

IMPULsE - développement et Intégration de Méthodes innovantes pour la maîtrise des PUnaises en cultures LEgumières

Gard B.¹, Bout A.², Chaillout S.³, Camoin L.⁴, Canal X.⁵, Cesari L.², Clerc H.⁶, Delamarre C.⁷, Ginez A.⁸, Lambion J.⁹, Genson G.¹⁰, Streito J.C.¹⁰, Tosello L.⁴, Verfaillie T.³, Pierre P.¹

¹ CTIFL, Centre opérationnel de Balandran, F-30127 Bellegarde

² INRAE, UMR INRAE 1355 CNRS 7254, Institut Sophia Agrobiotech, Université Côte d'Azur, 400 route des Chappes, F-06903 Sophia Antipolis

³ Koppert France, F-84300 Cavaillon

⁴ Chambre d'Agriculture des Bouches du Rhône, F- 13626 Aix-en-Provence Cedex 1

⁵ Agrocampus 47, F-47110 Sainte Livrade/Lot

⁶ INVENIO, Domaine de Lalande, F-47110 Sainte Livrade/Lot

⁷ Chambre d'Agriculture de Lot-et-Garonne, BP 80349, F-47008 Agen

⁸ APREL, route de Mollégès, F-13210 Saint Rémy de Provence

⁹ Groupe de Recherche en Agriculture Biologique, BP11283, F-84911 Avignon Cedex 09

¹⁰ Centre de Biologie pour la Gestion des Populations, INRAE, CIRAD, IRD, Montpellier SupAgro, Univ Montpellier, F- 34988 Montferrier-sur-Lez.

Correspondance : benjamin.gard@ctifl.fr

Résumé

Le projet IMPULsE (2017-2020) a permis d'évaluer plusieurs méthodes de gestion des punaises phytophages sur cultures de tomate, aubergine et chou. De plus, un travail important de caractérisation des espèces de punaises présentes a été conduit afin de mieux connaître et d'être en mesure d'identifier correctement ces ravageurs très problématiques en culture. En parallèle, une étude visant à caractériser la diversité naturelle des parasitoïdes de punaises a été réalisée, permettant ainsi d'identifier les ennemis naturels et de potentiels agents de lutte biologiques. A ce stade, les méthodes de gestions basées sur la protection physique (filets, pièges chromatiques englués) et la lutte biologique (parasitoïdes, nématodes entomopathogènes) donnent les résultats les plus intéressants en culture de tomate et d'aubergines sous abris. L'utilisation de plantes pièges montre un réel intérêt en culture pour la gestion des punaises du chou en plein champ. A l'issue du projet, différents leviers de gestion ont été identifiées, cependant les stratégies globales restent à affiner.

Mots-clés : Pentatomidae, Miridae, lutte biologique, biocontrôle, Protection Biologique Intégrée

Abstract : IMPULsE - development and integration of innovative methods for the control of phytophagous bugs in vegetable crops

Several management methods for phytophagous bugs on tomato, eggplants and cabbage crops were evaluated during the research program IMPULsE (2017-2020). In addition, a huge work was carried out for characterization of the species of bugs present, in order to better understand and to be able to correctly identify these highly problematic pests in vegetable crops. In parallel, a study aimed at characterizing the natural diversity of bug parasitoids was carried out, which succeeded in identifying natural enemies and potential biological control agents. At this stage, management methods based on physical protection (nets, chromatic sticky traps) and biological control (parasitoids, entomopathogenic nematodes) gave the most interesting results in tomato and eggplant crops under cover. The use of trap plants showed a real

potential in cultivation for the management of cabbage bugs in the field. At the end of the project, various management levers were identified, but the overall strategies remain to be refined.

Keywords: Pentatomidae, Miridae, biological control, Integrated Pest Management

Introduction

Les Punaises sont des insectes piqueurs-suceurs appartenant à l'ordre des hémiptères, et sont caractérisées par leur grande diversité : 44 000 espèces décrites à travers le monde dont 1 350 environ en France. Leur régime alimentaire est varié : certaines espèces sont phytophages, d'autres prédatrices. Enfin, plusieurs espèces dites zoophytophages se nourrissent à la fois de plantes et d'insectes, comme *Macrolophus pygmaeus* (utilisé en lutte biologique sous serre contre aleurodes).

Pour les cultures légumières d'abris comme de plein champ, les punaises phytophages sont des ravageurs dont la gestion reste très problématique. De nombreuses cultures sont concernées : fraise, tomate, concombre, aubergine, chou mais leur nuisibilité s'étend bien au-delà ; les cultures fruitières (pommes, poires, fruits à coques) et les grandes cultures (soja) sont également touchées par cette problématique sanitaire montante. Considérées un temps comme des ravageurs secondaires, certaines espèces sont désormais des ravageurs prioritaires. Cette recrudescence des hétéroptères fait suite d'une part à la réduction d'utilisation des traitements insecticides, à l'augmentation des densités ou des aires de distribution dues au réchauffement climatique (Petremand et al, 2017) et d'autre part aux activités humaines (Rabitsch 2008). Certaines espèces sont ainsi nouvellement introduites en France, comme la punaise diabolique *Halyomorpha halys*, et d'autres ont vu leur aire de répartition s'étendre comme *Nezara viridula* qui a colonisé les pays du centre et du nord de l'Europe depuis l'arc méditerranéen.

Les dégâts occasionnés sont en augmentation depuis plusieurs années et peuvent conduire jusqu'à 90 % de pertes à la récolte. En l'absence de protection suffisante contre les punaises, notamment *Lygus* sp., les estimations en production d'aubergine sous abris révèlent des niveaux de pertes de l'ordre de 25 à 45 t/ha soit 25 000€ à 45 000€ avec un prix moyen de 1 €/kg. Actuellement, les méthodes de protection sont relativement limitées et reposent essentiellement sur la protection chimique et la pose de filet. De plus, les produits phytosanitaires utilisés pour la gestion des punaises (pyréthrinoides) ne sont pas compatibles avec les auxiliaires utilisés pour contrôler les autres ravageurs sur la culture qui deviennent alors très problématiques. L'absence de méthodes biologiques et de biocontrôle compatibles avec les autres leviers utilisés dans les stratégies de protection intégrée freinent fortement les producteurs d'initier une conversion vers les stratégies de production biologiques. Ces ravageurs constituent donc un réel verrou à lever en agriculture biologique et en protection intégrée.

Il est donc nécessaire de développer de nouvelles solutions de contrôle biologique et de proposer des stratégies de protection innovantes, fiables, rentables et pouvant répondre aux objectifs du plan Ecophyto II, ces stratégies devant intégrer l'ensemble des moyens disponibles (Pierre et al., 2017).

Ainsi, le projet « IMPULsE » a ciblé trois cultures légumières modèles : tomate, aubergine et chou dont les résultats pourront bénéficier aux autres filières concernées comme les grandes cultures, l'arboriculture, l'horticulture ornementale. Ce projet s'est appuyé sur un large consortium regroupant des Instituts techniques (CTIFL), des stations d'expérimentations (APREL, GRAB, INVENIO), des chambres d'agriculture (CA13 et CA47), des lycées agricoles, la recherche publique (INRAE) et une société privée productrice d'auxiliaires (Koppert). Il a été divisé en 4 actions principales :

1. Améliorer les connaissances sur la biologie des punaises phytophages ciblées et caractériser l'importance des dégâts occasionnés. Cette action porte sur les aspects de taxinomie, de biologie des espèces considérée : *Lygus* spp. (Miridae), *N. viridula* (Pentatomidae), *N. tenuis* (Miridae), *Eurydema* spp. (Pentatomidae), et les dégâts qu'elles occasionnent ;

2. Evaluer l'efficacité des techniques de protection existantes seules ou en combinaison. L'objectif de l'action 2 a été de définir et de tester différentes combinaisons de méthodes de protection. Ces stratégies intègrent de techniques existantes ou des innovations issues de l'action 3 du projet. Cette action avait également pour objectif de constituer des références agronomiques et économiques sur les leviers et stratégies testés au cours du projet ;
3. Rechercher de nouvelles méthodes de protection. Trois sous actions principales correspondant chacune à un levier de protection nouveau ont été étudiées : (i) la lutte biologique à l'aide d'auxiliaires parasitoïdes ou prédateurs, (ii) les plantes de services pour le piégeage et la détection précoce des punaises, et (iii) les autres produits de biocontrôle ;
4. Coordonner et valoriser les résultats du projet.

1. Améliorer le diagnostic pour adapter les méthodes de gestion

1.1 Méthodes

1.1.1 Echantillonnage et identification

Au début du projet un réseau d'échantillonnage a été défini, incluant des parcelles des différentes cultures considérées principalement chez les partenaires du projet. Les inventaires ont été conduits sur les périodes de mars à octobre en 2017, 2018 et 2019. Les collectes ont été réalisées soit à vue sur la culture, soit par battage. Cette dernière technique consiste à placer une toile sous la plante et à la battre vigoureusement (ou battre un organe de la plante) pour faire tomber les insectes et autres organismes présents. Ces derniers peuvent ainsi être récupérés à la main, à l'aide d'une pince ou à l'aide d'un aspirateur à bouche pour les plus petits et les plus fragiles.

L'ensemble des hétéroptères rencontrés : incluant ceux initialement considérés par le projet IMPULsE ainsi que toutes les autres espèces présentes, ont été collectés puis transférés dans un flacon étanche contenant de l'éthanol à 70%, et identifié avec la date, le lieu de capture, la plante hôte et le nom du collecteur. Les insectes ainsi prélevés en culture ont été envoyés au Centre de Biologie pour la Gestion des Populations (CBGP) pour identification et caractérisation taxinomique

1.2 Résultats

1.2.1 Diversité des espèces rencontrées

Les prélèvements de punaises Miridae, Pentatomidae et d'autres familles ont permis la réalisation d'un inventaire offrant une vision réaliste des hétéroptères présents sur les 3 cultures considérées par IMPULsE. En effet, 1 500 spécimens de punaises, répartis en 70 espèces, ont été collectés et identifiés. La liste des espèces qui présentent un intérêt agronomique soit comme ravageur ou soit comme auxiliaire a été établie. Dans le cadre du projet, certaines espèces ont été retenues et étudiées (Figure 1). Ces espèces peuvent soit causer des dégâts, soit être des auxiliaires ou envahissantes. Ces dernières présentent un risque pour ces cultures mais ne posent pas de problème, pour le moment. Elles sont donc à surveiller. *Nesidiocoris tenuis* et *Macrolophus pygmaeus* ont un régime alimentaire mixte (zoophytophage). Elles sont à la fois prédatrices de petits insectes et d'acariens et sont donc utiles comme auxiliaires. Cependant, elles piquent aussi la culture, pouvant causer des dégâts. En France, *N. tenuis* est considéré comme un ravageur dont les piqûres causent des dégâts importants (cercle nécrotique avec réduction de la production). Au contraire, *M. pygmaeus* est considéré comme un auxiliaire très efficace, son activité prédatrice l'emportant sur les piqûres qu'il occasionne à la plante et qui en général sont peu dommageables.

1.2.2 Clarification taxinomique des espèces des genres *Lygus* et *Eurydema*

L'identification des différentes espèces de *Lygus* collectées en cultures légumières est impossible en raison de critères de reconnaissance non pertinents et donc d'espèces mal définies. Dans une moindre mesure des problèmes de reconnaissance surtout des larves se posaient aussi pour les *Eurydema*. Une étude morphologique et moléculaire de ces différentes espèces a donc été conduite durant le projet et a abouti à la rédaction d'un mémoire des Hautes Etudes (Genson, 2020), dans lequel tous les résultats (et méthodes) sont exposés. En synthèse, les résultats sont : (i) une clarification des espèces de *Lygus* présentes en culture légumière, à savoir uniquement 3 espèces. Ces dernières sont *Lygus rugulipennis*, *L. pratensis* et *L. gemellatus*. Ces deux espèces se sont révélées très proches et peuvent être confondues ce qui facilite donc les suivis et les expérimentations ; (ii) la définition de critères d'identifications plus fiables permettant de produire des clés d'identification et des fiches de reconnaissance à destination des professionnels ; (iii) la constitution d'un référentiel moléculaire des espèces rencontrées qui permettra des identifications facilitées, notamment des stades juvéniles ou lors d'étude d'ADN environnemental.

1.2.3 Clés d'identification

Des clés d'identification ont été réalisées afin de permettre aux acteurs de terrains (producteurs, conseillers) de poser un diagnostic fiable sur les punaises rencontrées dans leurs cultures. Les clés d'identification réalisées permettent l'identification des espèces de punaises importantes rencontrées sur tomate, aubergine et chou (Figure 1). Elles permettent d'identifier les quatre espèces/groupe d'espèces d'intérêt du projet (*Lygus* spp., *N. viridula*, *N. tenuis* et *Eurydema* spp.) aux stades adulte et larvaire, ainsi que les autres principales espèces de punaises phytophages. Ces clés permettent également de reconnaître les punaises prédatrices appartenant à la famille des Nabidae, qui constituent potentiellement des auxiliaires utiles pour la gestion des punaises phytophages (Lattin, 1989). Enfin, une dernière clé est dédiée à l'identification de la punaise invasive *H. halys*, dite punaise diabolique, dont la présence et les dégâts sont en augmentation en France (Alison et al. 2021).

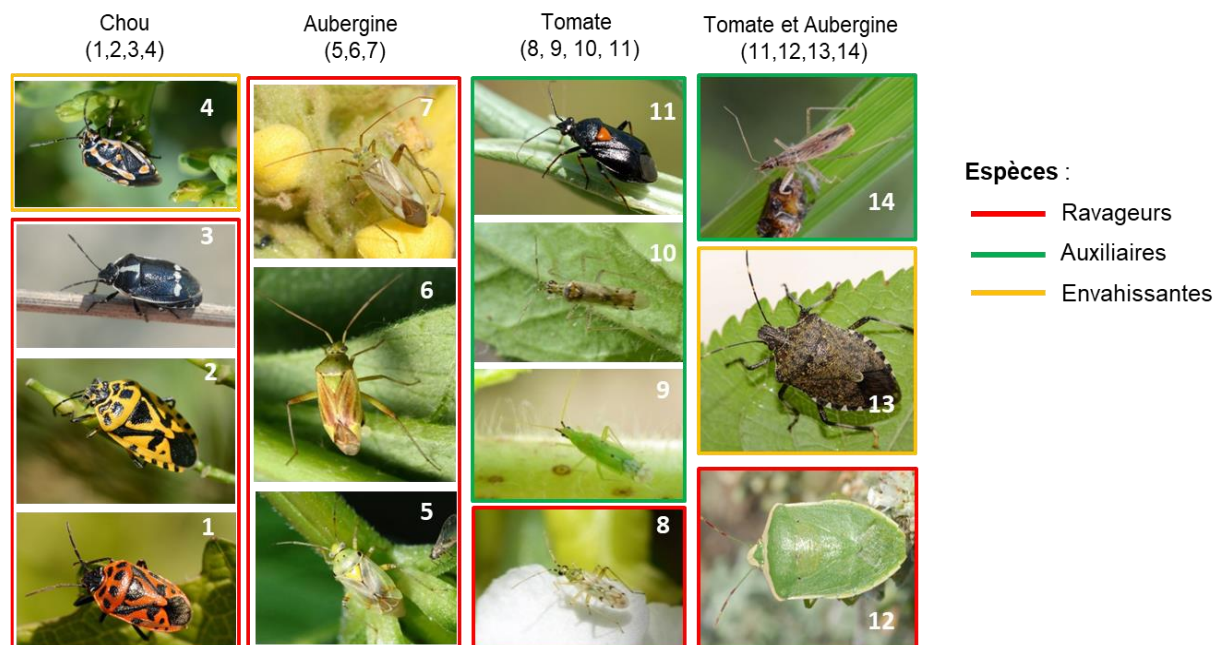


Figure 1 : Principales espèces de punaises ravageuses et auxiliaires importantes en cultures légumières et étudiées au cours du projet : 1. *Eurydema ornata*, 2. *E. ventralis*, 3. *E. oleracea*, 4. *Bagraa hilaris*, 5. *Lygus* spp., 6. *Closterotomus norwegicus*, 7. *Adelphocoris lineolatus*, 8. *Nesidiocoris tenuis*, 9. *Macrolophus pygmaeus*, 10. *Dicyphus* sp., 11. *Deraeocoris* sp., 12. *Nezara viridula*, 13. *Halyomorpha halys*, 14. *Nabid* sp.

L'ensemble des clés produites au cours du projet n'est pas présenté dans cet article, mais fera l'objet d'une parution spécifique. Les clés développées dans le projet sont simplifiées et ne permettent de reconnaître que les espèces les plus importantes et uniquement sur les trois cultures que sont la tomate, l'aubergine et le chou. Si le spécimen à identifier ne correspond à aucune de ces espèces il faudra avoir recours aux ouvrages de faunistique (ex. Derjanschi et Pericart, 2016) pour une identification.

2. Evaluation de la diversité des auxiliaires parasitoïdes présents

2.1 Méthodes

2.1.1 Echantillonnages

Deux méthodes d'échantillonnages ont été appliquées afin de caractériser la diversité des parasitoïdes oophages de punaises Pentatomidae : l'utilisation de pontes sentinelles, produites au laboratoire et la collecte d'ooplaques naturellement pondues par les punaises Pentatomidae présentes. La campagne d'échantillonnage s'est poursuivie tout au long du projet. Elle a pu être complétée par des prélèvements opportunistes de volontaires.

Les pontes sentinelles proviennent d'adultes de différentes espèces de Pentatomidae, principalement *N. viridula* et *H. halys*, maintenus en élevage dans des cages insect-proof. Les ooplaques sont collectées quotidiennement au sein de l'élevage et directement exposées sur les sites expérimentaux ou sont préalablement congelées (-18°C) durant 48h minimum. L'exposition d'ooplaques préalablement congelée ou non dépend de la préférence du propriétaire de la parcelle. Les ooplaques sont collées sur une fine languette de papier (1 cm * 3 cm) et agrafées sur la face inférieure de feuilles des plantes hôtes choisies. Chaque ooplaque sentinelle est exposée pour un délai de 3 jours. Des expositions régulières ont été effectuées dans les Alpes Maritimes (2018-2019). Pour les pontes naturelles, toutes les ooplaques de Pentatomidae rencontrées (quelle que soit l'espèce) sur les cultures ou autres zones expérimentales considérées ont été systématiquement collectées et conservées au laboratoire jusqu'à émergence éventuelle des parasitoïdes.

Le contrôle de l'émergence des parasitoïdes a été réalisé au laboratoire. Toutes les ooplaques exposées ou collectées au champ ont été envoyées et conservées en élevage sur le site INRAE de Sophia Antipolis, jusqu'à émergence des nymphes de Pentatomidae ou des parasitoïdes éventuels. Les ooplaques sont conservées en environnement contrôlé (22 ± 1 °C et RH $60 \pm 5\%$, avec J:N de 16:8 h), individuellement dans des tubes en verre avec une fine goutte de miel et fermé par un coton. Chaque ooplaque a été contrôlée quotidiennement pour les émergences. Les parasitoïdes ont été collectés et conservés en alcool 96% et à -18°C en prévision des analyses moléculaires.

2.1.2 Identifications : caractérisations moléculaire et morphologiques

Une caractérisation moléculaire a été effectuée sur les insectes collectés par une extraction d'ADN non destructive. L'exosquelette, appelé voucher, est ainsi conservé pour des analyses morphologiques. L'extraction d'ADN a été effectuée via l'utilisation d'un kit d'extraction LUCIGEN. L'amplification par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) a été effectuée sur une portion du gène codant pour la Cytochrome Oxydase I (COI) en utilisant le couple d'amorces LCO-HCO (Folmer et al. 1994), qui permet l'amplification d'une portion d'ADN d'approximativement 600 paires de bases sur ce locus. Les produits d'amplification sont ensuite envoyés à la société Beckman Coulter Genomics Genewiz (Leipzig, Germany, Essex, UK) pour un séquençage double sens. Tous les résidus d'extraction d'ADN sont conservés au laboratoire INRAE de Sophia Antipolis. Les séquences obtenues sont corrigées, annotées et alignées manuellement à partir des logiciels BioEdit et Geneious R10. Les séquences obtenues ont ensuite été comparées avec les séquences disponibles dans la base de données internationale du NCBI (GeneBank) via l'outil Blastn (Altschul et al., 1990).

Les identifications morphologiques des spécimens collectés ont été réalisées en suivant les clés taxinomiques spécifiques et en particulier en ce qui concerne les espèces du genre *Trissolcus* les travaux de Talamas et al. (2015, 2017). Les spécimens conservés en éthanol ou les vouchers issus des caractérisations moléculaires ont été collés sur paillettes et observés sous stéréomicroscopes Leica M205C. Les vouchers de référence sont localisés à l'INRAE.

2.2 Résultats

L'ensemble des résultats de caractérisation de la diversité des parasitoïdes oophages de punaises Pentatomidae, incluant des caractérisations réalisées dans le cadre d'autres projets fera l'objet d'une publication spécifique. Dans le cadre du projet IMPULsE, les parasitoïdes oophages rencontrés en maraichage appartiennent essentiellement à trois familles : Les Scelionidae avec les genres *Trissolcus* et *Telenomus*, les Encyrtidae avec le genre *Ooencyrtus* et les Eupelmidae avec le genre *Anastatus*. Pour cette dernière famille, seul *Anastatus bifasciatus* a été rencontré, préférentiellement dans des milieux présentant une végétalisation arbustive. *A. bifasciatus* n'a jamais été retrouvé sur *N. viridula*, dans le cadre de ces échantillonnages. En revanche, il l'a été sur *H. halys*. Dans les cas des Encyrtidae, la taxinomie n'est pas claire et si certains spécimens sont identifiés comme *Ooencyrtus telenomicida*, du point de vue moléculaire la diversité spécifique apparaît plus importante. Ces derniers ont été retrouvés sur diverses pontes de Pentatomidae incluant *N. viridula* et *H. halys*. Toutefois, ces Encyrtidae ne présentent pas une fréquence très importante comparés à la dernière famille : les Scelionidae. Au sein des Scelionidae, 2 genres principaux sont représentés. Le genre *Telenomus*, représenté en plus faible densité en maraichage et dont la systématique doit être entièrement revisitée et le genre *Trissolcus*, le plus fréquent. Cinq espèces de *Trissolcus* ont été identifiées sur les cultures concernées : *T. basalis*, *T. colemani*, *T. belenus*, *T. cultratus* et *T. semistriatus*. *T. basalis* est clairement l'espèce la plus fréquente sur *N. viridula* et sur les milieux considérés, toutes zones géographiques confondues.

3. Evaluations des outils disponibles pour la gestion des espèces cibles

3.1 Méthodes

3.1.1 Filets insects proofs

La protection physique contre les ravageurs à l'aide de filets barrières posés aux entrées et ouvrants des abris est une mesure de prophylaxie efficace pour protéger les cultures maraîchères. Cette technique a été testée pour limiter les entrées de punaises phytophages (*N. viridula* et *Lygus* spp.) en cultures d'aubergine sous abri. Les essais ont été conduits par le CTIFL sur le centre de Balandran et par INVENIO sur le site de Sainte Livrade. Sur ces deux sites, un tunnel plastique 8 m, avec aération latérale par relevage du plastique, a été équipé de filet à maille carrée de 950 µm, en comparaison d'un tunnel de même caractéristique sans filet. Cette maille est adaptée pour bloquer les adultes de *Lygus* spp, et a fortiori ceux de *N. viridula*, de taille plus grande. D'autres ravageurs peuvent aussi être bloqués comme les doryphores, ou les noctuelles (lépidoptères).

3.1.2 Plantes de services

3.1.2.1 Culture du Chou et *Eurydema* spp.

Les essais ont été conduits sur les 3 années du projet (2017 - 2019). Les essais ont permis de tester trois espèces de plante piège moutarde brune, colza, et chou chinois. Les essais étaient conduits chez un producteur en maraichage biologique, sur une parcelle de chou cabus, avec une infestation naturelle des punaises du genre *Eurydema*. Différentes combinaisons et disposition de plantes de services ont été évaluées au cours du projet.

3.1.2.2 Culture d'Aubergine et *N. viridula* et *Lygus* spp.

Différentes espèces et disposition ont été évaluées en culture sous abris, ainsi que deux types de services écosystémiques : l'attraction pour le piégeage (bandes fleuries aux pieds des bâches) et la répulsion (plantes répulsives au sein de la culture). L'objectif était de développer une stratégie « Push-Pull » pour la gestion des punaises. Les essais ont été conduits sur les 3 années du projet (2017 - 2019), avec une évaluation de la stratégie en 2019.

3.1.3 Piégeage

Deux types de piégeage ont été étudiés : le piège à phéromone pour l'attraction des *Lygus* spp. et le piège chromatique englué pour l'attraction de *N. tenuis*. Quatre panneaux englués ont été testés afin de piéger *N. tenuis* : (i) des panneaux englués à glu humide de 3 couleurs différentes (bleus, jaunes et blancs) et (ii) des panneaux jaunes à glu sèche. Deux essais de piégeage massif ont été mis réalisés, avec les panneaux englués les plus intéressants issus du premier essai avec deux densités de panneaux installés au-dessus des plantes : 1 tous les 2,5 m et 1 tous les 5 m.

3.1.4 Nématodes entomopathogènes

Des essais d'application de nématodes entomopathogènes *Steinernema carpocapsae* (CAPSANEM – Koppert) ont été réalisés en conditions de production sur tomate pour la gestion de *N. tenuis*, et en conditions semi-contrôlées, en station expérimentale pour la gestion de *Lygus* spp. en culture d'aubergine. Des essais en laboratoire, sur des plantes en cages ont également été réalisés pour évaluer l'intérêt des nématodes entomopathogènes sur *N. viridula*. En culture de tomate, *S. carpocapsae* a été testé en application en tête de plante de plante (60 cm). Les applications étaient effectuées à la dose de 300 millions de nématodes/hL, avec ajout de l'adjuvant Squad, pour améliorer l'efficacité du traitement. Deux évaluations ont été réalisées en 2018, avec trois applications réalisées à un mois d'intervalle et en 2019, avec deux applications à 15 jours d'intervalle.

3.1.5 Parasitoïdes oophages

Trissolcus basalis est un parasitoïde des œufs de *N. viridula* et *Eurydema* spp. L'efficacité du parasitoïde pour contrôler les populations de *N. viridula* a été évaluée sur aubergine, en serres expérimentales, sur 2 saisons. Quatre stratégies de lâchers (dose/fréquence) ont été testées. Des pontes de punaises parasitées en laboratoire par *T. basalis* étaient utilisées pour introduire la dose testée de parasitoïdes dans les essais. Ces pontes sources étaient produites par l'INRAE de Sophia Antipolis.

Tableau 1 : Détail des stratégies de lâchers de *Trissolcus basalis* testées en serre expérimentale

Modalité	Dose	Fréquence	Apport total pour 60m ² /semaine
Témoin	Pas de lâcher	0	0
Modalité 1 (M1)	2 <i>T. basalis</i> /m ²	1 fois/semaine	120 ind.
Modalité 2 (M2)	2 <i>T. basalis</i> /m ²	1 fois/2 semaines	60 ind.
Modalité 3 (M3)	1 <i>T. basalis</i> /m ²	1 fois/semaine	60 ind.
Modalité 4 (M4)	4 <i>T. basalis</i> /m ²	1 fois/2 semaines	120 ind.

3.2 Résultats

3.2.1 Filets insects proofs

Sur les 3 années d'essais, la technique confirme son efficacité pour la protection des cultures d'aubergine sous abris. En effet, une nette réduction des populations de punaises phytophages et des dégâts causés sur les plantes est observée. En moyenne, sur les 2 sites et les 3 années d'essais, le taux de boutons

floraux néoformés sectionnés par les punaises dans les tunnels avec filet est de 3% (min 0% - max 7%) contre 18% (min 4% - max 35%) dans les tunnels témoin sans filet (Figure 2). Dans 2 essais sur 3, le rendement était supérieur dans les tunnels protégés avec les filets par rapport aux tunnels sans filet (le premier essai n'a pas été évalué du fait d'un problème d'irrigation).

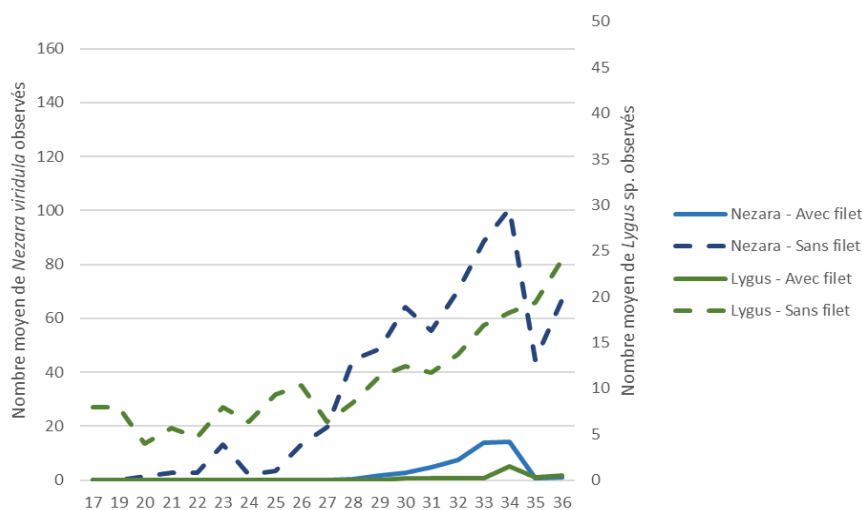


Figure 2 : Impact de la protection avec filet insect-proof sur les populations de punaises phytophages -Moyenne sur quatre essais du nombre cumulé (effectif) de punaises *Lygus* et *Nezara* observées au cours de la culture d'aubergine.

Cependant cette technique nécessite quelques préalables afin de garantir son efficacité. Il est indispensable de s'assurer de l'absence de punaises sur la culture avant la fermeture du filet, en pratiquant un nettoyage de l'abri en début de culture (traitement insecticide ou nettoyage manuel). L'étanchéité du filet doit être maximale car la moindre entrée (déchirures, mauvais recroisement...) peut mettre à mal la technique. Enfin, le fait de disposer de sas à l'entrée des tunnels permet de faciliter les allers et venues du personnel tout en gardant une bonne étanchéité (la pose de filets recroisés est un minimum à respecter). La pose de filet présente certaines limites qu'il est important de connaître avant de mettre en œuvre cette technique : (i) il peut réduire les entrées de certains auxiliaires et pollinisateurs naturels. Il faudra donc en tenir compte dans la conduite culturale et l'élaboration des stratégies de protection ; (ii) le filet réduit l'entrée d'air dans l'abri. La surface d'aération des abris doit donc être importante sous peine d'avoir de fortes répercussions sur le climat et le comportement général des plantes (emballement végétatif, défaut de nouaison, maladies – botrytis notamment). Les tunnels avec écarteurs de bâches semblent moins adaptés en raison du moindre renouvellement d'air alors que les tunnels équipés d'aération latérale permettent une aération correcte ; (iii) pour les multichapelles, il est nécessaire d'installer des filets au niveau des ouvrants au faîtage et des portes pour assurer une bonne étanchéité.

3.2.2 Plantes de services

3.2.2.1 Culture de Chou et *Eurydema* spp.

Le colza s'est avéré être l'espèce la plus adaptée, car son cycle de vie et sa vigueur, lui procurent une forte appétence vis-à-vis des punaises (Figure 3). Différents dispositifs d'implantation des plantes-pièges dans la culture ont été testés : il semble qu'une dissémination des plantes-pièges au sein de la culture à protéger soit plus efficace qu'un dispositif de type barrière en limite de parcelle. La combinaison la plus intéressante testée a consisté à co-planter la plante de service avec la culture (1 plante piège pour 10 plants de chou). La rapidité d'implantation des plantes-pièges (préférer une plantation au semis), une neutralisation précoce et efficace des punaises sur les plantes-pièges sont essentiels pour garantir l'efficacité de la pratique. Cette neutralisation a été réalisée dans les essais grâce à des procédés

mécaniques (fauchage et aspiration). Les travaux concernant les plantes-pièges de punaises sont encore très prospectifs. Bien que cette technique s'avère prometteuse, de nombreux ajustements techniques et une étude technico-économique sont nécessaires avant de pouvoir la diffuser à large échelle chez les producteurs.

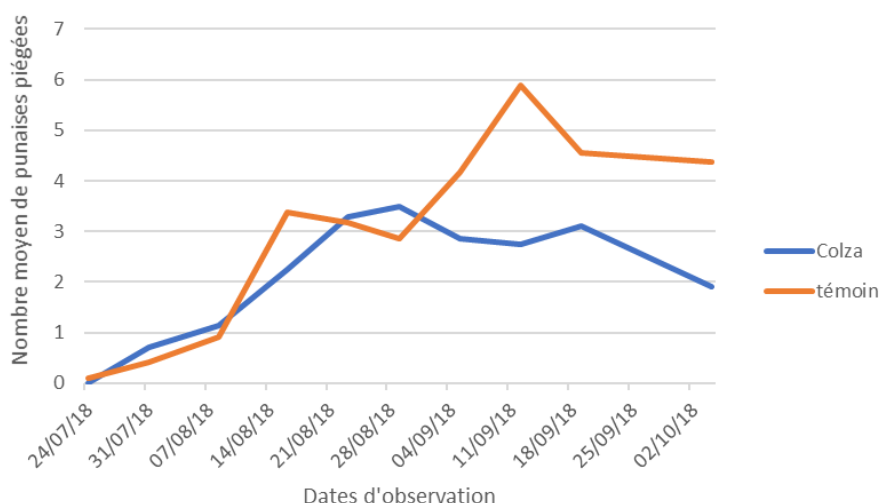


Figure 3 : Effectif moyen de punaises capturées sur la culture de chou en fonction de la présence (courbe bleu) ou de l'absence (courbe rouge) de plantes pièges dans la parcelle. Essai 2018, avec plantes pièges plantées au sein de la parcelle de chou à protéger

3.2.2.2 Culture d'Aubergine et *N. viridula* et *Lygus* spp.

Les résultats ont montré que la vesce, la mauve et la tanaïsie étaient attractives pour *N. viridula*, et que le seigle, la vesce et la phacélie, notamment en floraison étaient des plantes attractives pour *Lygus* spp.. La phacélie est une plante vraiment attractive pour les punaises du genre *Lygus*, beaucoup plus que la vesce, elle joue pleinement son rôle de plante piège dans le tunnel (Figure 4). Les effectifs de punaises sont beaucoup plus élevés sur la phacélie que sur la culture d'aubergine. La difficulté technique reste la gestion des punaises sur ces plantes à l'intérieur de l'abri. En revanche, la tanaïsie n'a pas eu d'effet répulsif sur les punaises comme attendu. L'utilisation de la tanaïsie et la vesce comme plante indicatrice de la présence de *N. viridula* et de *Lygus* spp. respectivement n'a pas été concluante. Peu de punaises étaient observées sur ces plantes, et les observations n'étaient pas plus précoces que sur la culture. Ces plantes ne sont pas intéressantes en tant que plantes indicatrices.

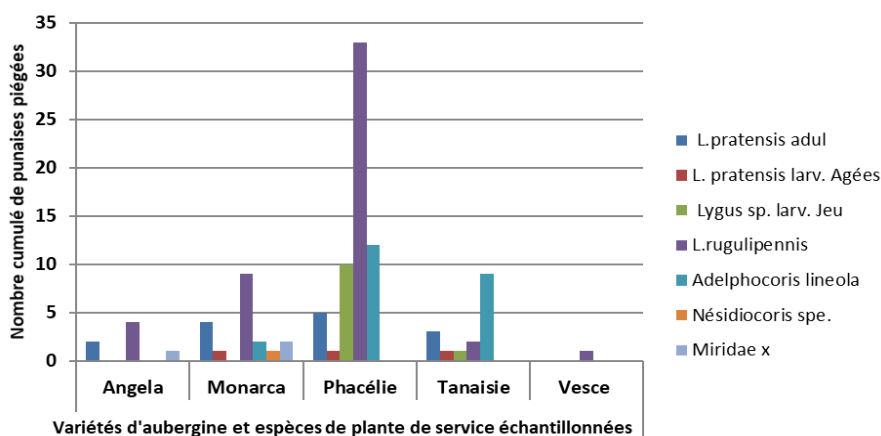


Figure 4 : Nombre de punaises mirides piégées sur les plantes d'aubergines (variété Monarca et Angela) et sur les plantes de services. Présentation des effectifs de punaises piégées par espèce de miride

3.2.3 Piégeage

3.2.3.1 Les pièges à phéromones

Des pièges à phéromone spécifique de *Lygus rugulipennis* ont été testés pendant 2 années, en culture d'aubergine sous abri. En 2018, les piégeages sont faibles et non représentatifs de la population présente sur la culture. A contrario en 2019, les piégeages ont été très importants avec 120 adultes piégés d'avril à fin septembre et semblent avoir mieux traduit le développement du ravageur dans l'environnement des cultures. La différence entre les 2 années est difficile à expliquer, le dispositif étant identique. Cette technique pourrait être intéressante avec un réseau de pièges pour alerter les producteurs sur le niveau de risque.

3.2.3.2 Les pièges chromatiques englués

La comparaison des types de panneaux a mis en avant des captures de *N. tenuis* significativement plus importantes avec les panneaux jaunes à glu sèche (Figure 5). Cependant, ils ne permettent pas un piégeage massif efficace, quelle que soit la densité testée. Malgré de très nombreuses captures, aucune réduction significative de population du ravageur n'a été observée sur les plantes (serres ouvertes sans filet). Des travaux complémentaires sont nécessaires pour mettre au point une méthode de piégeage massif efficace. Attention, *Macrolophus pygmaeus*, est également attiré et piégé par ces panneaux. L'installation d'un tel dispositif doit être réfléchi pour impacter au minimum la population de l'auxiliaire, par exemple en installant les pièges à partir du moment où une régulation de *N. tenuis* est nécessaire. En revanche, ces pièges chromatiques ont prouvé leur intérêt pour du piégeage de détection précoce dans deux essais. Il existe une corrélation forte ($r^2 = 0,84$) entre le nombre d'individus piégés sur panneaux jaunes à glu sèche et le nombre d'individus observés sur plante. Quelques panneaux suspendus au-dessus des plantes permettent de détecter l'arrivée des premiers individus de *N. tenuis* et de suivre facilement l'évolution de sa population au cours du temps, notamment en cas de faible présence observée sur plantes. Il est ainsi possible de détecter des adultes de *N. tenuis* sur les panneaux alors qu'aucun adulte n'est observé sur les plantes.

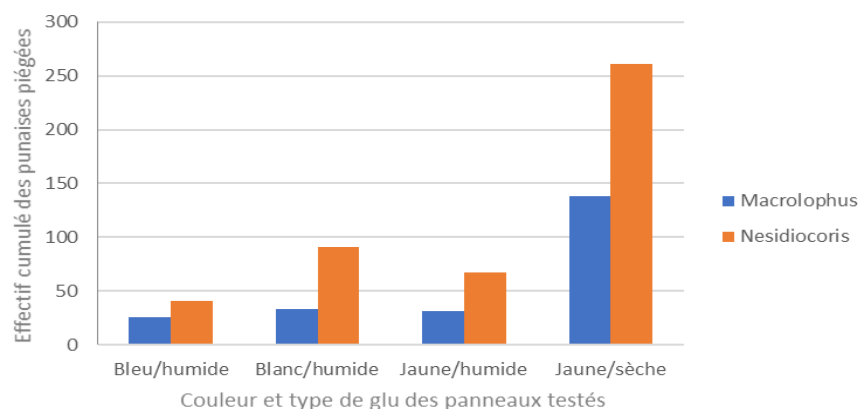


Figure 5 : Cumul sur 7 semaines du nombre de punaises mirides (*Macrolophus pygmaeus* et *Nesidiocoris tenuis*) piégées selon le type de panneau testé. Essai conduit en culture de tomate, serre hors sol.

3.2.4 Les nématodes entomopathènes

En culture de tomate, les applications de nématodes entomopathogènes (*S. carpocapsae*) en tête permettent de limiter le développement de *N. tenuis*. Les stades larvaires sont les plus sensibles, les jeunes larves étant plus sensibles que les larves âgées. Ainsi, les applications successives de nématodes entomopathogènes permettent de limiter le développement des larves ce qui en conséquence fait baisser la population d'adultes (Figure 6). En moyenne, la mortalité sur larves s'élève à 60%. Cette baisse de la population est corrélée à une réduction des dégâts sur les plantes (réduction de 55% des anneaux nécrotiques après deux applications). Cependant, le contrôle du ravageur n'est pas durable. On observe

une remontée des populations d'adultes de *N. tenuis* quelques semaines après la dernière application. Ces traitements sont donc à renouveler régulièrement. L'auxiliaire *M. pygmaeus* est également impacté par l'utilisation des nématodes entomopathogènes. Il est donc essentiel de privilégier des applications en tête de plante, pour limiter l'effet sur cet auxiliaire.

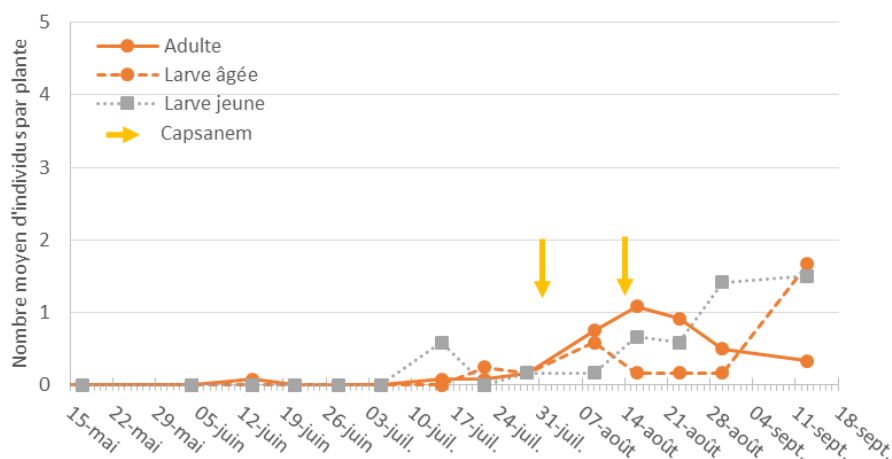


Figure 6 : Evolution des différents stades de *Nesidiocoris tenuis* sur la culture de tomate avant et après applications en tête du nématode entomopathogène *Steinernema carpocapsae* (Capsanem – Koppert) – observations sur 12 têtes, essai 2019.

Trois espèces de nématodes entomopathogènes, *S. feltiae*, *S. carpocapsae* et *Heterorhabditis bacteriophora* ont été testées dans un screening laboratoire sur des larves de *N. viridula*. Les 3 espèces sont capables d'infester les larves de *N. viridula*. *S. carpocapsae* a donné les meilleurs résultats d'efficacité avec de très fortes doses mais l'efficacité observée au laboratoire (60% par rapport au témoin non traité, 7j après l'application) reste trop basse pour espérer développer des applications en cultures.

3.2.5 Les parasitoïdes oophages : *Trissolcus basalis* en serre d'aubergine

Dans ces conditions expérimentales, les résultats les plus intéressants ont été obtenus avec l'introduction d'un parasitoïde/m² de serre toutes les semaines (modalité 3). Pour cette stratégie, le nombre d'ooplaques parasitées ainsi que le nombre d'œufs parasités par ooplaque atteignent respectivement 72% et 98%. Consécutivement à cela, les dégâts sur les boutons floraux ont été réduits de 60% et les dégâts sur les apex de 71% par rapport au témoin sans lâcher de parasitoïde (Figure 7). Ces résultats confirment l'intérêt de ce parasitoïde pour la gestion de *N. viridula* en culture d'aubergine sous abri.

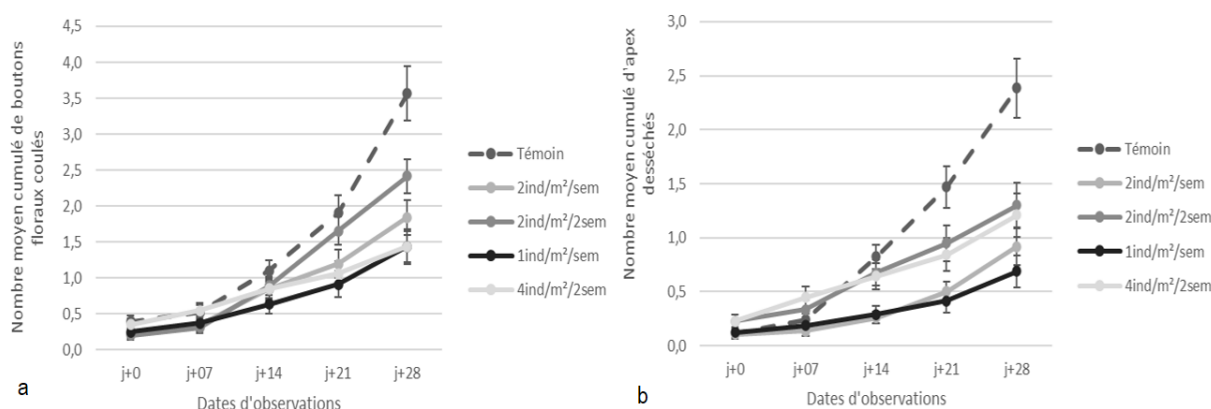


Figure 7 : Evolution des dégâts sur les plantes d'aubergine en fonction des stratégies de lâchers de *Trissolcus basalis*. Avec a) le nombre moyen de boutons floraux coulés et b) le nombre moyen d'apex desséchés par *Nezara viridula*

4. Discussion

Les filets insect-proof ont montré leur intérêt pour réduire les dégâts des punaises sur les cultures étudiées. Comme pour de nombreux ravageurs en cultures légumières sous abris mais également en plein champ, les filets permettent une protection physique efficace et limitent le contact des ravageurs avec la culture. Ils constituent ainsi un levier de base important dans les stratégies de protection intégrée contre les punaises (Alison et al., 2020) mais également contre d'autres ravageurs pour lesquels les méthodes de protection restent limitées (i.e. *Drosophila suzukii*, voir Stockton et al., 2020). Cependant, ils sont souvent coûteux à mettre en place et l'impact sur le climat de l'abri (en particulier en zones peu ventées et dans des abris où la surface d'aération de l'abri n'est pas suffisante) et la pollinisation n'est pas neutre ce qui peut limiter leur utilisation par les producteurs. Un autre point d'attention, est la présence des ravageurs hivernants qui peuvent constituer un inoculum à risque à la fermeture des filets, s'il n'est pas géré correctement.

Les nématodes entomopathogènes sont des auxiliaires de lutte biologique développés depuis plusieurs décennies. Ils présentent de nombreux avantages pour la protection intégrée : ils sont capables de tuer leur hôte relativement rapidement (24 à 48h), et sont actifs sur une large gamme de ravageurs. Comme tout organisme vivant, ils sont fortement sensibles aux conditions de leur habitat (sensibilité aux UV, à la température, l'hygrométrie) (Vashisth et al., 2012). L'amélioration des formulations, l'application en conditions favorables d'humidité et de température sont des prérequis indispensables à leur efficacité. *S. carpocapsae* présente un intérêt dans la gestion des punaises mirides *Lygus* et *N. tenuis* mais son impact sur la population reste limité, et vise essentiellement les jeunes stades larvaires. En effet, les suivis réalisés mettent en évidence des réductions significatives des populations de larves jeunes (jusqu'à 80%) mais les résultats sont différents sur larves âgées et adultes. De plus, il est indispensable de renouveler les applications pour limiter le développement des populations de punaises. Il semble que la diversité des nématodes entomopathogènes soit encore sous exploitée, avec peu d'espèces commercialisées à ce jour (Lewis et al., 2006). Le développement de nouvelles espèces pourrait apporter des solutions complémentaires dans la gestion des punaises.

Le développement de méthodes de lutte biologique est une démarche de moyen et long termes et n'aboutit pas toujours à une production commerciale de l'auxiliaire (Van Lenteren, 2012). Les connaissances déjà existantes sur *T. basalis*, en amont du projet IMPULsE, ont permis d'aboutir à une première proposition de stratégie de lâcher. La souche INRAE de l'auxiliaire testée dans le cadre de ce projet a montré une efficacité intéressante pour la gestion de *N. viridula*. Mais la production industrielle de cet auxiliaire n'est pas disponible à l'issue du projet. Il reste également à valider en production les doses et les fréquences d'apport identifiées dans le projet et valider la faisabilité économique de ce levier de protection. Ce travail n'a pas pu être conduit sur les parasitoïdes de *Lygus* sp. En effet, la connaissance sur ces parasitoïdes était plus éparse au début du projet. De plus, les difficultés d'échantillonnage et d'élevage de cette espèce ont compliqué la mise en élevage et la récolte de parasitoïdes indigènes. Plusieurs espèces indigènes dont *Peristenus* sp. sont présentes en France et ont été observées lors des échantillonnages de punaises réalisées au cours du projet. Les parasitoïdes du genre *Peristenus* ont déjà été évalué en tant qu'agent de lutte biologique contre *Lygus*, sur fraise aux Etats-Unis (Tilmon et Hoffman, 2003). Il constitue donc une piste sérieuse de développement d'un nouveau levier de gestion contre ce ravageur.

L'utilisation des plantes pièges pourrait constituer un levier de gestion efficace pour les punaises du genre *Eurydema*. La présence de colza a permis de réduire de façon significative les dégâts des punaises sur les choux. En culture d'aubergine, les bandes fleuries à base phacélie se sont montrées intéressantes pour piéger les punaises Mirides. D'autres études ont montré l'intérêt des plantes pièges pour la gestion des punaises qui n'ont pas pu être évaluées dans le projet IMPULsE. Par exemple, Biondi et al. (2016) ont montré que le sésame (*Sesamum indicum*) pouvait jouer un rôle de piège et réduire les dégâts sur tomate liés à *N. tenuis*. Tillman (2009) a montré que le sorgho et le tournesol étaient deux espèces très attractives pour *N. viridula* et qui pourraient être utilisées dans les bandes fleuries en bordure des tunnels. Enfin, des

observations de terrain ont montré une attraction forte de la coriandre sur *Lygus* sp. Cependant, la gestion de ces plantes pièges restent une problématique importante. Des recherches doivent être conduites pour développer des méthodes physiques telles que l'aspiration pour gérer les punaises sur ces plantes pièges. Au cours du projet, aucun nouveau produit de biocontrôle n'a pu être identifié et testé pour la gestion des punaises.

Conclusion

Le projet IMPULsE est le premier projet d'envergure nationale dédié aux punaises en France, avec 3 cultures étudiées et le cortège de punaises associées. Ainsi une diversité de situations et de leviers de gestion a pu être testée sur la période d'activité du projet. Les résultats synthétisés ici présentent les principales sorties opérationnelles du projet. D'autres techniques ou leviers de protection ont été évalués au cours de ce projet mais ne sont pas présentés, soit parce que les résultats n'étaient pas satisfaisants, soit qu'ils étaient encore à un stade précoce de développement. Les travaux conduits ont permis d'aboutir à des leviers de gestion fiables pour les punaises étudiées. Les filets insect-proof réduisent efficacement la présence des punaises sur les cultures. Les auxiliaires sont également des leviers efficaces à introduire dans les stratégies de protection avec le parasitoïde oophage *Trissolcus basalis* contre *Nezara viridula* et le nématode entomopathogène *Steinernema carpocapsae* contre *Lygus* sp. et *Nesidiocoris tenuis*. Des plantes pièges ont été identifiées pour attirer les punaises : phacélie pour *Lygus* sp., tanaïs pour *N. viridula* et colza pour *Eurydema* sp. Cependant, les méthodes de gestion des punaises sur ces plantes pièges restent à développer. Enfin, une méthode de détection précoce de *N. tenuis* a été développée, basée sur l'utilisation de panneaux jaunes englués à glu sèche. Ce qui peut constituer un outil d'aide à la décision pour intervenir de façon plus efficace contre ce ravageur. Les combinaisons de méthodes pour aboutir à des stratégies de protection fiables n'ont pu être évaluées qu'en dernière année du projet. A ce stade, elles ne sont pas assez robustes. Ce sont des données préliminaires qui constitueront une base pour de prochaines études.

Références bibliographiques

- Alison B., Fevrier F. Formez N., et al., 2021. LA PUNAISE DIABOLIQUE, HALYOMORPHA HALYS. Comment la reconnaître, comment s'en protéger ? Note de synthèse – Cahiers Environnement-Sécurité 18pp.
- Alison B., Berud M., Bout A., et al., 2020. Les punaises phytophages en verger de fruits à pépins. Enseignement et perspectives du projet SUPOR. Infos CTIFL, n°367, 37-43
- Altschul S.F., Gish W., Miller W., et al., 1990. Basic local alignment search tool. Journal of Molecular Biology, 215, 403–410.
- Biondi A., Zappalà L., Di Mauro A., et al., 2016. Can alternative host plant and prey affect phytophagy and biological control by the zoophytophagous mirid *Nesidiocoris tenuis*?. BioControl 61, 79–90
- Derjanschi V., Pericart J., 2016. Hémiptères Pentatomidae Euro-méditerranéens. Faune de France 90, 496pp.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., et al., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular marine biology and biotechnology, 3, 294–299.
- Genson G., 2020. Caractérisation moléculaire et morphologique des punaises d'intérêt agronomique (genres *Eurydema* et *Lygus*). Mémoire EPHE 193pp. <https://hal-ephe.archives-ouvertes.fr/hal-03050519>
- Lattin J.D., 1989. Bionomics of the Nabidae. Annual Review of Entomology 34, 383-400.
- Lewis E.E., Campbell J., Griffin C., et al., 2006. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. Biological control, 38(1), 66-79.

- Petremand G., Vonlanthen O., Gigon V., et al., 2017. Insectes ravageurs émergents. Etablissement et optimisation d'un réseau de surveillance dans un contexte de réchauffement climatique. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 49(5), 272–279
- Pierre P., Gard B., Trottin-Caudal Y., 2017. Maitrise des punaises en cultures légumières. Les méthodes innovantes du projet IMPULsE. *Infos CTIFL*, N°337, 26-33.
- Rabitsch W., 2008. Alien true bugs of Europe (Insecta: Hemiptera: Heteroptera). *Zootaxa* 1827, 1–44.
- Stockton D.G., Hesler S.P., Wallingford, A.K. et al., 2020. Factors affecting the implementation of exclusion netting to control *Drosophila suzukii* on primocane raspberry. *Crop Protection*, 135, 105191.
- Talamas E.J., Johnson N.F., Buffington M., 2015. Key to Nearctic species of *Trissolcus* Ashmead (Hymenoptera, Scelionidae), natural enemies of native and invasive stink bugs (Hemiptera, Pentatomidae). *Journal of Hymenoptera Research*, 43, 45–110
- Talamas E., Buffington M., Hoelmer K., 2017. Revision of Palearctic *Trissolcus* Ashmead (Hymenoptera, Scelionidae). *Journal of Hymenoptera Research*, 56, 79–261.
- Tillman P.G. 2009. Sorghum as a Trap Crop for *Nezara viridula* L. (Heteroptera: Pentatomidae) in Cotton in the Southern United States. *Environmental Entomology*, 35, 771-783
- Tilmon J.K., Hoffman M.P., 2003. Biological control of *Lygus lineolaris* by *Peristenus* spp. in strawberry. *Biological Control*, 26(3), 287-292
- Vashisth S., Chandel Y.S., Sharma P.K., 2013. Entomopathogenic nematodes-A review. *Agricultural Reviews*, 34(3), 163-175.
- Van Lenteren J.C., 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl* 57, 1-20

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL)