerranée (La Farlède (83) afin d'avoir un vol plus précoce ainsi que deux autres sites de proximité près d'Avignon (84)).

Les diffuseurs mis en test (10 répétitions) étaient :

- GinkoBuxus® (efficacité démontrée en 2014),
- Pherodis 2014® (efficacité réduite et changement du diffuseur fin juin après deux mois de mise en place sur le terrain),
- BoxTPro® : nouveau diffuseur avec phéromone sous forme de gel,
- Pherodis 2015® : matériel fourni tardivement et mis en place seulement le 27/07/2015.



Comparaison de 4 diffuseurs de phéromone sur les captures de papillons mâles (site Avignon Hôpital) • Source : Inra UEFM

¹ BUXatrap® : marque déposée (Koppert) et Brevet d'Invention déposé INRA-SANSAN N°1000295576 le 29/05/2015.

Persistence d'action	2 mois	4 mois	6 mois
Cpxe 211 (GinkoBuxus®)			
Pherodis 2014			
Pherodis 2015			
Box T Pro			

Durée d'action des diffuseurs mis en test • Source : Inra UEFM

La phéromone Pherodis 2015® installée trop tardivement dans ce test montre une excellente efficacité. Dans un autre test qui couvrira la suite de la période, sa faible persistance (environ deux mois) est aussi démontrée. Le renouvellement de cette phéromone est donc aussi nécessaire tous les deux mois.

L'étude 2015 permet de mettre en évidence deux nouvelles phéromones mais avec des contraintes de renouvellement dues à leur faible persistance d'action.

Première expérimentation du piégeage de masse comme stratégie de régulation

L'objectif 2015 était de valoriser les acquis de 2014 de mise au point du piège BUXatrap® en expérimentant le piégeage de masse avec la phéromone fournie par Koppert, Pherodis 2015®. Cette dernière a été renouvelée tous les deux mois. L'expérimentation a été conduite sur le site de la Roseraie du Val-de-Marne à l'Haÿ-les-Roses (94). La moitié de la roseraie, soit environ 5 000 m², a été équipée de pièges : 45 pièges BUXatrap® et cinq pièges CAMERatrap® (avec eau + mouillant). Ces cinq derniers permettent d'assurer un suivi hebdomadaire plus aisé. L'autre moitié a servi de témoin sur lequel, il a aussi été disposé cinq pièges de suivis hebdomadaires CAMERatrap® (avec eau + mouillant). Les chenilles ont été dénombrées lors du dernier stade larvaire début mai 2015, puis en juillet et septembre. Un dernier comptage a été effectué début mai 2016 afin d'évaluer sur l'ensemble des périodes de vols l'évolution de la pyrale dans le dispositif.

Les résultats validés par les défoliations observées au printemps 2015 sont décevants. La pyrale a poursuivi sa fulgurante croissance démographique dans la partie traitée par le piégeage phéromonal comme dans le témoin.

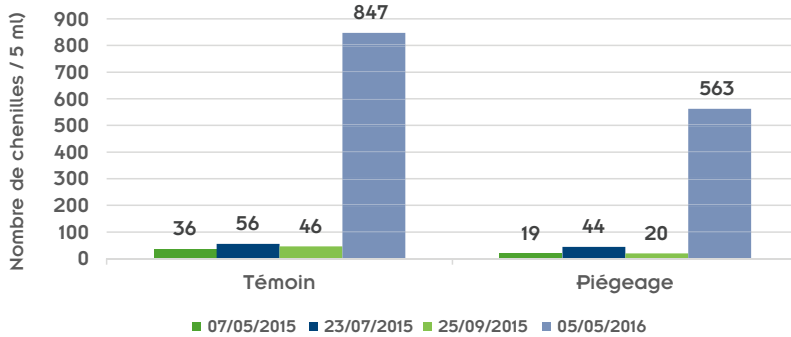
Site de piégeage et site témoin (Nord) à l'Haÿ-les-Roses
Source : Inra UEFM



DISPOSITIFS EXPÉRIMENTAUX CONTRE LA PYRALE DU BUIS (*Cydalima perspectalis*)
Roseraie du Val-de-Marne (L'Haÿ-les-Roses, 94)



Dénombrement des chenilles rapporté à 5 m linéaire par modalité



Résultat du dénombrement des chenilles de pyrale aux cours d'une année (de mai 2015 à mai 2016)
Source : Inra UEFM

Perspectives pour 2016

- Poursuite du screening des nouvelles formulations nécessaires à une mise en concurrence sur le marché.
- Régulation par le piégeage de masse avec un dispositif d'échantillonnage renforcé par les expérimentations de 2015 et avec la phéromone Cpex 211 plus performante et plus facile d'utilisation.
- Premiers essais de valeur pratique en lien avec des partenaires.

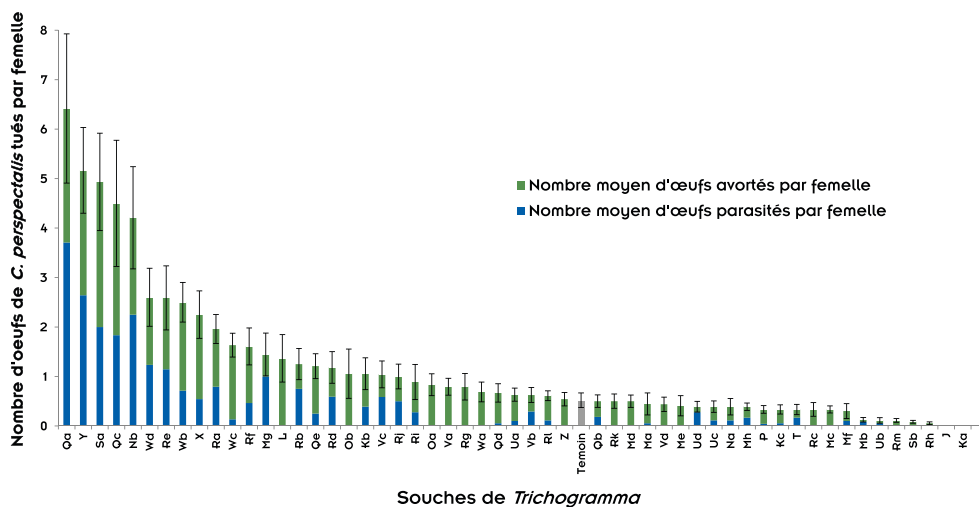
Lutte à l'aide de *Trichogramma sp.*: résultats 2015

Depuis 2014, le laboratoire Biocontrôle (INRA UEFM) contribue au programme SaveBuxus en recherchant un parasitoïde oophage sur les aspects suivants :

Etude de l'efficacité des trichogrammes - screening

Cinq souches ont été identifiées pour lutter contre *C. perspectalis* sur les 54 souches testées. Trois souches françaises ont été retenues par leur origine. Les taux de parasitisme et d'efficacité globale (nombre d'œufs tués) sont pris en compte, ainsi que la fréquence de parasitisme et la fiabilité des femelles (plus faible variabilité intra-spécifique). Les souches Y et Qa semblent être les meilleures candidates pour de futurs lâchers. L'étude se poursuit toutefois sur les trois souches Qa, Qc et Y.

lité des femelles (plus faible variabilité intra-spécifique). Les souches Y et Qa semblent être les meilleures candidates pour de futurs lâchers. L'étude se poursuit toutefois sur les trois souches Qa, Qc et Y.



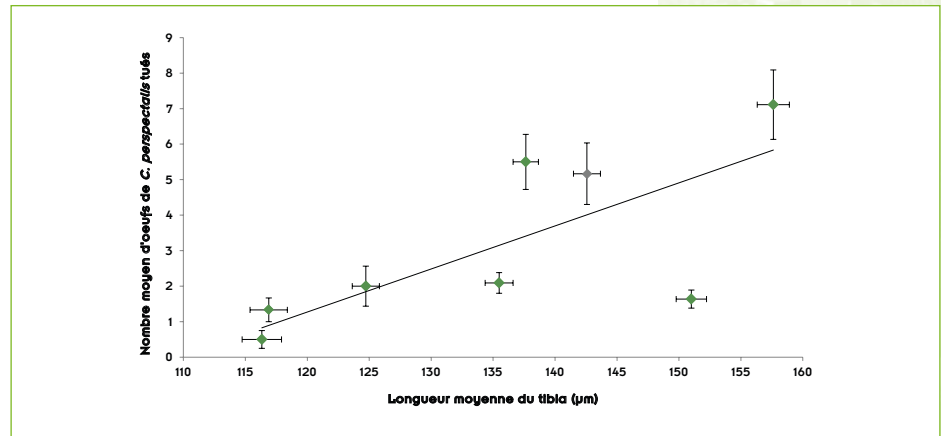
Nombre moyen d'œufs de *C. perspectalis* tués par une femelle trichogramme pour chaque souche • Source : Laboratoire de biocontrôle, Inra PACA

Etude de la génération F1 émergente des œufs de *C. perspectalis* étudiés

La génération F1 issue des œufs de pyrale parasités par la souche Y est de bonne qualité : plus de 30 % de ces femelles sont plus grandes, plus fécondes que leurs parents,

et semblent plus efficaces pour parasiter les œufs de *C. perspectalis*.

Nombre d'œufs de *C. perspectalis* tués (parasitisme et avortement moyenne \pm SEM) en fonction de la longueur du tibia des femelles F0 et F1 de la souche Y (moyenne \pm SEM). La droite représente la régression linéaire ($y=0,12x-13,28$) (F0, N= 21 femelles et F1, N= 50 femelles)
Source : Laboratoire de biocontrôle, Inra PACA



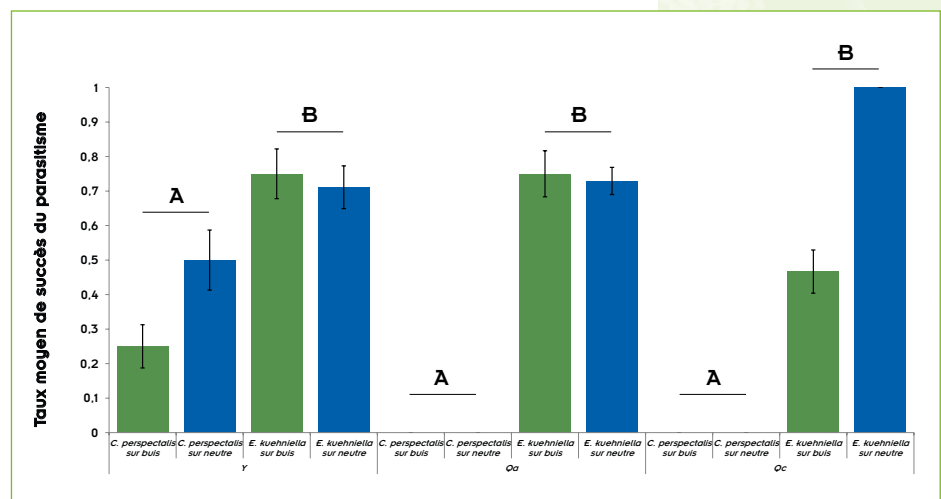
Etude des causes de la variabilité de l'efficacité des femelles trichogrammes

Test croisé : Les œufs de *C. perspectalis* semblent être à l'origine de la variabilité intra spécifique des trichogrammes.

sur buis et sur milieu neutre. Après les recherches antennaires, les femelles vont autant pénétrer les œufs de *C. perspectalis* que la référence (œufs d'*Ephestia kuehniella*). Cependant, à terme, les œufs de *C. perspectalis* sont moins parasités que les œufs d'*E. kuehniella*.

Observations comportementales : Les trichogrammes montrent une activité de recherche antennaire comparable

Succès du parasitisme des femelles trichogrammes, en fonction du substrat (buis ou milieu neutre) et de l'hôte (œufs de *C. perspectalis* ou d'*E. kuehniella*) « a » et « b » : groupes de souches d'efficacité significativement différente
Source : Laboratoire de biocontrôle, Inra PACA



Etude des composés chimiques et volatiles du buis

De premières extractions ont été réalisées à partir de feuilles de buis portant les œufs et comparées à des feuilles de buis sans œuf (feuilles entières d'une part et feuilles découpées d'autre part). Aucune différence qualitative n'a été constatée au niveau des composés volatiles. En revanche, des différences quantitatives ont été notées au niveau de la composition

chimique (flavonoïdes). Les œufs de pyrale étant petits, il sera nécessaire de les étudier seuls. Mais étant fragiles, il est difficile de les décoller de la feuille de buis sans les altérer. Afin d'étudier leur composition, des tests pour décoller les œufs sans les dénaturer sont en cours : eau, alcool, froid...

Observation et dissection des œufs de pyrale après oviposition

Lorsqu'une femelle trichogramme parasite un œuf de pyrale, nous avons pu observer que ses propres œufs sont visibles à l'intérieur de l'hôte une demi-heure après la ponte. Une dissection sous microscope des œufs de pyrale ou une coloration des œufs de trichogrammes devrait permettre de voir si la femelle pond vraiment ou non après son comportement d'oviposition.

Etude de l'efficacité des trichogrammes en mésocosme – premiers résultats

Un premier essai avec la souche Qa sur boule de buis a donné un taux de mortalité totale des œufs de la pyrale élevé, ce qui nous encourage à continuer ce programme en 2016. L'étude se poursuit sur les trois souches avec des densités de parasitoïdes croissantes.

Perspectives pour 2016

- Mésocosmes à affiner (choix de la meilleure souche, études efficacité, dispersion...).
- Recherche d'amélioration génétique de la meilleure souche et étude de la conservation de son efficacité après élevage de plusieurs générations sur *E. kuehniella*...
- Mise au point d'une stratégie de lâchers (critères de qualité de l'espèce, densité dépendance, période de lâchers, nombre de lâchers, efficacité fonction de la position et taille des ooplaques...).
- Etude du comportement de ponte et tests de choix en fonction de l'âge des œufs hôte.
- Etude de l'efficacité des descendants (première et seconde générations) élevée sur pyrale (nombre d'émergents, viabilité, efficacité, croissance d'efficacité...).
- Etudes de la variabilité intra-spécifique (qualité des œufs hôte, composés chimiques à tous les stades du cycle de la pyrale...).