

Problématique de la bruche en culture de féverole et lutte biologique intégrée au sein du projet FEVERPRO

Arnaud Segers, Doctorant au laboratoire d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive
(Gembloux Agro-bio Tech)

Projet FEVERPRO (SPW Agriculture) - ref. D31-1395

30 janvier 2023

Projet
FEVERPRO

Biologie et
écologie

Lutte variétale

Lutte
sémioc Chimique

Lutte bio
technologique

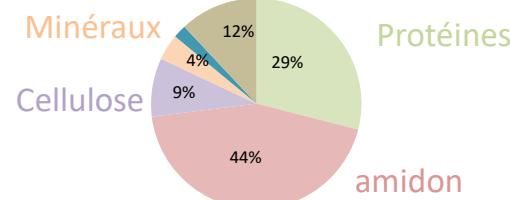
La féverole – *Vicia faba* L. (Fabaceae)

Ressources florales pour les pollinisateurs et auxiliaires



Graines riches en amidon et protéines

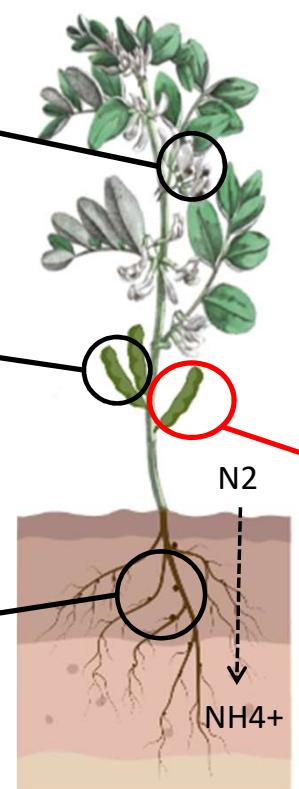
- ⇒ Food & feed
- ⇒ Autonomie protéique



Nodosités (*Rhizobium* sp.)

- ⇒ Fixation naturelle N atmosphérique
- ⇒ Engrais naturel

(Jensen et al. 2010; Karkanis et al. 2018)



Promotion de la culture de *V. faba* dans l'UE : Rapport sur le développement des protéines végétales dans l'UE (22/11/2018)

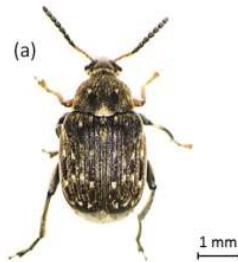
MAIS...

Ravageurs + maladies + sensibilité climatique

Bruche de la fève: *Bruchus rufimanus* Boheman 1833
(Coleoptera: Chrysomelidae)



(Segers et al. 2020)



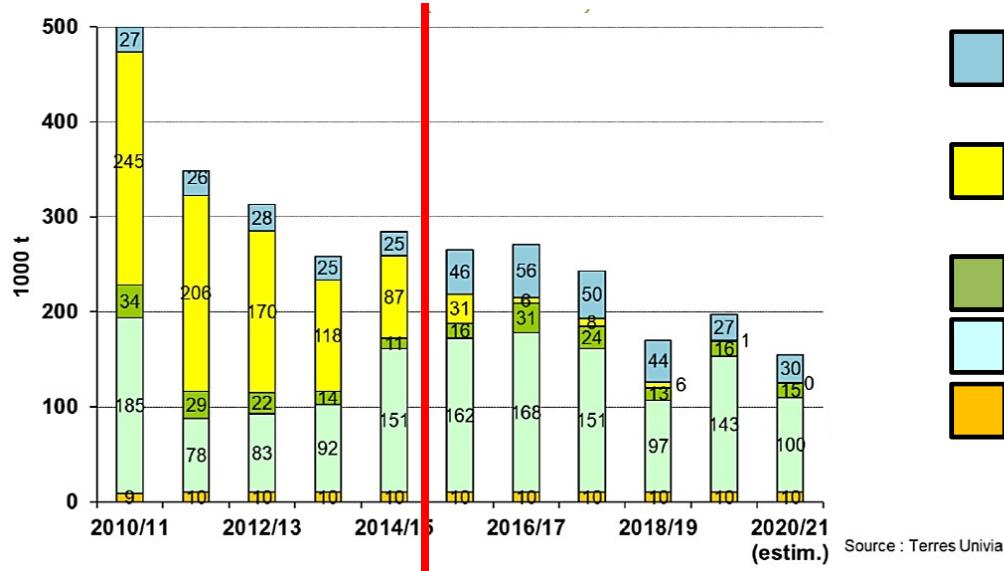
Impacts causés par la bruche aux graines de féverole



© Terres Inovia

< 2-3 % graines
brûchées

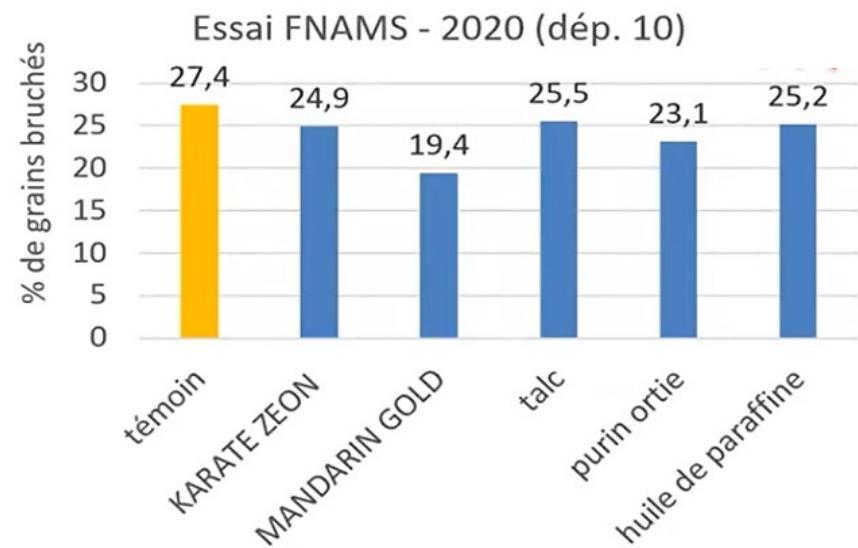
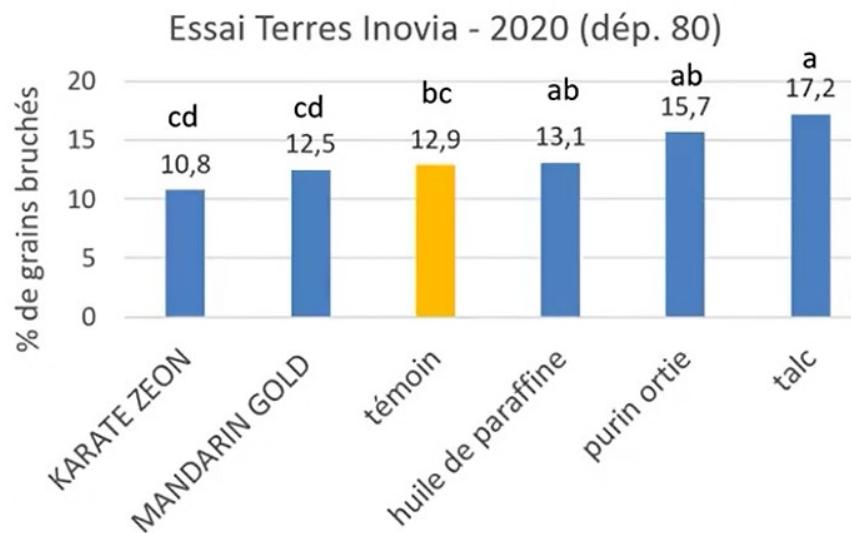
Impacts sur les débouchés (France) :



- Export vers autres pays tiers (Norvège – pisciculture)
- Export vers Egypte (consommation humaine)
- Export UE (alimentation animale)
- Alimentation animale (France)
- Alimentation humaine (meunerie et ingrédients alimentaires)

Quelles solutions disponibles?

- Conventionnel: recours PPP via application max. 2x en floraison ($T^{\circ}\text{max} > 20^{\circ}\text{C}$ / 2 jours ; stage JG2) (/\!\ polliniseurs)
- Efficacité limitée, manque d'alternatives efficaces



Source: Gwenola
Riquet – RFL 3

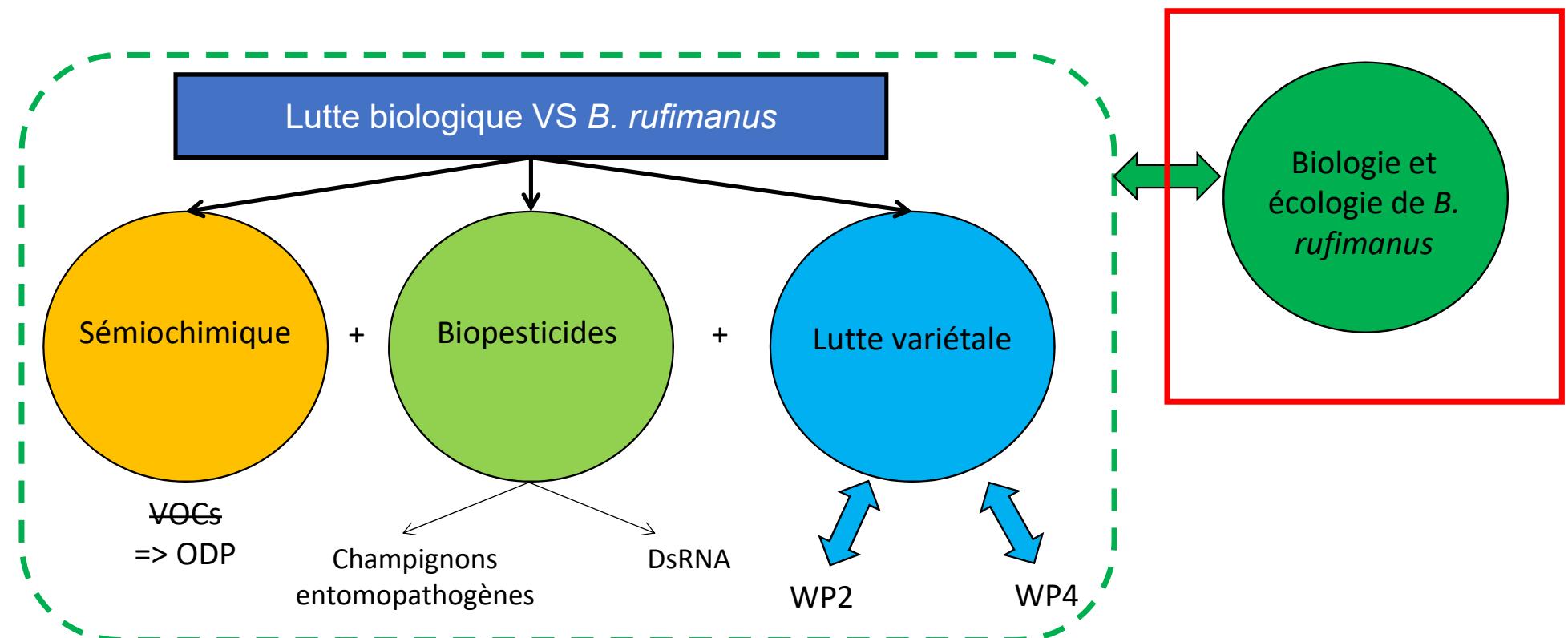


Projet FEVERPRO

« Promouvoir la culture de la féverole comme source alternative des protéines végétales pour la formulation des aliments et comme source des produits bio-basés à finalité non alimentaire, à travers le développement des méthodes de lutte biologique contre le principal insecte impliqué dans la dégradation de la qualité de ses graines et le développement des procédés de fractionnement et de fonctionnalisation de ses graines »

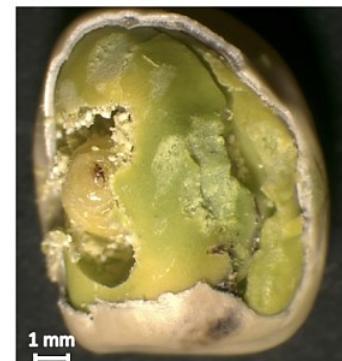


Projet FEVERPRO WP1 & WP2



La bruche de la fève: *Bruchus rufimanus* Boheman, 1833

- Ravageur le plus important du genre *Vicia*
- **Espèce univoltine**: une génération par année pendant périodes de cultures => **Diapause reproductive/larvaire en hiver**
- **Espèce oligophage**
 - Adultes : nectariphages et polliniphages
 - Larves : séminivores (11 plantes hôtes)



Projet
FEVERPRO

Biologie et
écologie

Lutte variétale

Lutte
sémioc Chimique

Lutte bio
technologique

Cycle de développement

Alimentation pollen-nectar
=> Maturation sexuelle



Colonisation
des champs
en fleurs

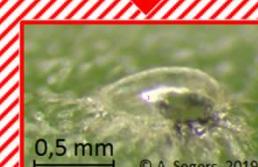
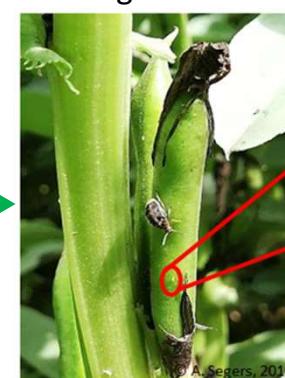
$T^>15^{\circ}\text{C}$

$T^>20^{\circ}\text{C}$

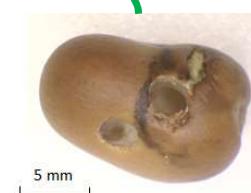
Reproduction
dans les fleurs



Ponte sur jeunes
gousses



Emergence des adultes
pré-/post-récolte



Hivernation des adultes en
diapause reproductive





Biologie de *B. rufimanus*

- Etude de la biologie => déterminer le bilan thermique nécessaire au développement complet de *B. rufimanus*
- Meilleure compréhension des mouvements de populations (infestation en cultures, émergence post-récolte)

Combien de degrés-jours sont nécessaires au développement complet des bruches?

- ⇒ Elevages fonctionnels (diapause reproductive, cycle complet de la plante hôte) : ok
- ⇒ Evaluer la durée des cycles de développement à différentes températures : ok

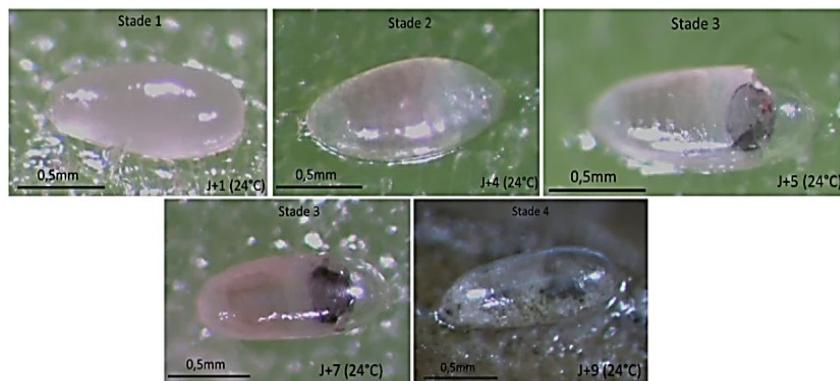




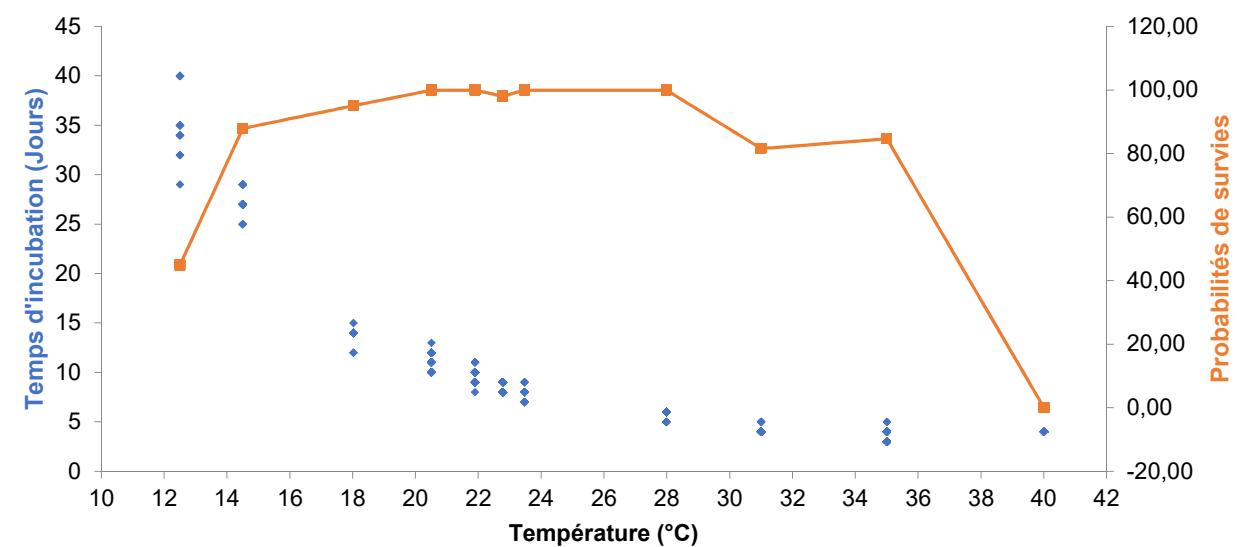
Biologie de *B. rufimanus*

- Suivi des **temps d'incubation** dans différentes températures (constantes)

4 stades morphologiques



Temps d'incubation et probabilités de survie en fonction de la température



Biologie de *B. rufimanus*

- Suivi des temps de développement larvaire/nympale dans différentes températures (constantes)



Températures moyennes (°C)	Nb cages	Nb génération (n)	Sexe ratio primaire	Durées moyennes de cycle (jours)	Nb Génération (n+1)	Sexe ratio secondaire
14,09 ± 1,38	3	75	1,5	/	/	/
17,47 ± 0,97	3	75	1,5	/	/	/
19,03 ± 5,28	4	100	1,5	97,82 ± 1,94	117	0,67
20,59 ± 0,58	3	60	1	*	*	*
21,10 ± 0,58	3	75	1,5	89,17 ± 11,46	70	1,19
23,60 ± 1,64	2	50	1,5	95,89 ± 7,82	37	0,76
26,75 ± 1,45	3	60	1	*	82	*
28,06 ± 0,78	3	75	1,5	/	/	/
28,00 ± 1,00	3	75	1,5	37,33 ± 6,12	79	ND

* En cours
d'encodage/analyse

- ⇒ Alimentation et accouplement optimaux de 19,03°C à 23,6°C (// observations terrain ~20°C)
- ⇒ Développement d'insectes impossible <19°C (inactivité) et >28°C (pas de fructification)

Ecologie de *B. rufimanus*

- Quels ennemis naturels en Région wallonne?

=> **Prédateurs:** *Zelus renardii* Kolenati, 1856 (Heteroptera : Reduviidae)



=> **Parasitoïdes:** Deux types de parasitoïdes identifiés dans la littérature

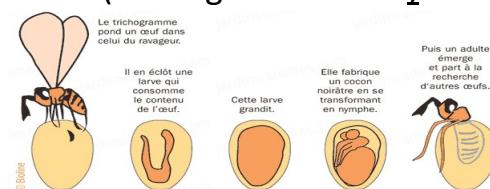
Parasitoïdes larvaphages

Triaspis thoracica (Curtis, 1860)
(Braconidae)



Parasitoïdes oophages

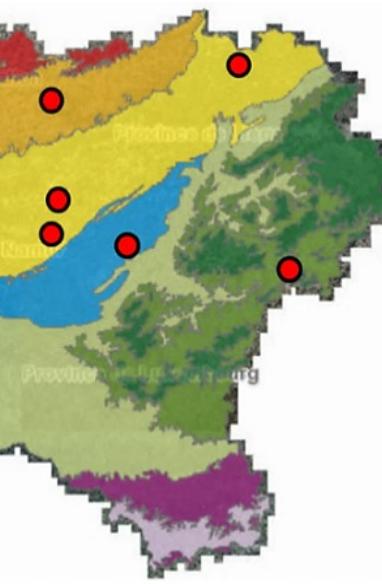
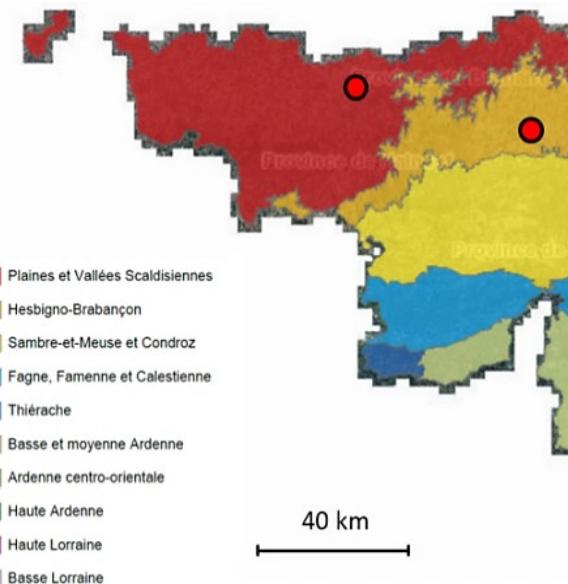
Uscana spp.
(Trichogrammatidae)





Ecologie de *B. rufimanus*

- Quels ennemis naturels en Région wallonne?
 - ⇒ Monitoring de présence de parasitoïdes de *B. rufimanus* sur trois années
 - ⇒ **En culture (piège à aspiration)**
 - ⇒ **Auprès de producteurs AB (collaboration Biowallonie)**
 - ⇒ Collectes d'échantillons de graines -> pièges d'émergence





Ecologie de *B. rufimanus*

- Quels ennemis naturels en Région wallonne?

⇒ Résultats:

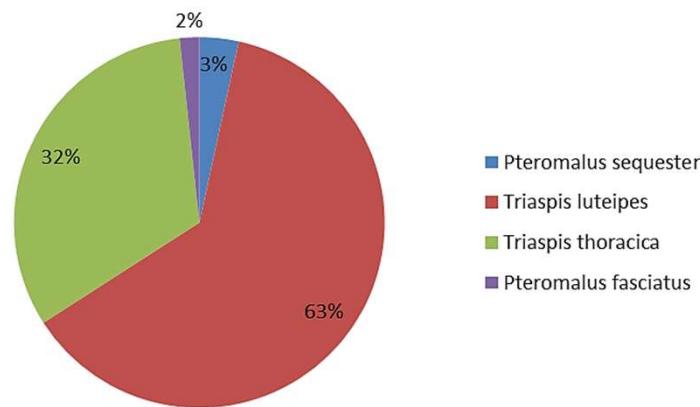
- Aucun parasitoïde oophage encore détecté
- Plusieurs morphotypes de parasitoïdes larvaphages capturés
176 spécimens de parasitoïdes collectés => 4 espèces



Triaspis sp.



Pteromalus sp.



- Faible diversité d'espèces
4 sp VS 14 sp (Bellifa & Viscardi 2021)
- Ectoparasitoïdes et endoparasitoïdes

=> Collecte 2022 sur 7 sites en RW

Projet
FEVERPRO

Biologie et
écologie

Lutte
variétale

Lutte
sémiochimique

Lutte bio
technologique

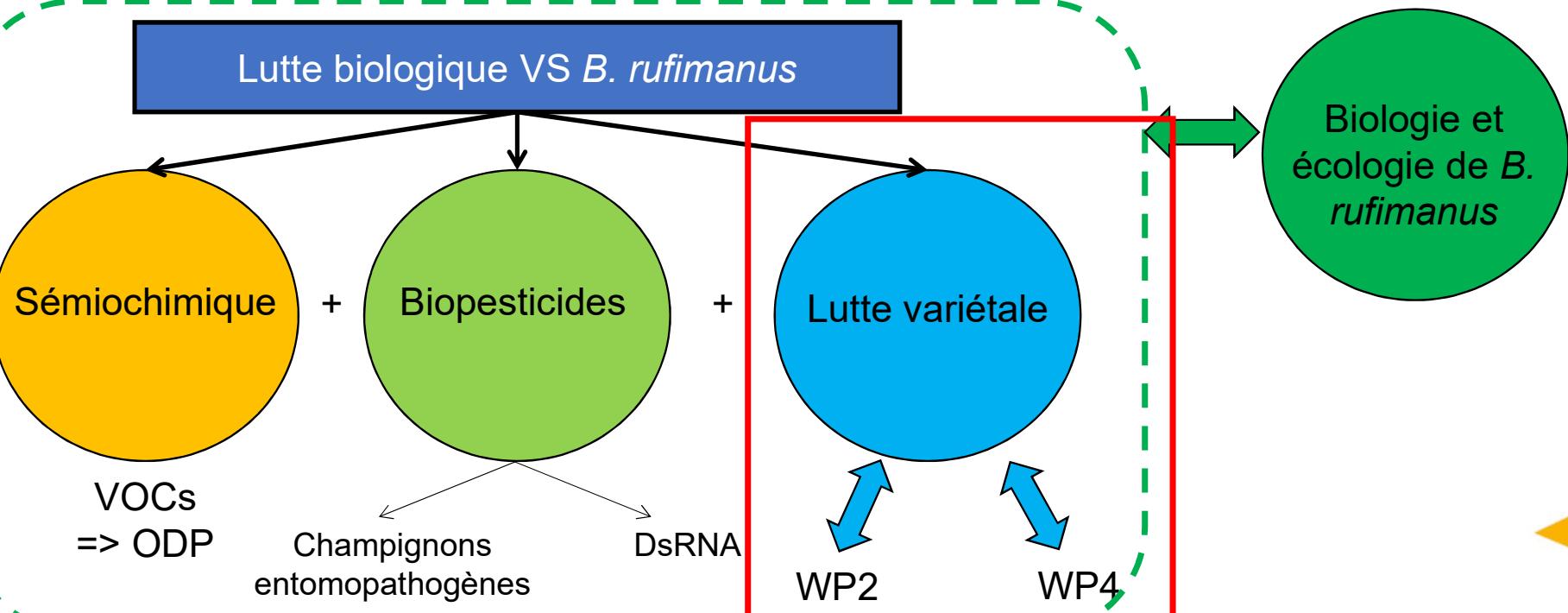
Interreg

France-Wallonie-Vlaanderen



SymBIOse

Projet FEVERPRO WP1 & WP2



Projet
FEVERPRO

Biologie et
écologie

Lutte variétale

Lutte
sémioc Chimique

Lutte bio
technologique

Quelles sont les variétés les plus intéressantes à cultiver en Région wallonne?

⇒ **Etude transversale:** Confronter les **dommages des bruches** avec les analyses de compositions **chimiques des graines** et les **caractéristiques agronomiques** pour identifier les variétés les plus intéressantes pour l'industrie agroalimentaire

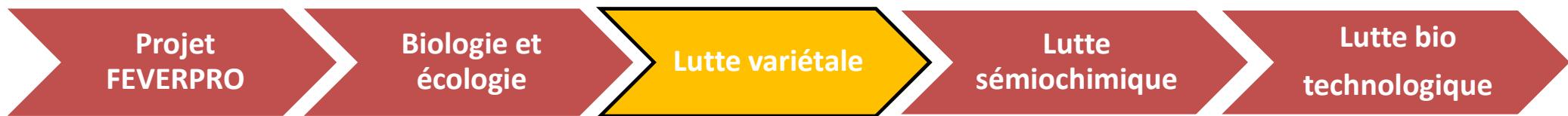
⇒ Essais variétaux pendant deux années:



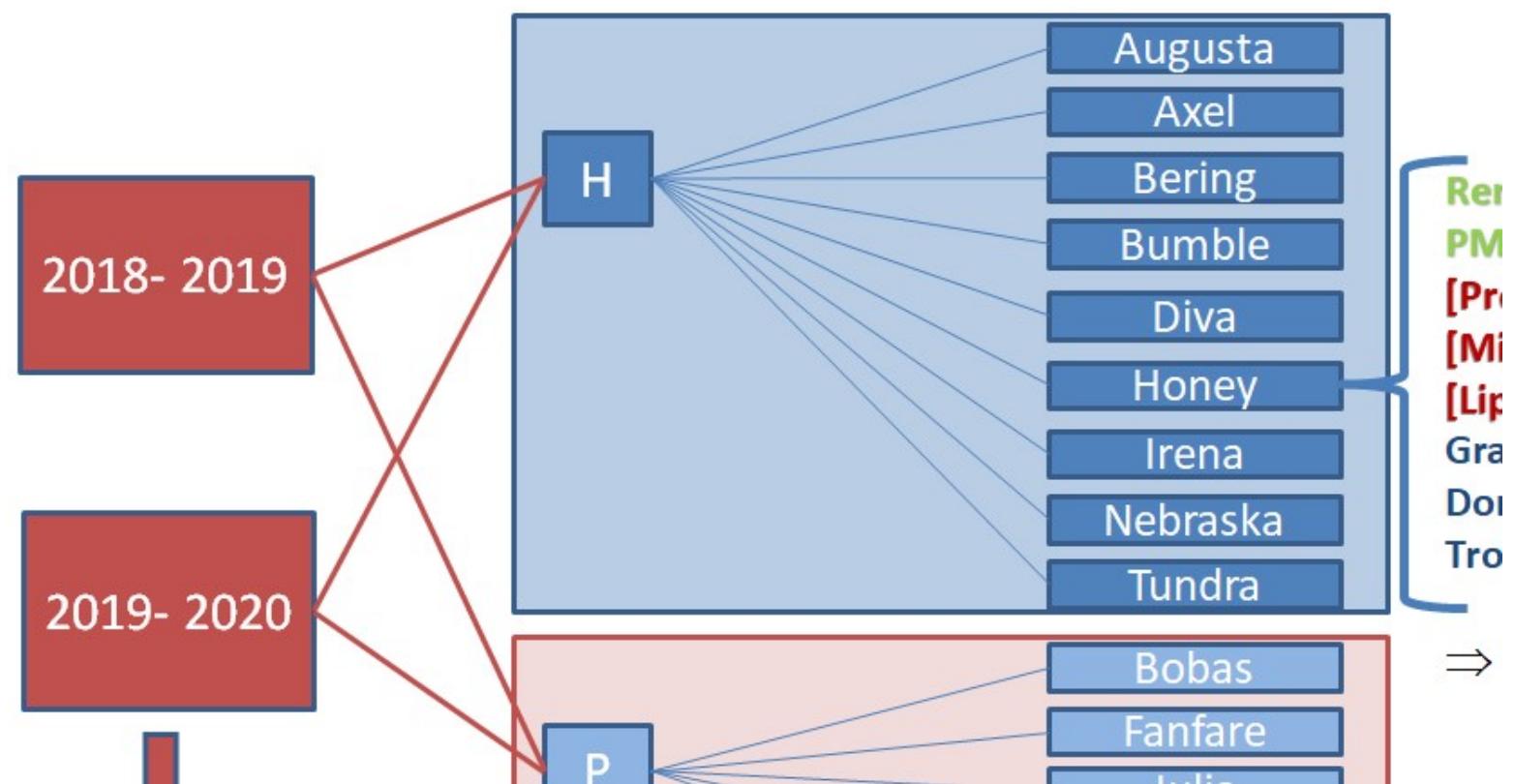
- 14 variétés testées durant les étés 2018-2019 et 2019-2020 aux Isnes
- 9 variétés d'hiver et 5 variétés de printemps
- Analyse des **compositions des graines** (protéines, minéraux, lipides)
- Analyse de **facteurs agronomiques** (rendement, PMG)
- Analyse des **dégâts de bruches** (classement par type de dégâts)



+ Suivi **pression de ravageur** et **climat**

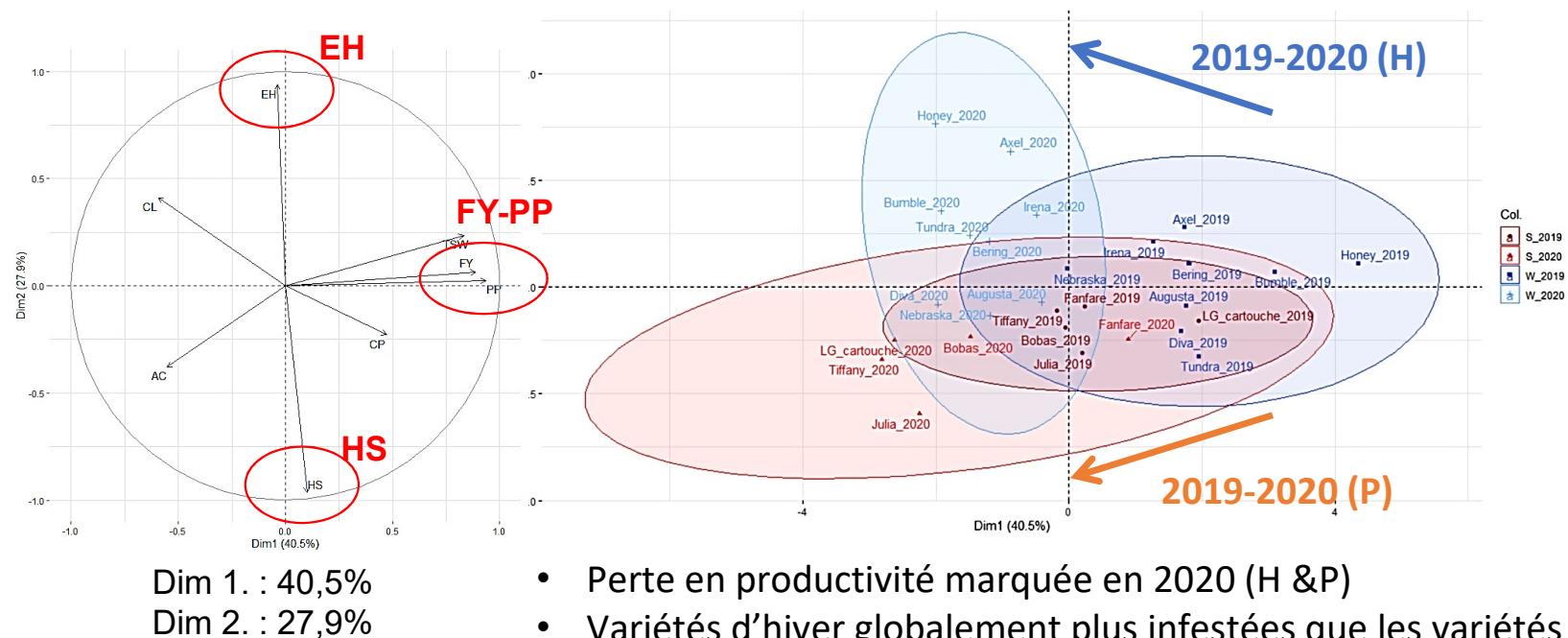


Quelles sont les variétés les plus intéressantes à cultiver en Région wallonne?
 ⇒ Design expérimental et analyses statistiques:



Quelles sont les variétés les plus intéressantes à cultiver en Région wallonne?

- Résultats
 - Fortes variations des taux d'infestation et des rendements protéiques
 - Deux années extrêmes en terme de sécheresse : forte influence du climat



Quelles sont les variétés les plus intéressantes à cultiver en Région wallonne?

- Résultats
 - Fortes variations des taux d'infestation et des rendements protéiques
 - Deux années extrêmes en terme de sécheresse : forte influence du climat
 - Quels facteurs responsables de ces variations (climat/variété)?

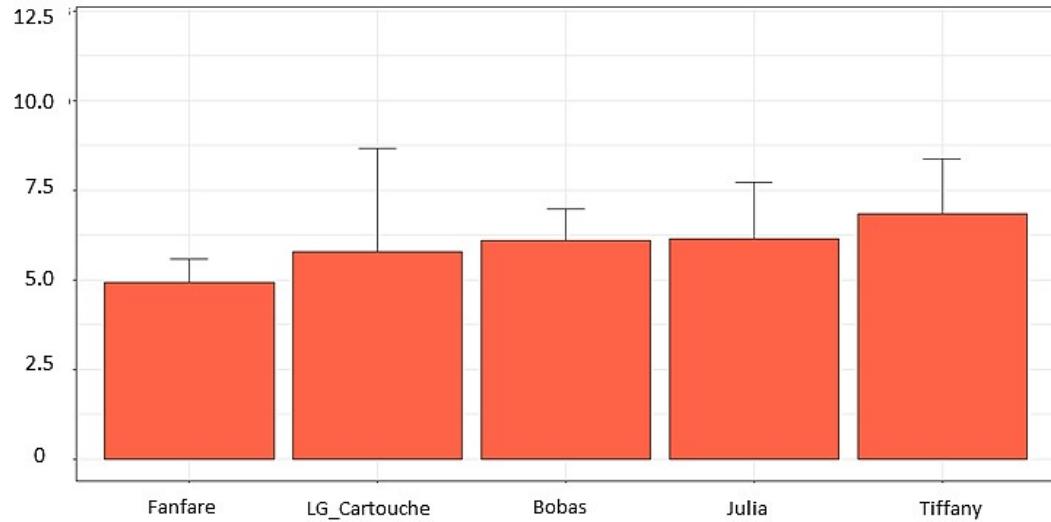
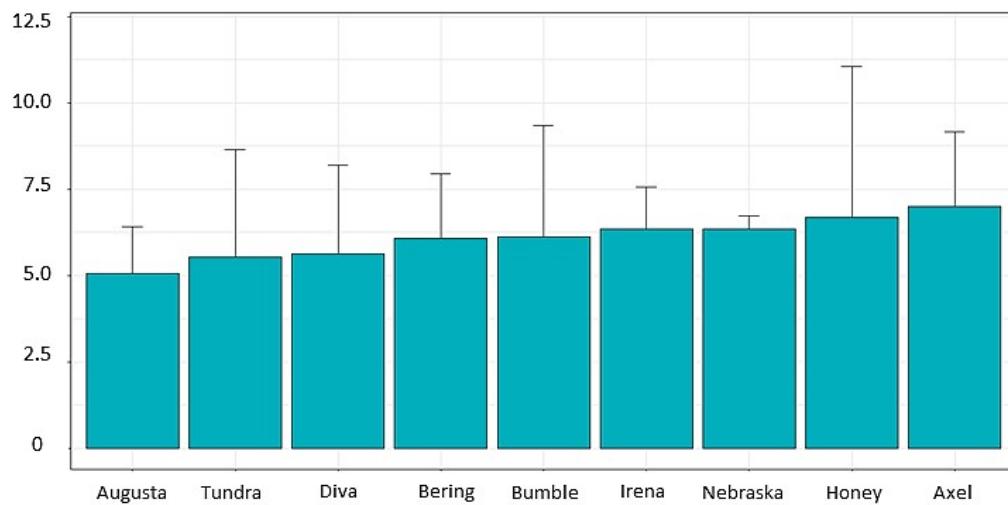
		FY p-value	Contribution (%)	CP p-value	Contribution (%)	PP p-value	Contribution (%)	HS p-value	Contribution (%)	SD p-value	Contribution (%)	EH p-value	Contribution (%)
	Year	<0.001	84.61	<0.001	36.35	<0.001	88.50	<0.001	14.92	NS	NS	0.002	8.54
	Variety	0.005	7.86	<0.001	47.24	0.006	5.77	<0.001	44.86	NS	NS	<0.001	55.58
Winter	n	18		54		54		72		72		72	
	Error (%)	7.54		16.42		5.73		40.22		NS		35.89	
	Adjusted R²	0.9004		0.7831		0.9243		0.5073		NS		0.5604	
	Year	0.005	35.00	<0.001	15.17	0.003	37.68	0.012	20.65	NS	NS	0.013	20.68
	Variety	NS	NS	0.009	64.57	NS	NS	0.022	31.20	NS	NS	0.022	31.21
Spring	n	10		30		30		40		40		40	
	Error (%)	65.00		20.26		62.32		48.14		NS		48.20	
	Adjusted R²	0.3158		0.7299		0.3440		0.4091		NS		0.4085	

⇒ Les rendements et productions de protéines : climat
 ⇒ Les teneurs en protéines et taux d'infestation : variétés

Quelles sont les variétés les plus intéressantes à cultiver en Région wallonne?

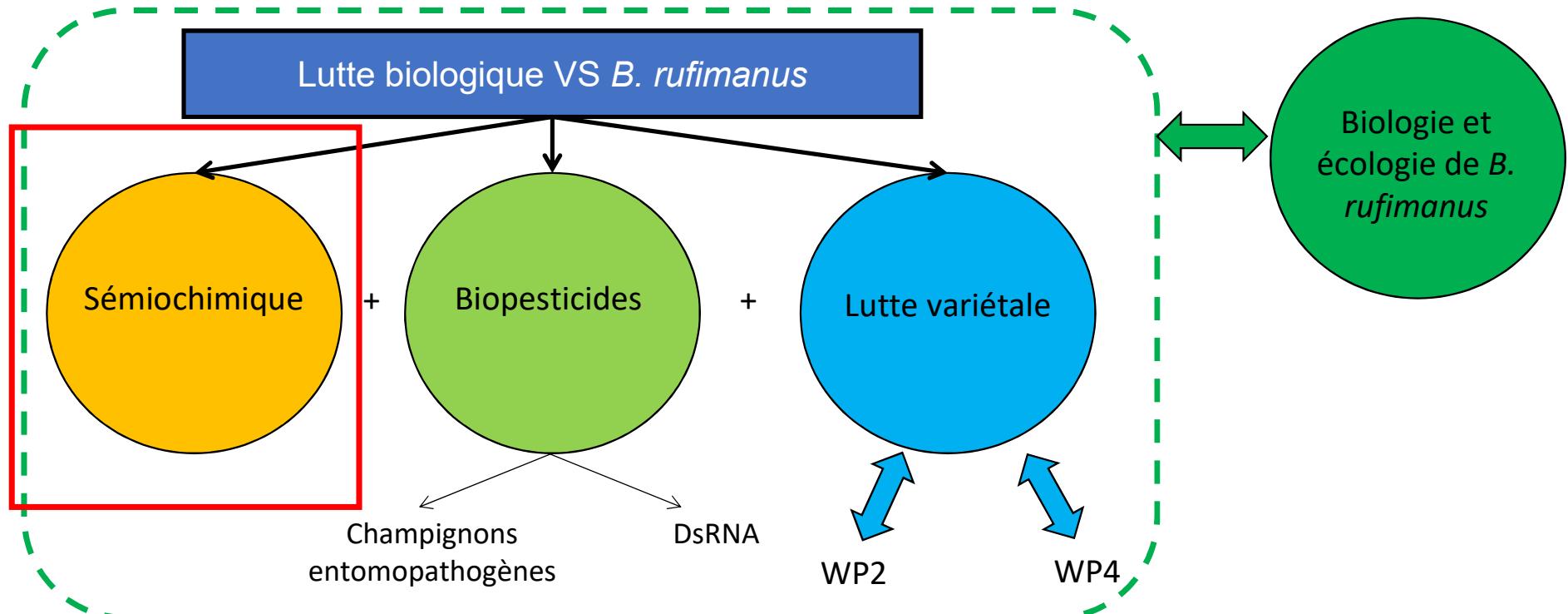
- Résultats

- **Variétés les plus intéressantes** en considérant:
 - **Production protéique:** Axel (1179 kg/ha) > Irena (1151 kg/ha) > Fanfare (1093,3 kg/ha);
 - **Taux d'infestation:** Julia (77,5%) > Bobas (72,0%) > Diva (70%);
 - **Production protéique + taux d'infestation:** Fanfare > Augusta > Tundra

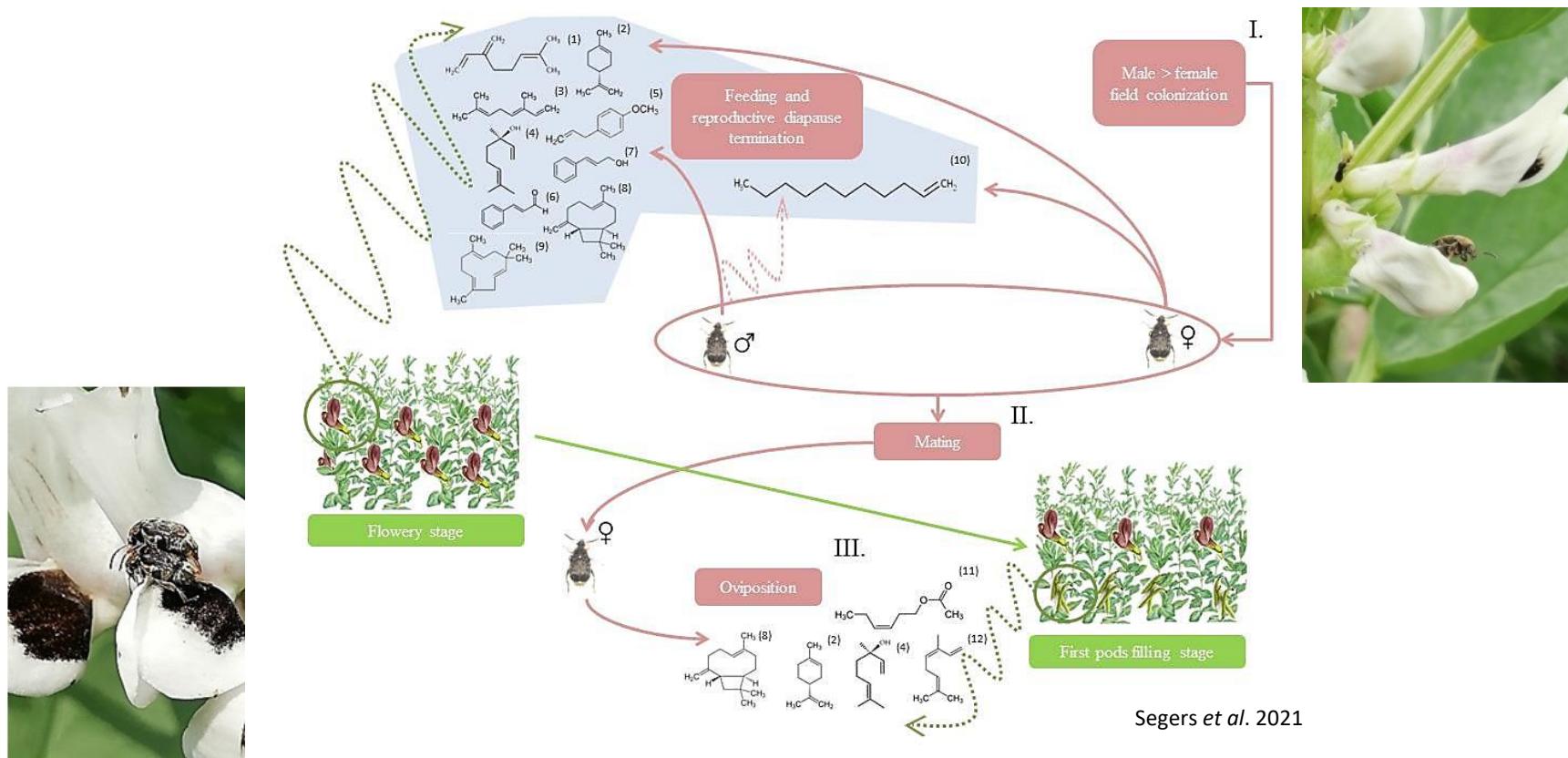




Projet FEVERPRO WP1 & WP2



Ecologie chimique de *B. rufimanus*





- Méthodes de lutte basées sur les sémioc Chimiques
 - ⇒ Reproduire l'odeur des plantes (fleurs – gousses) pour attirer les insectes
 - ⇒ Empêcher la ponte sur les jeunes gousses
- Trois types d'attractants et deux types de pièges disponibles pour la capture de la bruche:
 - Kairomones florales (IPS)
 - Kairomones florales (AgriOdor)
 - Kairomones gousses (AgriOdor)
 - Pièges verts de type *funnel trap with barrier cross*
 - Pièges blancs à cylindre transparent (prototype AgriOdor)

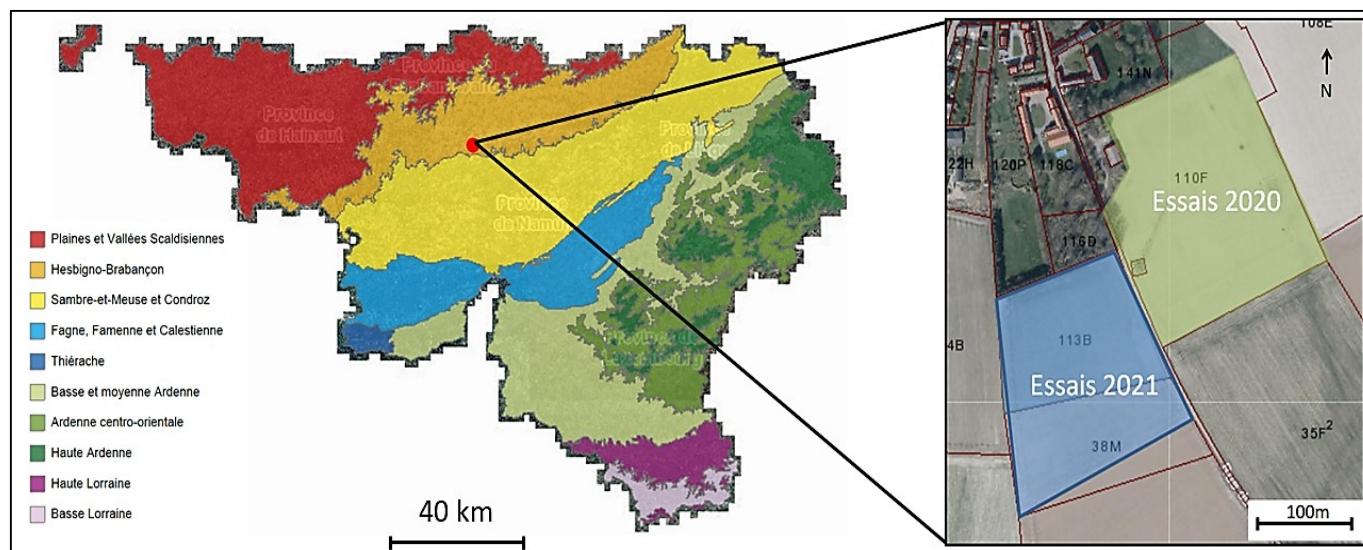


- ⇒ Evaluation de l'efficacité des pièges sémioc Chimiques et potentiel dans une stratégie de biocontrôle?
- ⇒ Influence de la phénologie de la culture sur l'efficacité des pièges?
- ⇒ Effet collatéraux sur les auxiliaires de cultures?



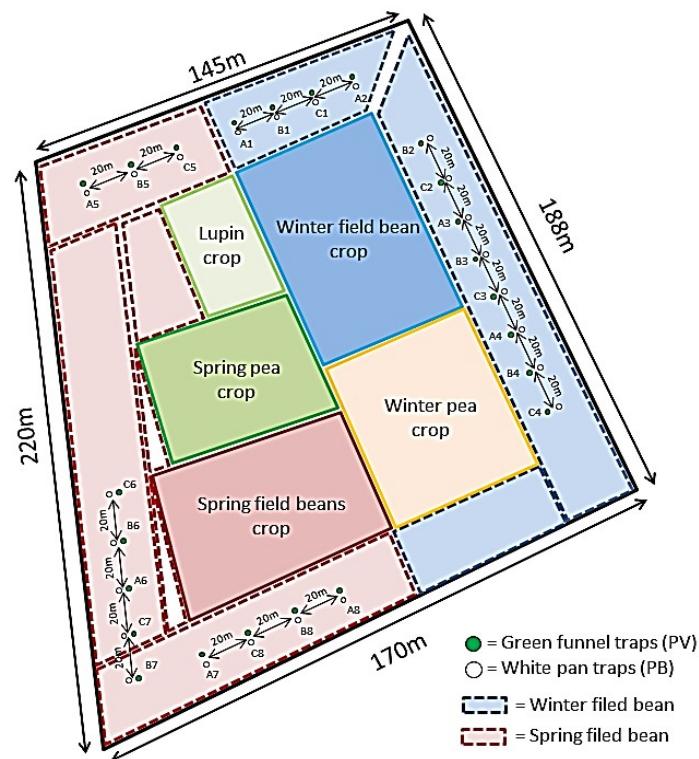


- Comparaison de pièges sémiochimiques sur terrain (2020-2021)
 - ✓ Deux cultures (féverole d'hiver et féverole de printemps)
 - ✓ Conditions d'**hyperinfestations** pour la mise en place des essais
 - ✓ Plateforme des essais CePiCOP :



- Comparaison de pièges sémiologiques sur terrain (2020-2021)

⇒ Dispositif expérimental:



- ✓ Deux dispositifs adjacents : féverole d'hiver et féverole de printemps
- ✓ (2 types de pièges) X (3 types d'attractants), 4 répétitions
- ✓ Deux contrôles
 - Piégeage manuel (PM) => Contrôle
 - Plaque collante (Solabiol ®) => Contrôle
- ✓ **Suivi phénologique** des féveroles + conditions météorologiques



Projet
FEVERPRO

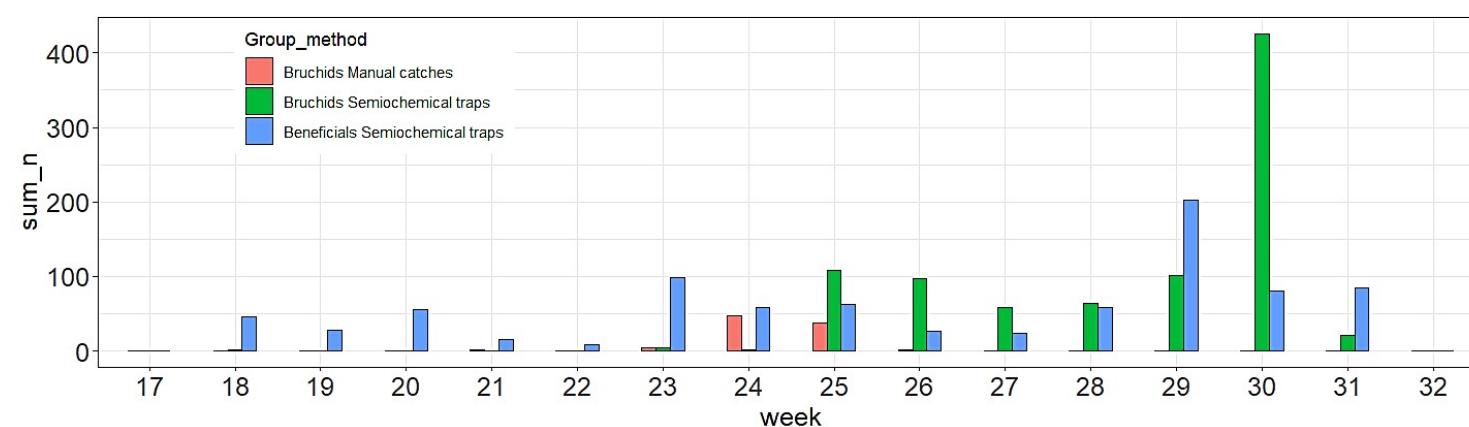
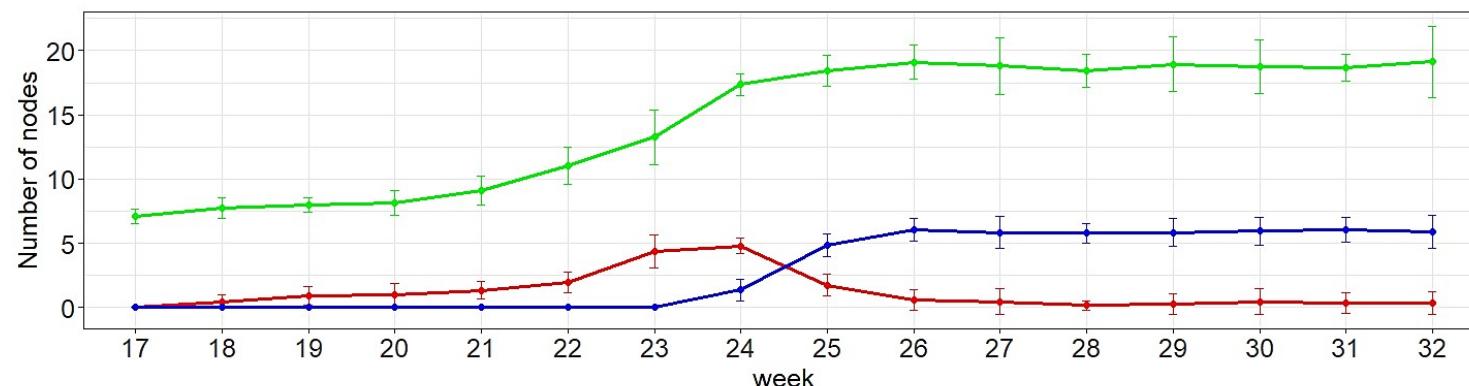
Biologie et
écologie

Lutte variétale

Lutte
sémioc Chimique

Lutte bio
technologique

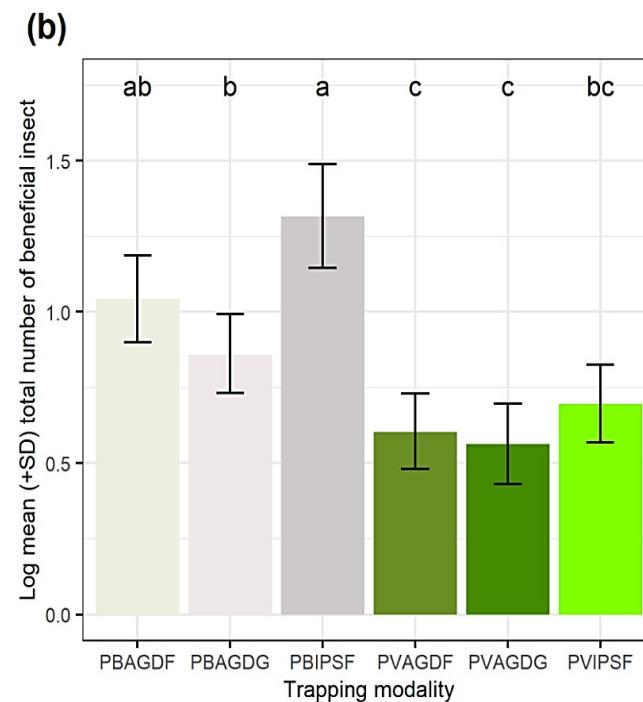
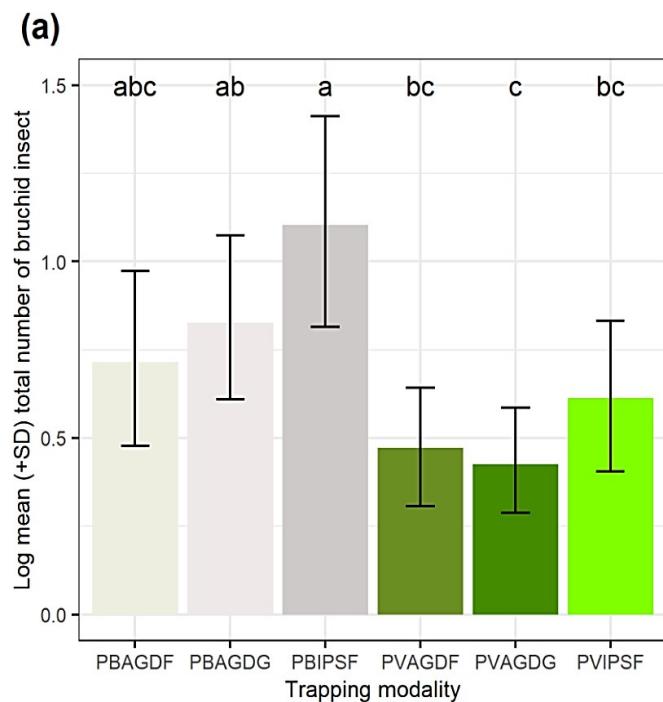
- Comparaison de pièges sémioc Chimiques sur terrain (2020-2021)
⇒ **1380 bruches VS 1424 auxiliaires** (Apoidea ; Coccinellidae ; Syrphidae)



⇒ **Forte compétition de la floraison VS attractivité des pièges**

- Comparaison de pièges sémiologiques sur terrain (2020-2021)

⇒ Pièges les plus efficaces pour les bruches (a) et sur les auxiliaires (b)



Pièges blancs > pièges verts

PBIPSF +++



- Comparaison de pièges sémioc Chimiques sur terrain (2020-2021)
 - ⇒ Impacts sur les auxiliaires

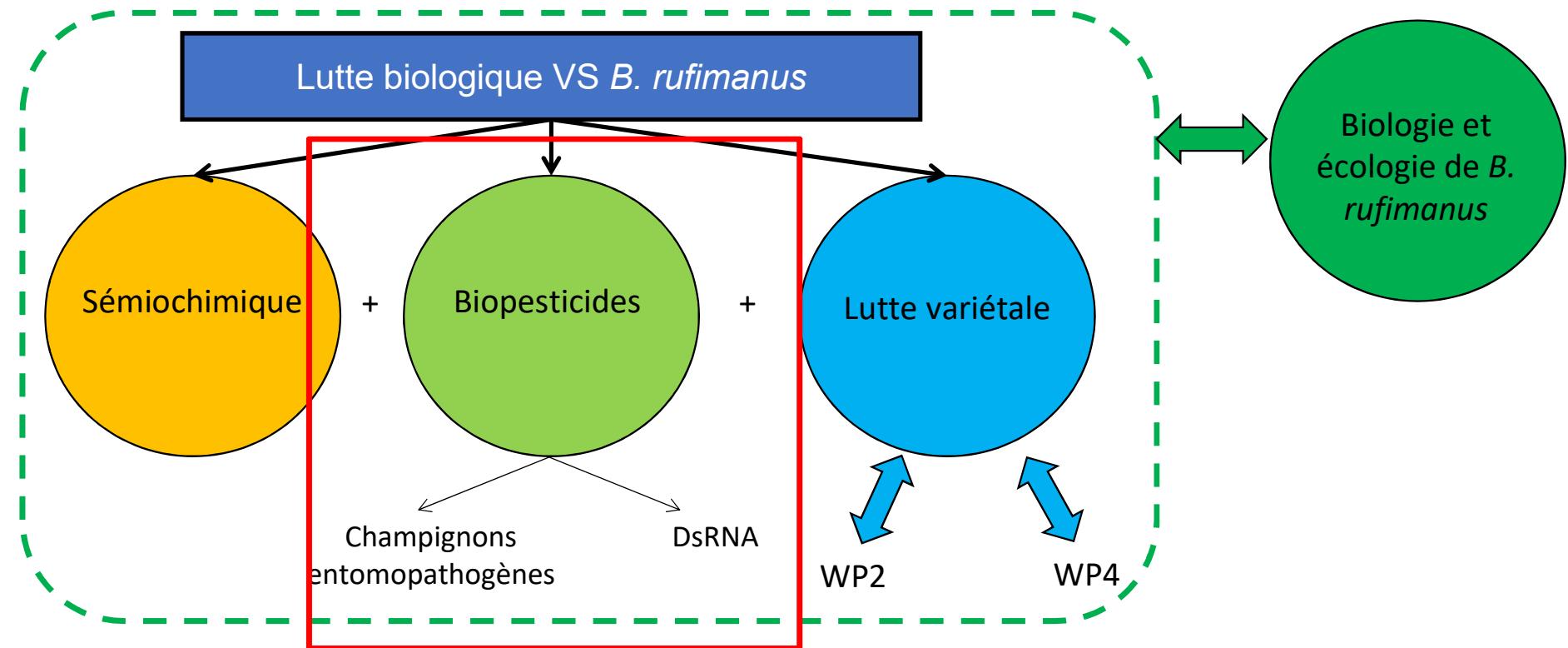
Modalité de piégeage	Richesse spécifique	Chao1 index ± SE	Estimation des espèces manquées (%)
All the experiment	67	114.88 ± 28.50	41.68
PBAGDF	45	74.89 ± 17.44	39.91
PBAGDG	34	52.03 ± 12.07	34.66
PBIPSF	37	68.62 ± 23.06	46.08
PVAGDF	16	28.02 ± 12.92	42.90
PVAGDG	18	47.65 ± 28.08	62.22
PVIPSF	24	38.88 ± 12.28	38.28

Conclusions:

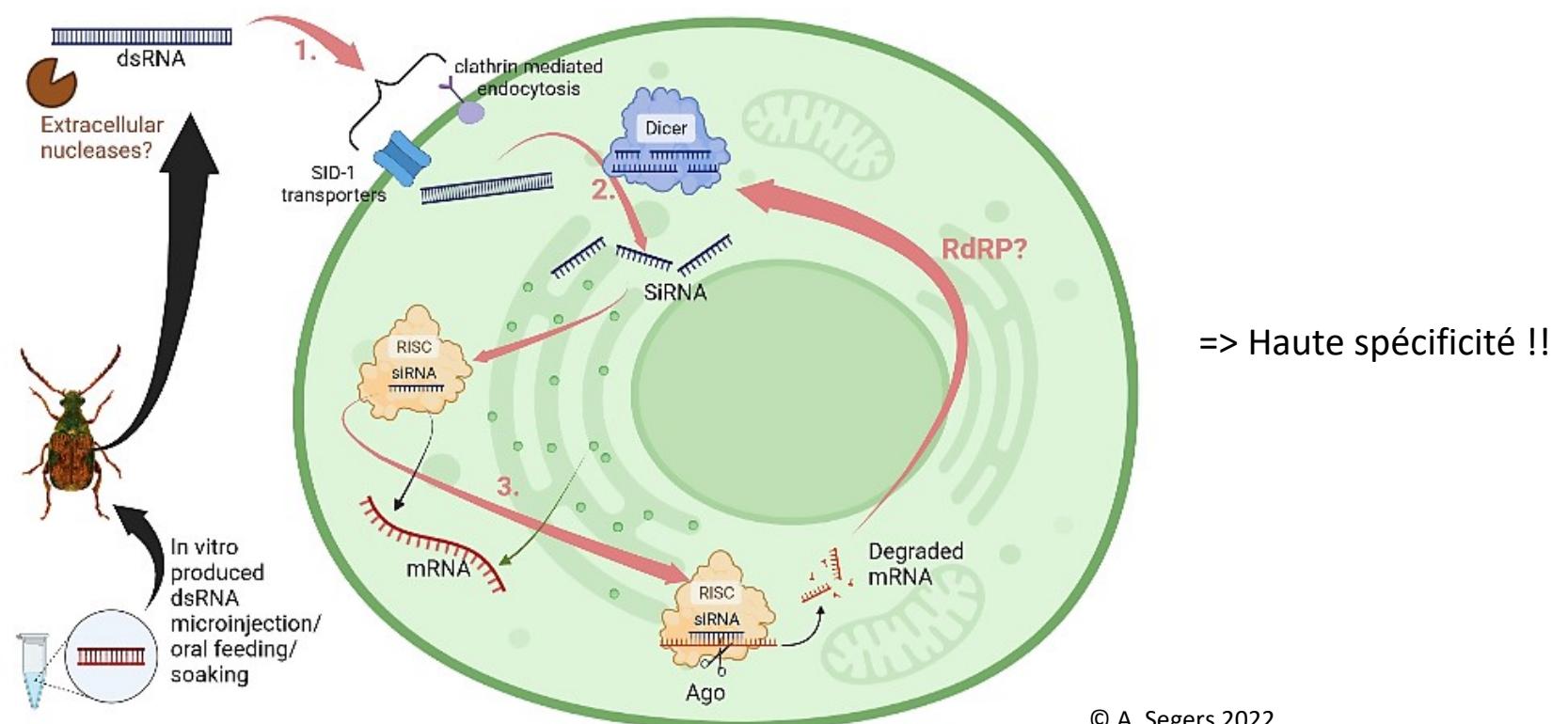
- Forte compétition de la floraison sur l'attractivité des pièges
- Pièges blancs >>> pièges verts et leurres IPS les plus efficaces
- Fort impact sur les communautés d'auxiliaires par les pièges sémioc Chimiques



Projet FEVERPRO WP1 & WP2



Lutte contre les bruches via ARN doubles brins



Projet
FEVERPRO

Biologie et
écologie

Lutte variétale

Lutte
sémiochimique

Lutte bio
technologique

Lutte contre les bruches via ARN doubles brins

Est-il possible de mettre sous silence l'expression du gène de la *laccase 1* chez *C. maculatus* par interférence ARN suite à l'administration d'ARN doubles brins (dsRNA) ?



- Synthétiser dsRNA *in vitro*
- Micro-injection dsRNA



3 traitements

- Contrôle (sérum physiologique)
- dsRNA *GFP* (400 ng/insecte)
- dsRNA *laccase 1* (400 ng/insecte)



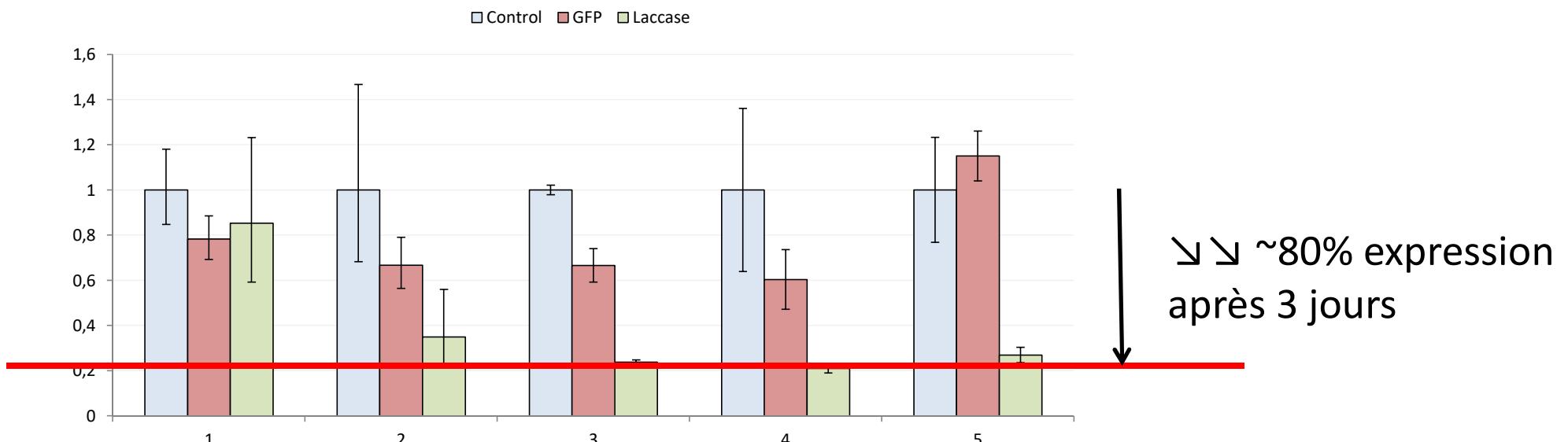
Analyse de l'expression des gènes
par RT-qPCR



Lutte contre les bruches via ARN doubles brins

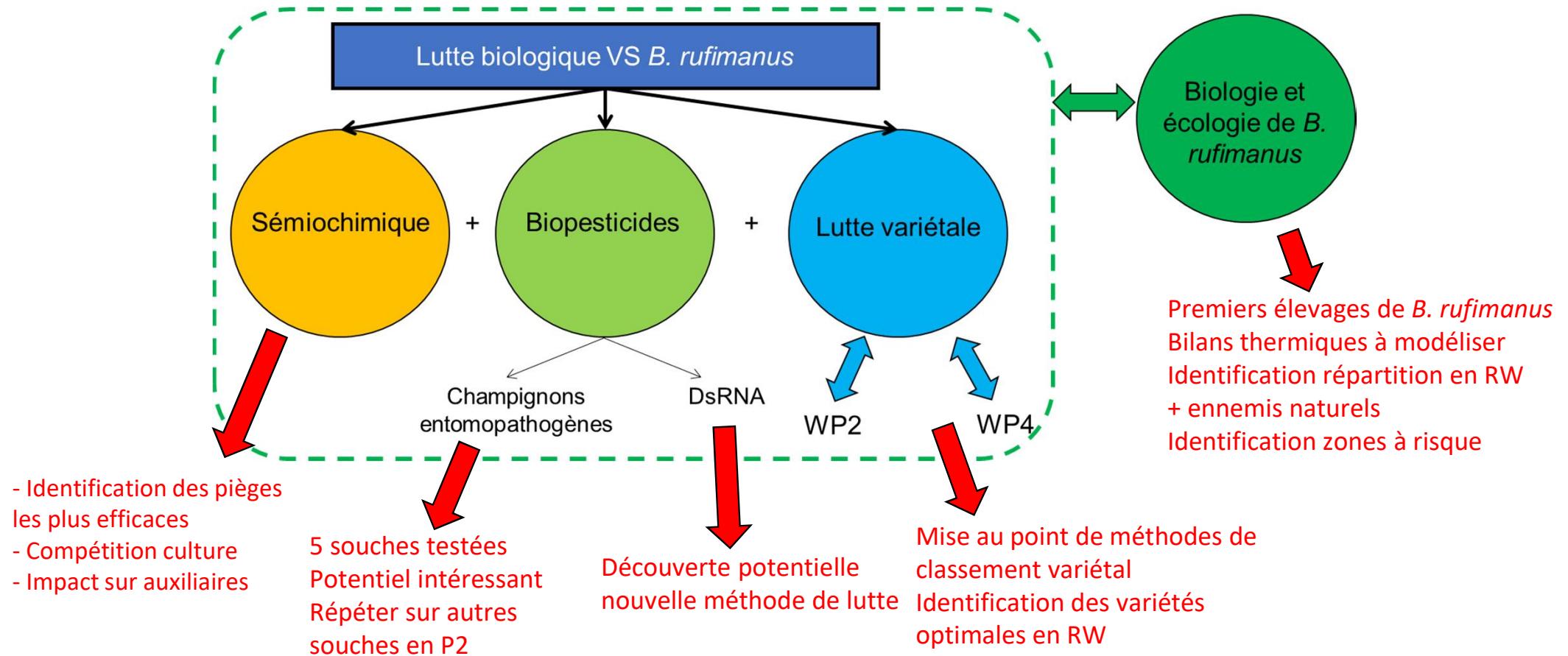
Est-il possible de mettre sous silence l'expression du gène de la *laccase 1* chez *C. maculatus* par interférence ARN suite à l'administration d'ARN doubles brins (dsRNA) ?

Résultats:



« Take home message » des activités prestées durant la première triennale

Approche multidisciplinaire et innovante dans l'évaluation de plusieurs leviers de lutte



Plan de travail phase 2 (WP1, WP2):

Objectif général = combinaison* de chaque levier au sein de méthode de lutte efficace
⇒ Poursuite des recherches (souches champignons entomopathogènes + ODP + dsRNA)
⇒ Essai en champs sur les deux dernières années

Quatre principales activités:

1	Poursuite de la caractérisation à l'échelle de laboratoire de nouveaux agents microbiens de biocontrôle sur la bruche de la fève et des auxiliaires de culture
1.1	Caractérisation des agents entomopathogènes
1.2	Test sur auxiliaires (<i>Adalia sp.</i> et <i>Episyphus sp.</i>)
1.3	Co-formulation avec les sémiochimiques
2	Production et caractérisation à l'échelle de laboratoire de l'effet des ARN doubles brins (DsRNA) sur la survie de la bruche de la fève et des auxiliaires de cultures
2.1	Production et test des dsRNA sur la bruche de la fève
2.2	Test sur auxiliaires (<i>Adalia sp.</i> et <i>Episyphus sp.</i>)
2.3	Co-formulation avec les sémiochimiques
3	Caractérisation à l'échelle de laboratoire de composés non volatils accompagnant les pontes sur le comportement de ponte des femelles
3.1	Pontes sur surfaces inertes en élevages
3.2	Extractions liquides-analyses GC-MS
3.3	Bioessais en élevages pour caractériser ODP
4	Evaluation en champs des stratégies "attract and infect", "attract and kill" ou "push pull"
4.1	Mise en place des dispositifs expérimentaux
4.2	Suivi des dynamiques d'infestations
4.3	Analyses des dégâts sur récoltes

+ mesures adaptées à la bioécologie
+ variétés optimales

Merci de votre attention !



Contact: arnaud.segers@uliege.be