



**HAL**  
open science

## Rapport intermédiaire n°1 du programme SaveBuxus II (Bilan 2018)

Anne Sophie Brinquin, Maurane Buradino, Jean-Claude Martin, Baptiste Deras, Aurore Gili, Marianne Correard, Fatima Jouineau

### ► To cite this version:

Anne Sophie Brinquin, Maurane Buradino, Jean-Claude Martin, Baptiste Deras, Aurore Gili, et al.. Rapport intermédiaire n°1 du programme SaveBuxus II (Bilan 2018): Étude de l'effet perturbateur de certaines substances sur le comportement des pyrales du buis (*Cydalima perspectalis*). INRAE UEFM Avignon. 2018. hal-04542490

**HAL Id: hal-04542490**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04542490>**

Submitted on 16 Apr 2024

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## Programme SAVEBUXUS II

Etude de l'effet perturbateur de certaines substances sur le comportement des pyrales du buis (*Cydalima perspectalis*).

BILAN 2018



**Rapport intermédiaire - 05/12/2018**

Porteur du projet : Anne-Sophie BRINQUIN – INRA UE 0348

Rédaction : Anne-Sophie BRINQUIN, Maurane BURADINO, Jean-Claude MARTIN, Baptiste DERAS, Aurore GILI, Marianne CORREARD, Fatima JOUINEAU.

Unité Expérimentale Entomologie et Forêt Méditerranéenne

Domaine Saint-Paul – Site Agroparc - CS 40509 84914 - AVIGNON cedex 9

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>4</b>
<b>PARTIE I : ETUDE DE L'EFFET PERTURBATEUR DES HUILES ESSENTIELLES SUR L'ALIMENTATION DES CHENILLES.....</b>	<b>6</b>
<b>MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>7</b>
<b>1. Matériels.....</b>	<b>7</b>
i. Les chenilles.....	7
ii. Les huiles essentielles.....	7
iii. Le buis.....	7
<b>2. Méthodes.....</b>	<b>8</b>
i. Elevage des chenilles.....	8
ii. Expérimentation en laboratoire.....	8
iii. Mesures réalisées.....	9
iv. Traitement et analyse des données.....	10
a. Mesures réalisées sur les rameaux de buis.....	10
b. Mesures réalisées sur les chenilles.....	10
c. Mesures réalisées sur les fèces.....	10
<b>RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>11</b>
<b>1. Mesures réalisées sur les rameaux de buis.....</b>	<b>11</b>
<b>2. Mesures réalisées sur les chenilles.....</b>	<b>12</b>
<b>3. Mesures réalisées sur les fèces.....</b>	<b>13</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>13</b>
<b>PARTIE II : ETUDE DE LA CONFUSION SEXUELLE SUR LES PAPILLONS MÂLES.....</b>	<b>15</b>
<b>MATERIEL ET METHODE.....</b>	<b>16</b>
<b>1. Site de Montfavet (84).....</b>	<b>16</b>
<b>2. Site de Saint-Mars-du-Désert (44).....</b>	<b>17</b>
i. Premier vol : essai en linéaire.....	17
ii. Deuxième vol : essai en patch.....	18
<b>RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>19</b>
<b>1. Site de Montfavet (84).....</b>	<b>19</b>
<b>2. Site de Saint-Mars-du-Désert (44).....</b>	<b>21</b>

<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>22</b>
<b>PARTIE III : TEST D'EFFICACITE DE TROIS DIFFUSEURS DE PHEROMONE.....</b>	<b>24</b>
<b>MATERIEL ET METHODE.....</b>	<b>25</b>
<b>RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>25</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>26</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>27</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>30</b>

## INTRODUCTION

La pyrale du buis, *Cydalima perspectalis*, est un lépidoptère originaire d'Asie de l'Est (Chine, Corée, Japon), qui a été introduit de manière accidentelle en Europe en 2007, par le biais du commerce et du transport de buis infestés [30]. Identifiée pour la première fois en France en 2008 [7], elle figure depuis sur la liste d'alerte de l'Organisation Européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes [23].

En effet, cette espèce détient un fort pouvoir invasif. Du fait de sa colonisation récente et rapide sur notre continent, peu d'ennemis naturels ont pu être identifiés encore à ce jour. De plus, ce lépidoptère peut avoir de 3 à 4 générations par an selon le climat, et les femelles sont capables de pondre près de 400 œufs en condition optimale [5, 22, 31]. Les populations de pyrales du buis peuvent ainsi croître aisément de manière exponentielle au cours d'une même année.

La pression sur les buis est donc très forte, les chenilles se nourrissant exclusivement des feuilles voire de l'écorce de cette plante hôte [18]. Sur notre territoire, le buis a une haute valeur patrimoniale et se trouve principalement planté dans les milieux urbanisés (parcs, jardins, pépinières, JEVI...). Il se trouve également à l'état naturel, essentiellement dans les Pyrénées, les Alpes, le Juras et le Sud de la France, et de manière plus sporadique dans les régions du Centre et du Nord [6]. L'impact de la pyrale du buis est donc culturel et sociétal, avec la destruction de sujets à fort intérêt patrimonial [16], mais également écologique et environnemental, avec la colonisation progressive des milieux naturels et les effets induits sur la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes [3, 4].

Ainsi, il existe une forte demande sociétale pour trouver et développer des solutions de gestion des populations de pyrales du buis. Les pratiques des professionnels et des particuliers vis-à-vis de ce ravageur sont en effet peu adaptées. Des insecticides à large spectre sont majoritairement utilisés bien qu'ils n'aient que peu d'effets sur les populations de pyrales mais un impact fort sur la faune non cible. Le traitement microbiologique (Bt) est efficace mais son utilisation est soumise à une législation de plus en plus restrictive.

Le projet SaveBuxus I (2014-2017) a eu pour objectif de mettre au point et d'évaluer des solutions de biocontrôle contre la pyrale du buis. Ce projet a permis de mieux connaître la biologie de ce ravageur, de suivre l'évolution de sa répartition en France, et de tester différentes méthodes de lutte (traitement microbiologique, piégeage de masse, lâcher de parasitoïdes oophages, pose de nichoirs à mésanges...). Cependant, il n'a pas permis de mettre en lumière une technique de lutte véritablement efficace, mais préconise la combinaison de plusieurs techniques pour optimiser le contrôle relatif des populations [9, 10, 11, 12].

Le projet SaveBuxus II (2018-2021) propose de poursuivre les recherches dans l'amélioration des techniques de lutte déjà expérimentées, mais également vers de nouvelles solutions de

biocontrôle contre la pyrale du buis, telle que l'utilisation de substances d'origine naturelle comme les huiles essentielles, susceptibles de perturber le comportement de cet insecte.

Les huiles essentielles sont des composés sémiochimiques naturellement produits par les plantes dites « aromatiques » (Myrtacées, Lauracées, Lamiacées, Astéracées) afin de se protéger des bioagresseurs potentiels [24, 25]. Elles sont composées de 2-3 éléments majoritaires et de plusieurs éléments secondaires présents à l'état de trace. Leur composition est très hétérogène car elle dépend de facteurs biologiques (physiologie, génétique...), environnementaux (climat, pédologie...), et analytiques (pratiques culturales, technique d'extraction...) [26].

Il a été démontré, dans plusieurs études scientifiques, les propriétés neurotoxiques et répulsives des huiles essentielles sur les insectes [1, 2, 13, 14, 15, 17, 19, 20, 24, 27, 28, 29, 32]. La courte persistance et l'absence de bioaccumulation de ces substances dans l'environnement permettent d'entrevoir une possible utilisation des huiles essentielles comme produit de biocontrôle. Deux études scientifiques ont d'ailleurs déjà permis de mettre en lumière l'effet toxique et/ou répulsif de certaines huiles essentielles et autres substances sur l'alimentation des chenilles et sur le comportement d'oviposition des femelles pyrales du buis [8, 21].

Ce rapport rend compte du travail accompli au cours de l'année 2018 dans le cadre du projet SaveBuxus II. La première partie se consacre à l'étude de l'effet perturbateur des huiles essentielles sur l'alimentation des chenilles pyrales du buis, réalisée en laboratoire. La seconde partie présente les résultats obtenus au sujet des essais de confusion sexuelle sur les papillons mâles. Et enfin, la troisième et dernière partie expose les résultats des tests phéromones réalisés dans le cadre d'un dispositif expérimental de piégeage phéromonal.

# PARTIE I

ETUDE DE L'EFFET PERTURBATEUR DES HUILES  
ESSENTIELLES SUR L'ALIMENTATION DES CHENILLES

## MATERIELS ET METHODES

### 1. Matériels

#### i. Les chenilles

Les chenilles utilisées pour les expérimentations en laboratoire ont été élevées à partir de pontes livrées chaque semaine par le Laboratoire Biocontrôle de la Villa Thuret (UEFM Antibes). Deux catégories de stades larvaires ont été testées : les chenilles de stades L2 et L3 d'une part, et les chenilles de stades L4 et L5 d'autre part (Annexe 1).

L'objectif est de mettre en évidence une éventuelle différence de sensibilité des jeunes stades larvaires par rapport au traitement par les huiles essentielles.

#### ii. Les huiles essentielles



Une étude bibliographique a permis de sélectionner onze huiles essentielles pouvant potentiellement avoir un effet sur l'alimentation des chenilles pyrales du buis. Ces onze huiles essentielles ont été commandées auprès de l'entreprise « La Compagnie des Sens » (Figure 1). Elles sont 100% pures et naturelles, certifiées « Agriculture Biologique », et soumises à des contrôles « qualité » avant leur commercialisation (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, caractéristiques organoleptiques (couleur, odeur, aspect), profil chromatographique...).

**Par souci de confidentialité, les noms des onze huiles essentielles testées ont été codés.**



Figure 1 : Fioles de 5mL d'huiles essentielles provenant de la « Compagnie des Sens ».

#### iii. Le buis

Le buis utilisé pour les expérimentations en laboratoire ainsi que pour l'élevage des chenilles a été récolté chaque semaine en milieu naturel, sur le Mont Ventoux (altitude = 800m) (Figure 2). La provenance du milieu naturel garantit l'absence de traitement sur les buis.



Pour chaque branche récoltée, la bonne qualité du feuillage est vérifiée ainsi que l'absence de prédateurs (araignées, larves de coccinelles, fourmis...) et d'attaques d'autres parasites et pathogènes.

Figure 2 : Buis naturel localisé sur le Mont Ventoux.



## 2. Méthodes

### i. Elevage des chenilles

Après éclosion, les chenilles sont réparties dans plusieurs boîtes d'élevage afin de limiter la concurrence alimentaire (1 boîte = 150 chenilles maximum) (Annexe 2). L'ajout de buis frais est réalisé 2 à 3 fois par semaine pour les jeunes stades larvaires, et 4 à 5 fois par semaine pour les stades L4 et L5. Afin de limiter la prolifération de champignons, les boîtes sont nettoyées une fois par semaine.

Dans les conditions optimales de température et d'humidité, le cycle de vie de la pyrale du buis dure environ 45 jours ( $\pm 3$ ) :

*Œufs = 4 à 5 jours → chenilles = 29 à 33 jours → chrysalides = 9 à 10 jours → adultes = 12 jours*

De ce fait, afin d'obtenir chaque semaine, pour les besoins des expérimentations, à la fois des chenilles de stades L2-L3 et des chenilles de stades L4-L5, la croissance des chenilles a été accélérée ou limitée. Ainsi, pour ralentir la croissance de façon modérée, les boîtes d'élevage sont conservées au laboratoire à 17°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ). Et pour accélérer le cycle de vie et la croissance des chenilles, les boîtes d'élevage sont mises en chambre climatique ( $T=25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , HR=70%  $\pm 5\%$ , photopériode 14 :10) (Annexe 2).

### ii. Expérimentation en laboratoire

Chaque semaine, une huile essentielle est testée en comparaison avec le témoin (sauf pour les huiles essentielles F-HE6 et F-HE7, ainsi que K-HE12 et K-HE13 qui ont été testées respectivement la même semaine). Ainsi, les rameaux de buis sont arrosés, soit avec une solution contenant l'huile essentielle étudiée et un émulsifiant, concentrés à 5% (TEST), soit avec de l'eau distillée (TEMOIN A). Des lots de chenilles y sont ensuite déposés ou non : lots de 5 chenilles pour les stades L2-L3, lots de 3 chenilles pour les stades L4-L5, et lots « sans chenille » afin de mesurer la deshydratation moyenne des rameaux de buis dans les conditions expérimentales (Figure 3).

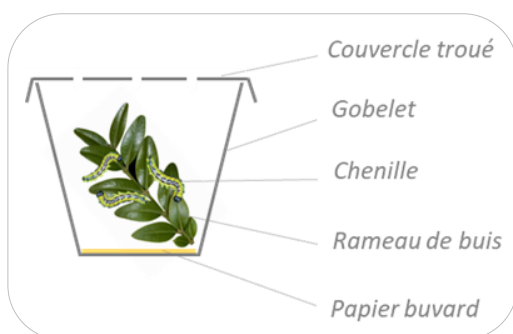


Figure 3 : Schéma d'un pot contenant un rameau de buis et un lot de 3 chenilles de stades L4-L5.

Au total, 6 modalités différentes sont testées avec 16 répétitions pour chacune (Figure 4). Enfin, tous les lots sont installés en chambre climatique sous conditions contrôlées ( $T=25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ , HR=70%  $\pm 5\%$ , photopériode 14 :10) (Figure 5). Au bout de 48 heures, le dispositif est

désinstallé et les rameaux de buis sont mis à l'étuve durant 5 jours à  $T=45^{\circ}\text{C}$ , afin de les déshydrater totalement.

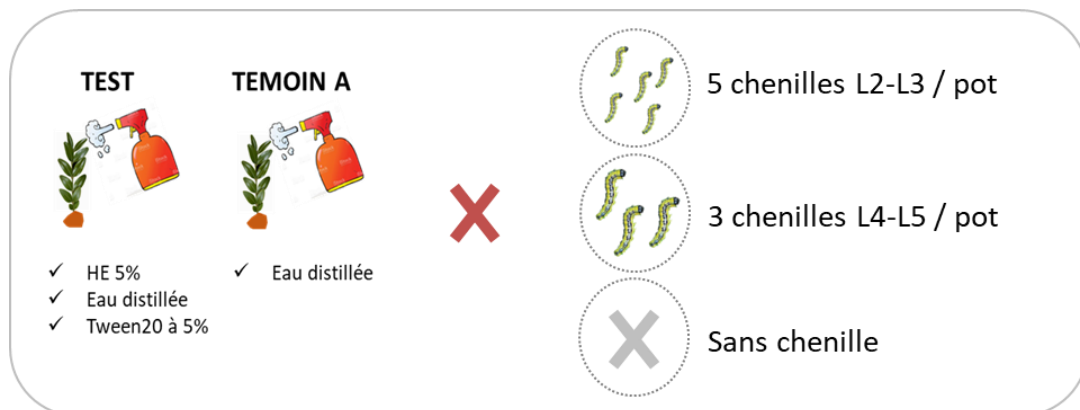


Figure 4 : Les six différentes modalités testées.



Figure 5 : Mise en place du dispositif en chambre climatique.

### iii. Mesures réalisées

Des mesures ont été réalisées afin de suivre la consommation de buis par les chenilles selon trois paramètres :

- Le poids des rameaux à  $T=0$  ( $P_0$ ), et après leur passage à l'étuve ( $P_{\text{SEC}}$ ) ;
- Le poids des chenilles à  $T=0$  ( $PC_0$ ), et à  $T=48\text{H}$  ( $PC_{48}$ ) ;
- Le poids des fèces à  $T=48\text{H}$  (PF), seulement pour les chenilles de stades L4-L5.

#### iv. Traitement et analyse des données

##### a. Mesures réalisées sur les rameaux de buis

La perte de poids mesurée sur les rameaux de buis entre T=0 et après le passage à l'étuve, est due à la fois à la consommation nette des chenilles et à la deshydratation des rameaux. Les modalités « sans chenille » permettent de calculer la moyenne de la deshydratation des rameaux dans les conditions expérimentales, avec et sans traitement à l'huile essentielle.

$$Deshyd_{.sans\ Chenille} = Moyenne \left( \frac{P_0 - P_{SEC}}{P_0} \right)$$

Le but est ensuite d'éliminer la part de la deshydratation dans la perte de poids des rameaux, afin d'analyser uniquement la consommation nette des chenilles.

$$Consommation\ nette = (P_0 - P_{SEC}) - (Deshyd_{.sans\ Chenille} \times P_0)$$

La consommation nette des chenilles est analysée statistiquement sous le logiciel R, afin de mettre en lumière d'éventuels effets du traitement à l'huile essentielle sur l'alimentation des chenilles par rapport au témoin. Le test de Shapiro-Wilk est utilisé pour tester la normalité des données et le test de Bartlett est utilisé pour vérifier les conditions d'homoscédasticité. Enfin, une ANOVA à deux facteurs est réalisée afin de suivre l'effet du traitement en fonction du stade larvaire.

##### b. Mesures réalisées sur les chenilles

Les analyses sont effectuées sur les données de différence de poids des chenilles ( $\Delta$ ) entre T=0 et T=48H.

$$\Delta = PC_{48} - PC_0$$

Sous le logiciel R, la normalité et l'homoscédasticité des données sont vérifiées respectivement à l'aide des tests de Shapiro-Wilk et de Bartlett. Et une ANOVA à deux facteurs est réalisée afin de suivre l'effet du traitement en fonction du stade larvaire.

##### c. Mesures réalisées sur les fèces

Sous le logiciel R, la normalité et l'homoscédasticité des données sont vérifiées respectivement à l'aide des tests de Shapiro-Wilk et de Bartlett. Afin de comparer les effets du traitement à l'huile essentielle par rapport au témoin, le test de Student est utilisé quand les conditions de normalité et d'homogénéité des variances sont vérifiées. Sinon, le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney est privilégié.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Mesures réalisées sur les rameaux de buis

La figure 6 présente le poids net de buis consommé par les chenilles, selon le stade larvaire (« Stades L2-L3 » à gauche et « Stades L4-L5 » à droite) et selon le type de traitement (« Témoin » en gris clair et « Traitement » à l'huile essentielle en gris foncé).

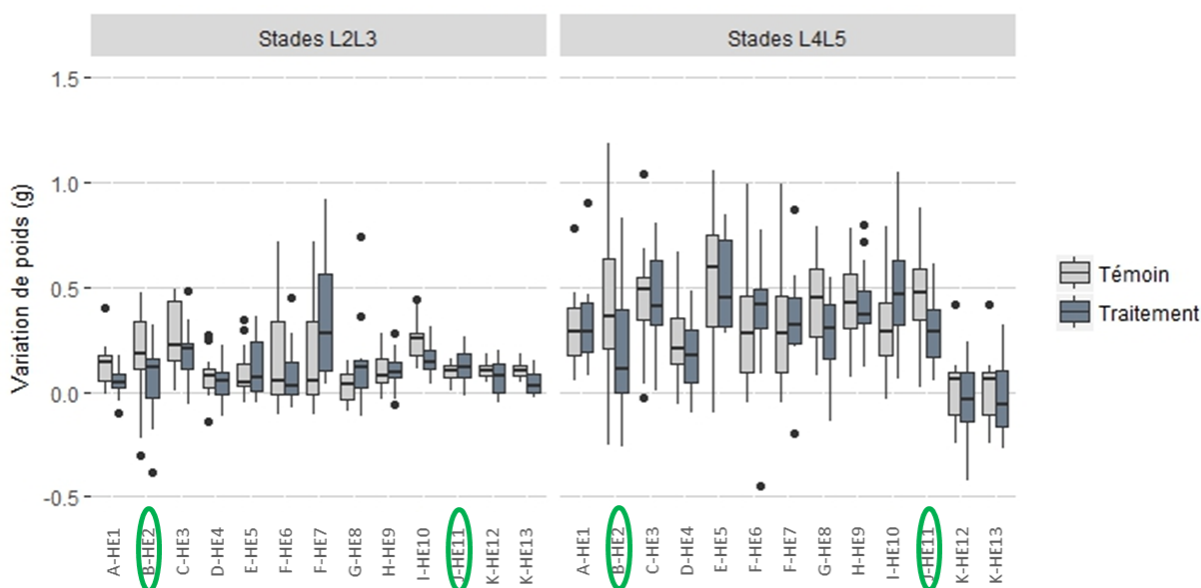


Figure 6 : Graphique présentant les différences de consommation des rameaux par les chenilles selon les types de traitement et de stade larvaire. Les cercles verts présentent les huiles essentielles ayant un effet sur la consommation des chenilles.

Ainsi, nous observons globalement des différences de consommation suivant le stade larvaire, les chenilles de stades L2-L3 consommant moins de buis que les chenilles de stades L4-L5. Ceci reste cohérent au regard des besoins physiologiques des chenilles qui diffèrent selon le stade de développement. Toutefois, nous observons une faible consommation de buis par les chenilles de stade L4-L5 la semaine où les huiles essentielles K-HE12 et K-HE13 ont été testées. Cette observation se vérifie à la fois pour les chenilles du Témoin et pour les chenilles du Traitement. Ceci peut s'expliquer par une mauvaise santé de la cohorte à ce stade de développement, peut-être due à une qualité moindre du buis administré en élevage.

De plus, la variance est globalement plus élevée pour les données concernant la consommation des chenilles de stades L4-L5 par rapport à celles concernant la consommation des chenilles de petits stades larvaires. Or, moins il y a de variabilité dans les données, plus il y aura de sensibilité aux écarts dans les analyses statistiques. Les chenilles de stades L2-L3 consomment donc à peu près le même volume de buis. Et plus elles avancent dans leur cycle de développement, plus apparaissent des disparités de consommation et des individualités propres. Toutefois, nous observons une exception avec une forte variabilité des données

concernant la consommation des buis traités par l'huile essentielle F-HE7 par les chenilles de stades L2-L3. Néanmoins, cette variabilité n'est pas due à un éventuel effet de cette huile essentielle sur l'alimentation des chenilles (Effet « traitement » : p-value = 0,159 ;  $\alpha=5\%$ ).

D'après les analyses statistiques réalisées, deux huiles essentielles présentent un effet sur la consommation de buis par les chenilles pyrales du buis. L'huile essentielle B-HE2 a un effet quel que soit le stade larvaire étudié (Effet « traitement » : p-value = 0,015 ;  $\alpha=5\%$  / Effet « interaction traitement x stade larvaire » : p-value = 0,570 ;  $\alpha=5\%$ ), alors que l'huile essentielle J-HE11 présente un effet, particulièrement sur les chenilles de stades L4-L5 (Effet « traitement » : p-value = 0,034 ;  $\alpha=5\%$  / Effet « interaction traitement x stade larvaire » : p-value = 0,005 ;  $\alpha=5\%$ ).

## 2. Mesures réalisées sur les chenilles

L'augmentation du poids des chenilles nous donne également une indication sur la consommation de buis par les chenilles. La figure 7 présente les différences de variations de poids des chenilles, selon le stade larvaire (« Stades L2-L3 » à gauche et « Stades L4-L5 » à droite) et selon le type de traitement (« Témoin » en gris clair et « Traitement » à l'huile essentielle en gris foncé).

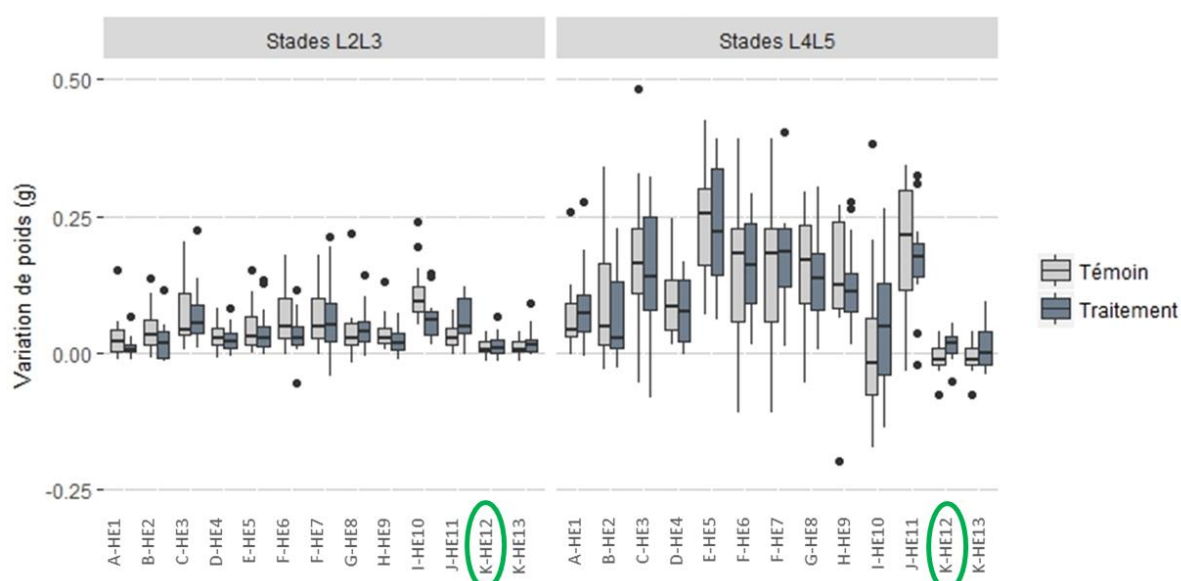


Figure 7 : Graphique présentant les différences de variation de poids des chenilles selon les types de traitement et de stade larvaire entre T=0 et T=48H. Les cercles verts présentent les huiles essentielles ayant un effet sur la consommation des chenilles.

Ainsi, nous observons des faibles variations de poids des chenilles de stades L2-L3 durant les 48 heures d'expérimentations, et des variations plus marquées et disparates pour les chenilles de stades L4-L5. Toutefois, seule l'huile essentielle K-HE12 semble présenter un effet du traitement d'après les analyses statistiques (Effet « traitement » : p-value = 0,033 ;  $\alpha=5\%$  /

Effet « stade larvaire » : p-value = 0,131 ;  $\alpha=5\%$  / Effet « interaction traitement x stade larvaire » : p-value = 0,104 ;  $\alpha=5\%$ ). Or, la variation de poids des chenilles est à peu près équivalente quel que soit le stade larvaire étudié, et nous observons également une très faible variabilité des données, ce qui augmente la sensibilité aux écarts dans les analyses statistiques. Ainsi, ce résultat est à prendre avec précaution.

### 3. Mesures réalisées sur les fèces

Les différences de poids des fèces sont également un indicateur de la consommation de buis par les chenilles. Toutefois, les mesures ont été réalisées seulement pour les chenilles de stades L4-L5. En effet, les mesures réalisées sur les fèces des chenilles L2-L3 n'étaient pas assez précises pour être analysées. La figure 8 présente donc les différences de poids des fèces des lots de chenilles de stades L4-L5 selon le type de traitement.

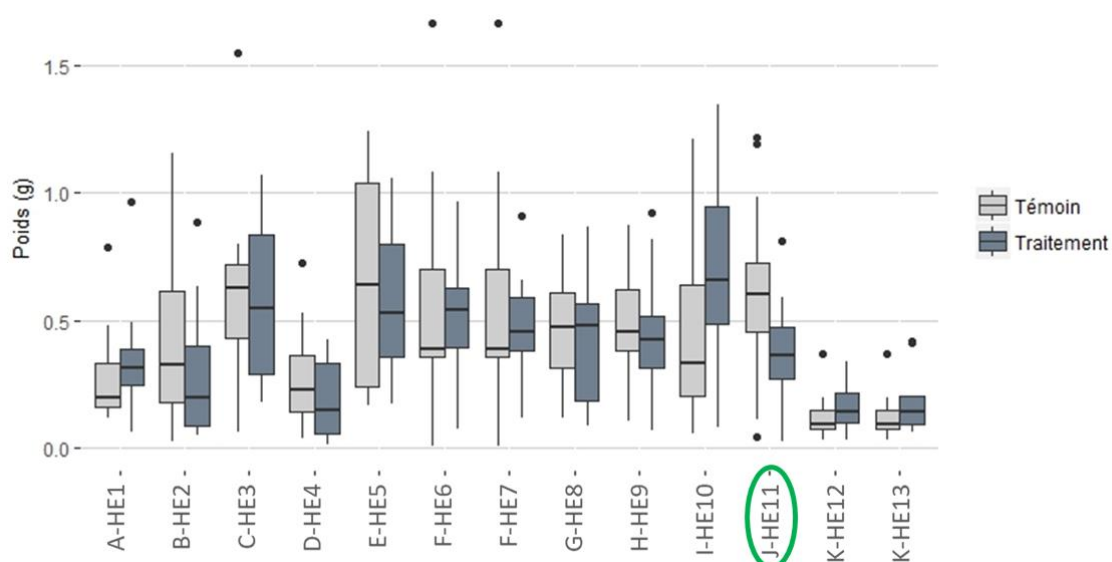


Figure 8 : Graphique présentant les différences de poids des fèces selon le type de traitement. Le cercle vert présente l'huile essentielle ayant un effet sur la consommation des chenilles.

Seule l'huile essentielle J-HE11 présente un effet sur l'alimentation des chenilles avec une différence significative du poids des fèces entre le traitement et le témoin (p-value = 0,014 ;  $\alpha=5\%$ ). Ce résultat rejoint celui concernant les mesures réalisées sur les rameaux, ce qui est très encourageant.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude nous a permis de mettre en évidence l'effet de deux huiles essentielles pouvant limiter la consommation de buis par les chenilles pyrales du buis. Il s'agit des huiles B-HE2 et J-HE11. Les résultats obtenus grâce aux analyses des mesures de poids des chenilles sont à

prendre avec précaution, et c'est pour cette raison que l'effet de l'huile K-HE12 ne sera pas retenu dans cette conclusion.

Il faudra toutefois confirmer ces résultats en 2019 en réitérant les essais pour les huiles essentielles B-HE2 et J-HE11, et en augmentant le nombre de répétitions par modalité, afin d'augmenter la puissance des résultats.

Si l'effet du traitement se confirme pour ces huiles essentielles, il sera intéressant d'identifier les substances actives responsables de cet effet répulsif, afin de les isoler puis de les synthétiser. Le but ultime étant d'élaborer un produit répulsif commercialisable et respectueux de l'environnement contre la pyrale du buis.

En parallèle de ces essais, une étude sera mise en place en 2019, dont le but sera de tester l'effet des huiles essentielles sur le comportement de ponte des femelles pyrales du buis.

# PARTIE II

## ETUDE DE LA CONFUSION SEXUELLE SUR LES PAPILLONS MÂLES



## MATERIEL ET METHODE

### 1. Site de Montfavet (84)

Le site choisi pour mettre en place le dispositif de confusion sexuelle est un jardin privé situé sur la commune de Montfavet (Figure 9). Ce jardin comprend au total 260 mètres de haies de buis assez denses. Le site a été divisé en 3 zones : une zone témoin (T), une zone test avec l'installation des diffuseurs tous les mètres (M1), et une zone test avec l'installation des diffuseurs tous les 5 mètres (M5). Chaque zone a été séparée des autres par une zone tampon (~).



Figure 9 : Site de Montfavet.

12 pièges sentinelles de type Cameratrapp® (avec eau + mouillant) ont été installés sur le site afin de suivre les vols des papillons sur toute la saison, et 14 points de comptage de chenilles ont été balisés afin de suivre l'évolution des populations de pyrales du buis au fil des générations successives, et de vérifier ainsi l'efficacité des dispositifs de confusion sexuelle par rapport à la zone témoin (Figure 10).

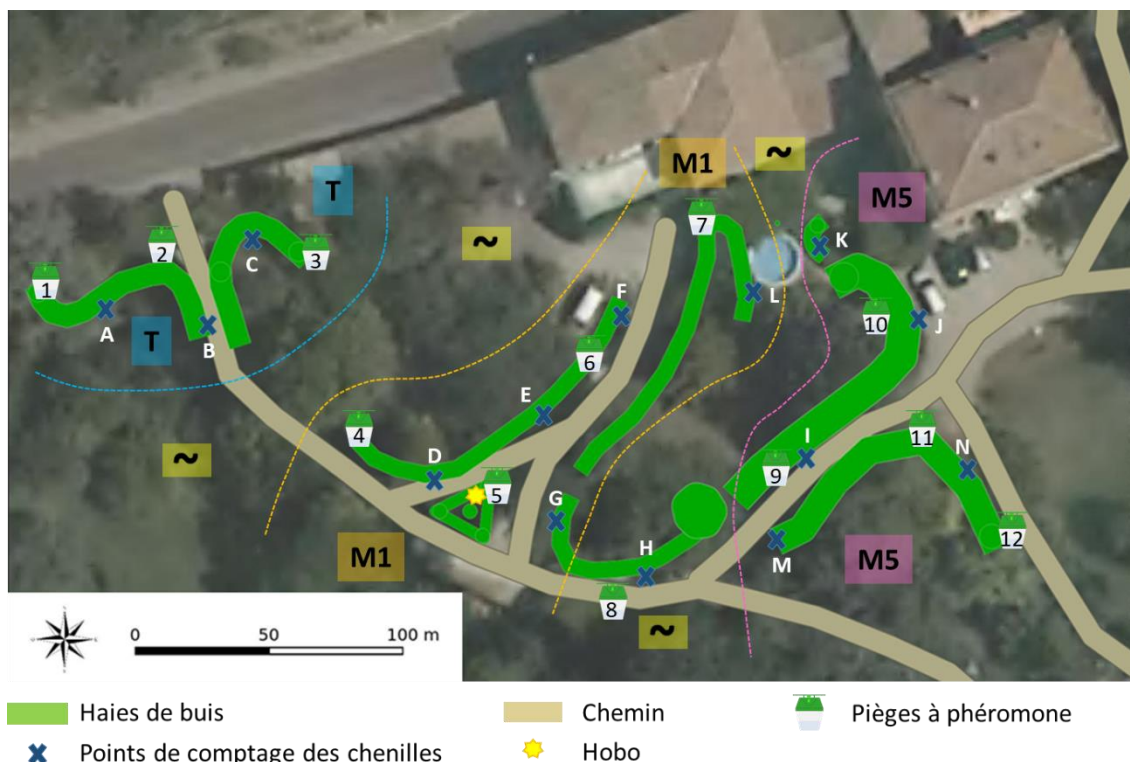


Figure 10 : Dispositif mis en place sur le site de Montfavet, dit « La Préfète ». Zone T : zone témoin ; Zones ~ : zones tampon ; Zone M1 : 1 diffuseur tous les mètres ; Zone M5 : 1 diffuseur tous les 5 mètres.

Les dénombrements de chenilles ont été réalisés le 24 avril 2018, puis avant le second vol des papillons le 10 juillet, et enfin, le 14 novembre pour clôturer la saison. Ils se sont réalisés à l'aide de cadres de 50 cm de côté, fixés sur les buis. Toutes les chenilles et nymphes se trouvant à l'intérieur de ces cadres, à moins de 10 cm de profondeur, sont comptabilisées (Figure 11).

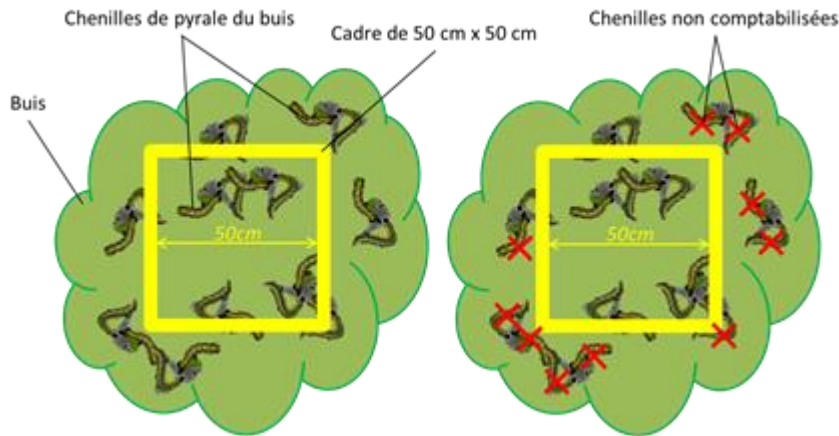


Figure 11 : Protocole de dénombrement des chenilles de pyrale du buis sur le site de Montfavet.

Les diffuseurs de confusion sexuelle ont été mis en place le 23 mai 2018 dans chacune des zones test M1 et M5 (Figure 12). Les pièges sentinelles ont été installés le 23 mai 2018 avec la phéromone Biobest pour le premier vol, puis avec la phéromone GinkoBuxus® à partir du deuxième vol (13 juillet 2018). Ces pièges ont été relevés ensuite toutes les semaines jusqu'à la fin des vols des papillons (30/10/2018). Un Hobo a été installé à proximité du piège n°5, afin de réaliser les mesures de températures et d'humidité sur le site.



Figure 12 : Mise en place d'un diffuseur de confusion sexuelle dans un buis.

## 2. Site de Saint-Mars-du-Désert (44)

Le site choisi pour mettre en place le dispositif de confusion sexuelle est une pépinière située à Saint-Mars-du-Désert, près de Nantes. La mise en place et le suivi du dispositif ont été réalisés par la Fredon Pays de la Loire. Le site possède six rangées juxtaposées de 140 mètres de long, constituées de buis en forme de boules de 40 cm de circonférence.

### i. Premier vol : essai en linéaire

Pour le premier vol des papillons, le dispositif a été installé de façon à tester une modalité par rangée (Figure 13), intercalées par des zones tampons. 15 pièges sentinelles de type Cameratrapp® (avec eau + mouillant) ont été mis en place sur le site, et 15 points de comptage

de chenilles ont été balisés afin de vérifier l'efficacité des dispositifs de confusion sexuelle par rapport à la zone témoin.



Figure 13 : Dispositif mis en place sur le site de Saint-Mars-du-Désert pour le premier vol des papillons. Zone M1 : 1 diffuseur tous les mètres ; Zone M5 : 1 diffuseur tous les 5 mètres.

Les dénombrements de chenilles ont été effectués le 16 mai 2018, puis le 11 juillet, entre le premier vol et de second vol des papillons. Vu la taille des buis, le dénombrement s'est effectué sur l'ensemble des boules de buis (Figure 14).

Les diffuseurs de confusion sexuelle ont été mis en place le 16 mai 2018 également, dans chacune des zones test M1 et M5.

Les pièges sentinelles ont été installés le 16 mai 2018 avec la phéromone Biobest. Ils ont ensuite été relevés toutes les semaines jusqu'à la fin du premier vol des papillons (8 août 2018).



Figure 14 : Dénombrement des chenilles de pyrales du buis.

## ii. Deuxième vol : essai en patch

Pour le second vol des papillons, le dispositif a été modifié de façon à tester les modalités par patch (Figure 15). Les haies ont été divisées en 3 patchs de 30 mètres de largeur, chaque patch étant espacé de 20 mètres de zone tampon afin d'éviter la contamination entre les modalités.

Les pièges à phéromone ont été repositionnés de manière à avoir 4 pièges sentinelles par patch et deux pièges sur chaque zone tampon. Ainsi le nombre total de pièges est de 16 Cameratrap®. Cette modification du protocole a été réalisée le 8 août 2018, et la phéromone Biobest a été retirée au profit de la phéromone GinkoBuxus®.

Le dénombrement des chenilles a été réalisé à la fin du second vol des papillons, le 26 septembre 2018. En effet, il était prévu que le pépiniériste réalise un traitement

microbiologique (Bt) avant de vendre ses buis quelques jours plus tard, excluant ainsi le troisième vol des papillons dans notre étude.

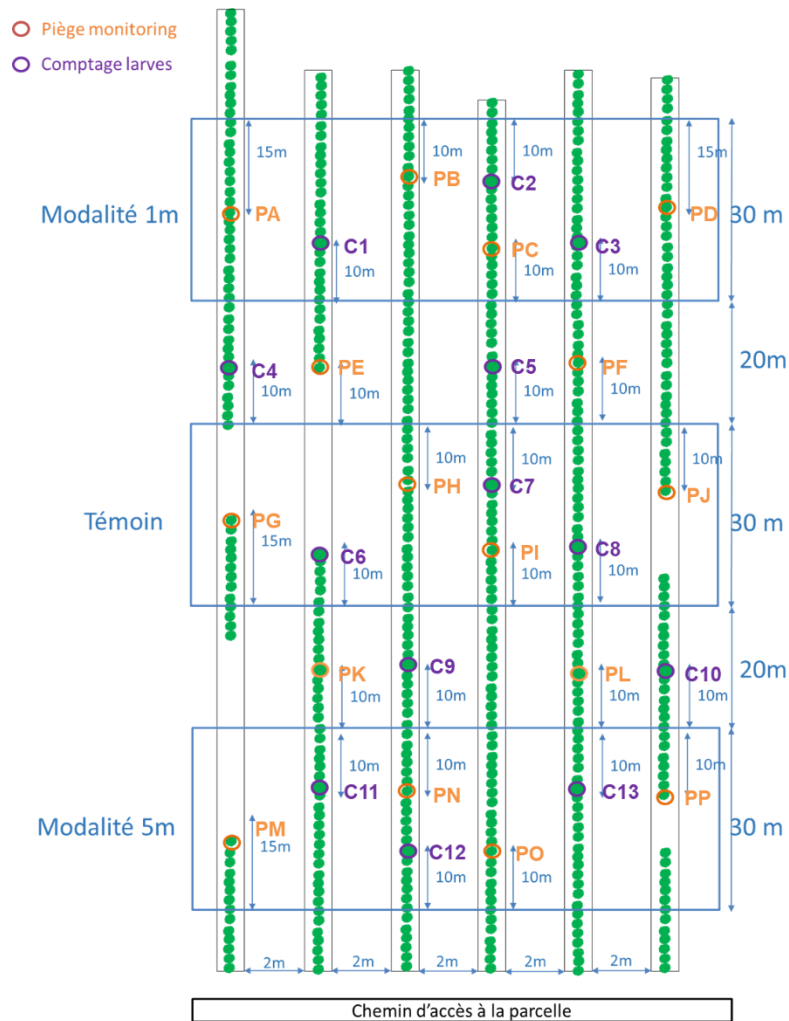


Figure 15 : Dispositif mis en place sur le site de Saint-Mars-du-Désert à partir du second vol des papillons.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Site de Montfavet (84)

La figure 16 présente les trois courbes de vol de la pyrale du buis sur le site de Montfavet (en rouge), correspondant aux trois générations successives de papillons. Malgré la présence des dispositifs de confusion sexuelle, ainsi que la réalisation d'un traitement microbiologique par le propriétaire le 11 juillet 2018, la population de pyrales du buis s'est développée de manière exponentielle tout au long de la saison.



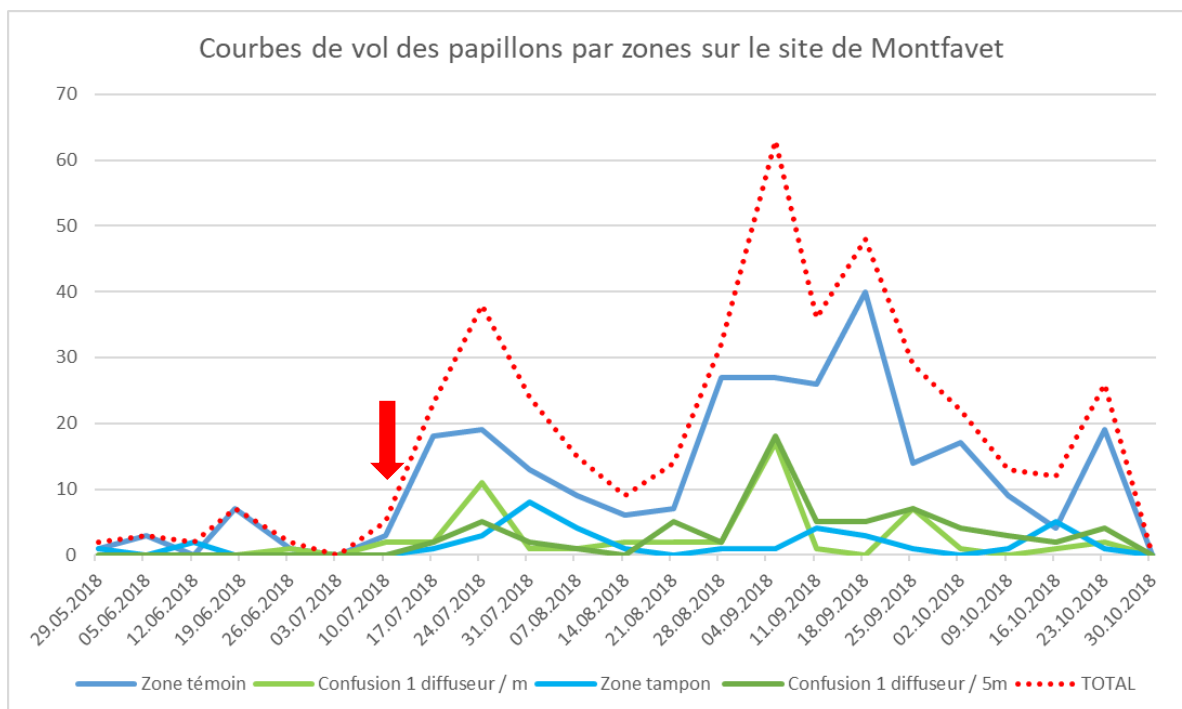


Figure 16 : Relevés des papillons piégés au cours de la saison de vol des papillons à Montfavet. La flèche rouge indique la date où le traitement microbiologique a eu lieu sur le site.

Les pièges sentinelles des zones de confusion sexuelle semblent toutefois avoir moins piégé de papillons que ceux de la zone témoin. La confusion sexuelle a certainement eu un effet sur les papillons mâles, mais cet effet reste insuffisant face au pouvoir invasif de ce ravageur. Ainsi, des femelles de sites voisins ont pu pondre sur les buis de notre site expérimental, et



Figure 17 : Dégâts dus à une réinfestation par la pyrale du buis du site de Montfavet.

engendrer une nouvelle génération de chenilles, les femelles pouvant pondre près de 800 œufs en conditions optimales ( $T=25^{\circ}\text{C}$ ).

Les dégâts observés sur les buis ont d'ailleurs été révélateurs de cette infestation et de la voracité des chenilles, entre le premier et le deuxième vol des papillons (Figure 17). Sous les conseils de l'INRA, le propriétaire du jardin a réalisé un traitement microbiologique afin de préserver ses buis.

Cette infestation se discerne également au regard des résultats de dénombrement des chenilles sur le site (Figure 18). En effet, nous distinguons une forte augmentation du nombre de chenilles sur le site entre le premier et le second vol des papillons, quel que soit la zone, passant de 36 à 179 individus. Puis, malgré le traitement microbiologique du mois de juillet, qui a réduit drastiquement la population, le dernier dénombrement a permis de détecter la présence de 31 individus sur les 14 points de comptage.

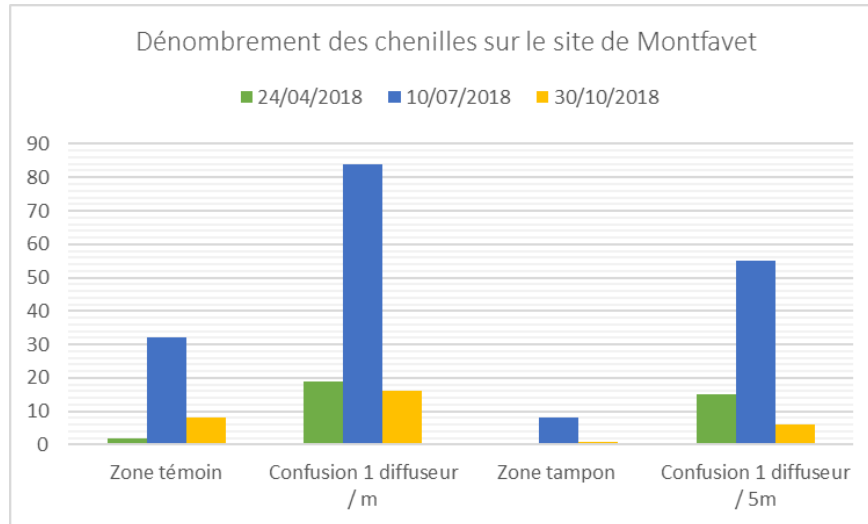


Figure 18 : Dénombrement des chenilles à Montfavet.

## 2. Site de Saint-Mars-du-Désert (44)

Ce premier vol est marqué par un très faible taux de capture des papillons (Figure 19). Ceci peut s'expliquer par une faible infestation du site, ou bien par un défaut de la phéromone utilisée, qui était pourtant la référence la plus performante et la plus stable les années précédentes. Ainsi, cette phéromone a été remplacée et la configuration du dispositif a été modifiée, afin d'augmenter les chances d'obtenir des résultats plus probants pour le deuxième vol. Toutefois, malgré les modifications apportées au protocole, le nombre de captures est resté trop faible pour pouvoir émettre des conclusions significatives quant à l'efficacité des dispositifs de confusion sexuelle sur le site de Saint-Mars-du-Désert.

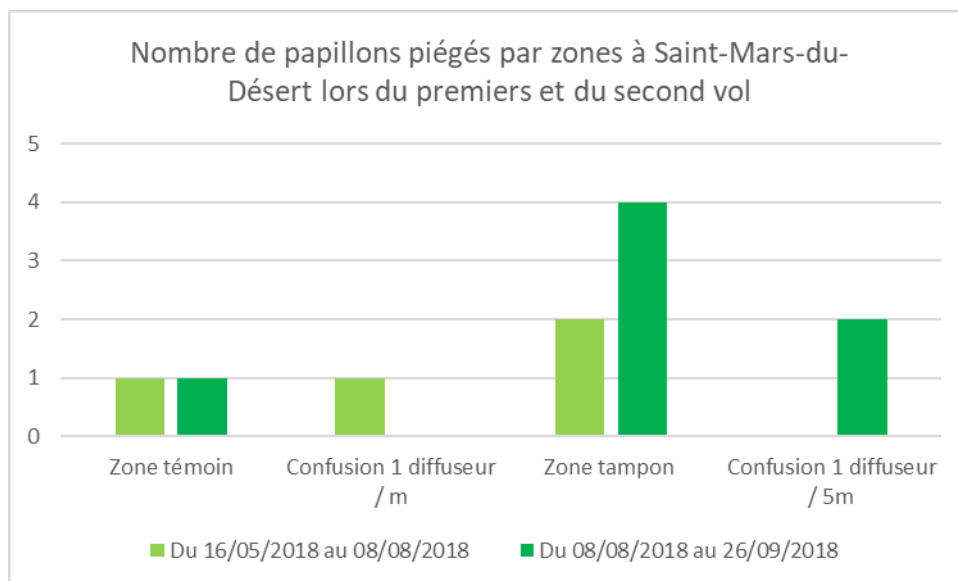


Figure 19 : Relevés des papillons piégés au cours du premier vol (du 16 mai au 8 août 2018) et du second vol des papillons (du 8 août au 26 septembre 2018) à Saint-Mars-du-Désert.

En nous intéressant cette fois-ci au dénombrement des chenilles (Figure 20), nous observons une augmentation de leur nombre sur les différentes zones du site, entre le premier et le second vol des papillons. En conséquence, cela signifie que les dispositifs de confusion sexuelle n'ont pas pu empêcher une infestation du site par la pyrale du buis durant cette période. En effet, des papillons femelles de sites voisins ont pu pondre sur notre site expérimental, engendrant ainsi une nouvelle génération de chenilles susceptibles de réaliser des dégâts sur les buis. Sous les conseils de l'INRA, le propriétaire de la pépinière a effectué un traitement microbiologique (Bt) le 12 juillet. L'absence de chenilles lors du dernier dénombrement effectué le 26 septembre 2018 pourrait être attribuée au traitement qui a été correctement exécuté.

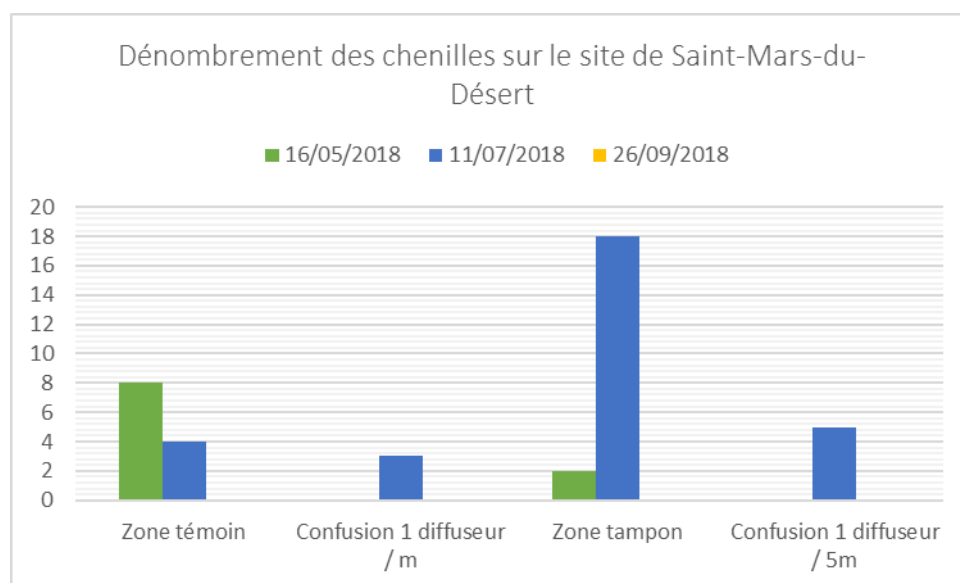


Figure 20 : Dénombrement des chenilles à Saint-Mars-du-Désert.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La confusion sexuelle semble être une technique de lutte assez complexe à mettre en place concernant la pyrale du buis. En effet, la population de cet insecte invasif croît de manière exponentielle au cours d'une année, avec ses deux à trois générations successives. Or, la confusion sexuelle est une technique de lutte nécessitant la présence de populations à faible densité pour être réellement efficace. Dès que la population de pyrales du buis atteint une trop forte densité, la probabilité de rencontre entre un papillon mâle et un papillon femelle augmente, annulant ainsi l'effet escompté.

De plus, cette technique de lutte nécessite une grande surface de traitement, afin d'éviter que des papillons de sites voisins ne réinfestent le site. Or, en JEVI, il est difficile de trouver des sites d'étude de plusieurs hectares, ou bien de coordonner les traitements entre sites voisins.

Ainsi, au regard des réinfestations observées sur les deux sites d'études entre les premiers et seconds vols des papillons, les résultats de confusion sexuelle semblent peu concluants. Dans un contexte de JEVI, où les particuliers, gestionnaires d'espaces verts et pépiniéristes ont l'impératif de conserver les buis sans ou avec de très faibles dégâts, l'utilisation du traitement microbiologique *Bacillus thuringiensis* reste encore privilégiée.

En conclusion, cette technique de lutte ne semble pas adaptée à la pyrale du buis en JEVI.



# PARTIE III

## TEST D'EFFICACITE DE TROIS DIFFUSEURS DE PHEROMONE

## MATERIEL ET METHODE

Cette étude a pour but de tester l'efficacité de 3 types de phéromones de synthèse, en terme de piégeage des papillons mâles de pyrales du buis.

Le site d'étude se trouve à Blauvac (84), au sein de l'Abbaye Notre-Dame de Bon Secours. Il présente des haies de buis fortement attaquées par la pyrale du buis, ainsi que des buis sauvages situés en hauteur.



Figure 21 : Notre-Dame de Bon Secours, Blauvac.

Les trois diffuseurs testés sont présentés dans la figure 22 :

	Diffuseurs testés	Pièges utilisés	Nombre
1	GinkoBuxus®	Cameratrap®	15
2	CpeX213	Cameratrap®	15
3	CpeX214	Cameratrap®	15

Figure 22 : Les différentes modalités testées à Blauvac.

Ainsi, le dispositif a été mis en place le 29 mai 2018, et a nécessité la pose de 45 pièges à phéromone de type Cameratrap® (avec eau + mouillant), les trois modalités étant testées avec 15 répétitions pour chacune. Les trois diffuseurs testés contiennent la même quantité de phéromone, seule la longueur de la languette change (Figure 23). Les pièges ont été espacés d'environ 4 à 5 mètres, et ont été relevés ensuite chaque semaine jusqu'à la fin des vols des papillons (05/11/2018). Le dispositif est présenté en Annexe 3.



Figure 23 : Photo des diffuseurs testés.

## RESULTATS ET DISCUSSION

La figure 24 présente les trois courbes de vol des papillons de pyrales du buis sur le site expérimental, correspondant aux trois générations successives. Ainsi, un premier pic de vol a été observé le 25 juin avec 237 papillons piégés sur la totalité des 45 pièges, puis un deuxième pic de vol le 14 août (1904 papillons), et enfin le dernier pic a été relevé le 1<sup>er</sup> octobre (3205 papillons).

La douceur de l'automne a permis de piéger des papillons jusqu'à la fin du mois d'octobre, alors qu'en 2017, les derniers papillons avaient été observés jusqu'à fin septembre sur le même site d'étude. Ainsi, les conditions climatiques clémentes favorisent le cycle de vie de la

pyrale du buis, qui s'étend jusqu'aux premiers froids où se déclenche le signal de la mise en diapause hivernale des jeunes larves.

Nous observons également un chevauchement des courbes de vol des papillons piégés pour les trois modalités de diffuseurs testées. Etant donné que les trois diffuseurs présentent la même quantité et la même qualité de phéromone, cette observation est cohérente. Le test ANOVA confirme cette tendance avec une p-value = 0,4826 ( $\alpha=5\%$ ) [Shapiro-Wilk: p-value = 0,0679 ;  $\alpha=5\%$  / Bartlett : p-value = 0,3053 ;  $\alpha=5\%$ ].

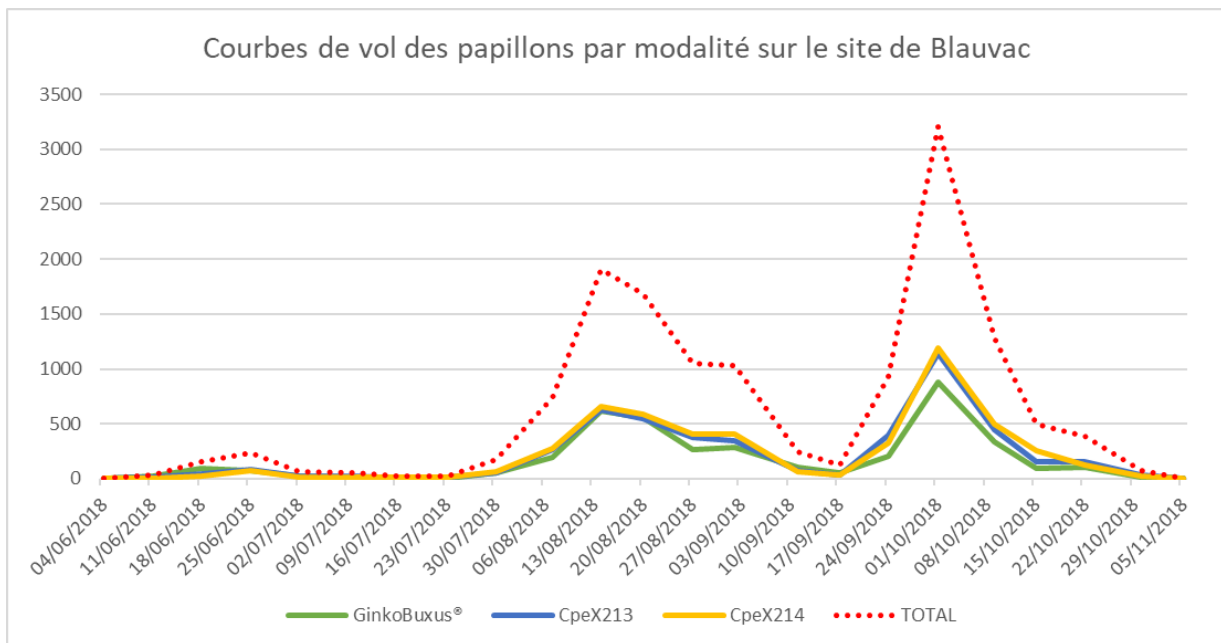


Figure 24 : Relevés des papillons piégés au cours de la saison de vol des papillons à Blauvac.

## CONCLUSION

Les résultats obtenus au cours de cette étude permettent de conclure que la longueur de la languette des diffuseurs ne modifie en rien le comportement de relargage de la phéromone, ni l'efficacité d'attraction des papillons mâles.

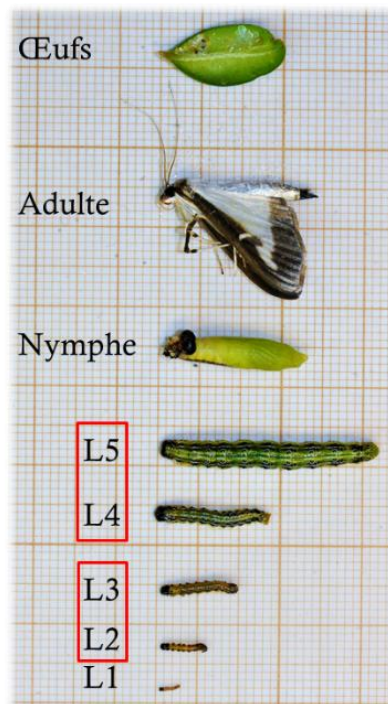
# ANNEXES

**ANNEXE 1** : Les différents stades de développement de la pyrale du buis, *Cydalima perspectalis*.

**ANNEXE 2** : Exemple de boîtes d'élevage utilisées au cours de l'étude.

**ANNEXE 3** : Cartographie du dispositif mis en place à Blauvac.

**ANNEXE 1** : Les différents stades de développement de la pyrale du buis, *Cydalima perspectalis*.



**ANNEXE 2** : Exemple de boîtes d'élevage utilisées au cours de l'étude.

Dès réception, les chenilles sont mises en élevage avec du feuillage frais, les rameaux étant piqués dans un pain d'oasis bien humidifié. Un film alimentaire étirable aura été placé au préalable dans la boîte d'élevage afin que les chenilles ne se retrouvent pas en contact direct avec l'eau stagnante du fond. Les couvercles sont percés et grillagés, laissant l'air circuler dans les boîtes.





**ANNEXE 3 : Cartographie du dispositif mis en place à Blauvac.**



**DISPOSITIF DE COMPARAISON DE DIFFUSEURS DE PHÉROMONE CONTRE LA PYRALE DU BUIS (*Cydalima perspectalis*) - 2018**  
**Abbaye Notre-Dame de Bon Secours, Blauvac (84)**



# BIBLIOGRAPHIE

- [1] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. & Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils - a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.
- [2] Batish D.R., Singh H.P., Kohli R.K. & Kaur S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256(12), 2166-2174.
- [3] Boutte B. (2018). Suivi et impact de la Pyrale du buis en forêt. *Colloque scientifique sur les bioagresseurs du buis*, Tours, 16 et 17 octobre 2018.
- [4] Boutte B. & Baubet O. (2018). Utilisation des Trichogrammes dans la régulation des populations invasives de la pyrale du buis en forêt. *Colloque scientifique sur les bioagresseurs du buis*, Tours, 16 et 17 octobre 2018.
- [5] Defferier T., Venard M., Colombel E. & Tabone E. (2018). Techniques d'élevage de la pyrale du buis. *Colloque scientifique sur les bioagresseurs du buis*, Tours, 16 et 17 octobre 2018.
- [6] Di Domenico F., Lucchese F. & Magri D. (2012). *Buxus* in Europe: Late Quaternary dynamics and modern vulnerability. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 14(5), 354-362.
- [7] Feldtrauer J.-F., Feldtrauer J.-J. & Brua C. (2009). Premiers signalements en France de la Pyrale du Buis *Diaphania perspectalis* (Walker, 1859), espèce exotique envahissante s'attaquant aux Buis (Lepidoptera, Crambidae). *Bulletin de la Société Entomologique de Mulhouse*, 65(4), 55-58.
- [8] Göttig S. & Herz A. (2017). Repellent and toxic properties of plant oils and extract on *Cydalima perspectalis* Walker (Lepidoptera: Crambidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 50(13-14), 658-673.
- [9] Guérin M. (2015). Synthèse 2014 : Programme SaveBuxus – Volet « Pyrale du buis ». *Plante&Cité, Angers*, 4p.
- [10] Guérin M. (2016). Synthèse 2015 : Programme SaveBuxus – volet « pyrale ». *Plante&Cité, Angers*, 8p.
- [11] Guérin M. (2017). Synthèse 2016 : Programme SaveBuxus – volet « pyrale ». *Plante&Cité, Angers*, 4p.
- [12] Guérin M. (2018). Synthèse 2017 : Programme SaveBuxus – Volet Pyrale. *Plante&Cité, Angers*, 4p.
- [13] Ibrahim M.A. (2001). Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. *Agricultural and Food Science in Finland*, 10(3), 243-259.

- [14] Ilboudo Z., Dabiré L.C.B., Nébié R.C.H., Dicko I.O., Dugravot S., Cortesero A.M. & Sanon A. (2010). Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 46(2): 124-28.
- [15] Isman M.B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop protection*, 19, 603-608.
- [16] Kenis M. (2018). Impact de la pyrale du buis en Europe et potentiel de la lutte biologique par l'introduction de parasitoïdes. *Colloque scientifique sur les bioagresseurs du buis*, Tours, 16 et 17 octobre 2018.
- [17] Koul O., Walia S. & Dhaliwal G.S. (2008). Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopestic Int*, 4(1), 63–84.
- [18] Leuthardt F.L.G., Glauser G. & Baur B. (2013). Composition of alkaloids in different box tree varieties and their uptake by the box tree moth *Cydalima perspectalis*. *Chemoecology*, 23(4), 203-212.
- [19] Liu Z.L. & Ho S.H. (1999). Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook F. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*, 35, 317-328.
- [20] Masatoshi H. (1999). Antifeeding, settling inhibitory and toxic activities of labiate essential oils against the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Applied Entomology and Zoology*, 31(1), 113–118.
- [21] Molnar B.P., Toth Z. & Karpati Z. (2017). Synthetic blend of larval frass volatiles repel oviposition in the invasive box tree moth, *Cydalima perspectalis*. *Journal of Pest Science*, 90, 873-885.
- [22] Nacambo S., Leuthardt F.L.G., Wan H., Li H., Haye T., Baur B., Weiss R.M. & Kenis M. (2014). Development characteristics of the box-tree moth *Cydalima perspectalis* and its potential distribution in Europe. *Journal of Applied Entomology*, 138(1-2), 14-26.
- [23] Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes (OEPP): <http://www.eppo.org/>
- [24] Regnault-Roger C., Vincent C. & Arnason J.T. (2012). Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*, 57, 405-424.
- [25] Regnault-Roger C. (2017). Les allomones végétales, facteurs de coévolution. *PHYTOMA*, 708, 8-10.
- [26] Regnault-Roger C. (2017). Les allomones végétales, quel rôle dans le biocontrôle? *PHYTOMA*, 709, 11-14.



- [27] Reisenman C.E., Riffell J.A., Duffy K., Pesque A., Mikles D. & Goodwin B. (2013). Species-specific effects of herbivory on the oviposition behavior of the moth *Manduca Sexta*. *Journal of Chemical Ecology*, 39(1), 76-89.
- [28] Shaaya E., Kostjukovski M., Eilberg J. & Sukprakarn C. (1997). Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 33(1), 7-15.
- [29] Tongnuanchan P. & Benjakul S. (2014). Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 79(7), R1231-R1249.
- [30] van der Straten M. & Muus T.S.T. (2010). The box tree pyralid, *Glyphodes perspectalis* (Lepidoptera: Crambidae), an invasive alien moth ruining box trees. *Proceedings of the Netherlands Entomological Society*, 21, 107-111.
- [31] Wan H., Haye T., Kenis M., Nacambo S., Xu H., Zhang F. & Li H. (2014). Biology and natural enemies of *Cydalima perspectalis* in Asia: Is there biological control potential in Europe? *Journal of Applied Entomology*, 138(10), 715-722.
- [32] Yazdani E., Sendi J.J., Hajizadeh J. (2014). Effects of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54(1), 53-61.