

A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle
PSPE2
Rapport Optim'Phero



1 -FICHE PROJET OPTIM'PHERO

Nom du projet : OPTIM'PHERO

<u>Titre du projet</u>: Optimiser les Phéromones et Transposer les résultats obtenus sur la processionnaire

du pin à d'autres Insectes Modèles, lépidoptères ravageurs des Zones Non Agricoles.

Solutions innovantes de biocontrôle pour d'autres lépidoptères.

Année de démarrage : 2015

Année de fin: 2018

Responsable scientifique : Jean-Claude MARTIN
Partenaires : INRA, FREDON PACA et M2I Life sciences

Financements: 98393€

Mot clés: Biocontrôle, Ecophyto, JEVI, confusion sexuelle, PBI

En quelques mots: 700 caractères espaces compris

Mise au point de modes d'application originaux de la confusion sexuelle.

La voie a été ouverte par la mise au point de nouvelles formulations de phéromone microencapsulée et déposable sur les végétaux sous forme de gel biodégradable. Cette technique brevetée par la firme M2i Life Sciences a permis à l'INRA et à ses partenaires de développer Pheroball Pin : des billes chargées de phéromone propulsées en hauteur dans les arbres à l'aide du lanceur Paintball pour lutter contre la processionnaire du pin. Ce nouveau mode d'application est innovant et facile d'utilisation pour réguler cette chenille urticante mais nécessite une bonne répartition et un nombre de billes défini pour chaque configuration végétale. Un autre mode de dépôt a été testé sur la pyrale du buis, un invasif destructeur de buis patrimoniaux avec la phéromone gel Box T Pro. La dose efficace doit être optimisée.

Contexte et objectifs : 1150 caractères espaces compris

Le projet OPTIM'PHERO a été conçu à partir du constat de carence dans les stratégies de lutte alternative contre plusieurs lépidoptères ravageurs des JEVI. Quatre équipes ont associé leurs forces résultant de compétences pluridisciplinaires allant de la chimie fine avec des brevets novateurs, à l'entomologie appliquée. Ce projet a pour objectif de proposer des solutions de biocontrôle innovantes pour 3 ravageurs, les processionnaires du pin et du chêne et la pyrale du buis qui constituent des menaces majeures. OPTIM'PHERO a pour vocation d'élargir la gamme de produit du biocontrôle avec la technologie nouvelle développée par le partenaire français M2i Life Sciences permettant un relargage contrôlé des substances phéromonales et des modes d'applications de la confusion sexuelle, innovants, adaptés à la configuration végétale. Le support biodégradable de la phéromone (sans diffuseur, ni démontage des dispositifs), permet de réduire les coûts tout en optimisant leur efficacité



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



grâce à des modes d'application les mieux adaptés à chaque insecte et situation. Plusieurs modes d'application originaux ont été testés sur de grandes surfaces comme la mise au point de billes de paintball chargées de phéromone microencapsulée ou le dépôt de gel phéromonal sur le végétal.

<u>Principaux résultats et intérêts en lien avec le plan Écophyto :</u> 3500 caractères espaces compris Trois années d'expérimentation et d'optimisation de Pheroball Pin, produit issus du projet ont permis de montrer une réduction en confusion sexuelle des populations de processionnaire du pin entre 29% et 74% en fonction de la dose testée. L'étude a été conduite en zone forestière comme en zone urbaine.

D'autres tests de dépôts ciblés de gel phéromonal biodégradable ont été conduits aussi sur processionnaire du pin et sur pyrale du buis comme stratégie de lutte par confusion sexuelle. Pour la processionnaire du pin, les résultats sont encourageants avec plus de 87% de réduction de la descendance avec le gel phéromonal déposé dans les houppiers. Pour la pyrale du buis, une réduction de 25% par rapport au témoin, bien que significative ne permet pas de réduire les dégâts sur le feuillage. Le dosage efficace reste encore à optimiser. Sur la processionnaire du chêne, la complexité de la synthèse de la phéromone a été pour ces 3 saisons de test un réel blocage technique.

Les études en laboratoire se poursuivent afin d'optimiser les formulations en particulier sur la processionnaire du chêne pour laquelle, le projet Optim'Phero n'a pas apporté de nouveautés sur cette espèces.

Néanmoins l'exemple de la processionnaire du pin permet de conclure que le projet OPTIM'PHERO ouvrent des perspectives pour servir d'exemples à d'autres lépidoptères ravageurs des ZNA et pourquoi pas, des zones agricole grâces à un mode de dépôt innovant de la phéromone.

Enfin et surtout, ce programme a joué son role en faveur du développement de solutions commerciales de Biocontrole car les solutions de confusion en pin puis en buis ont obtenue des AMM dérogatoires en 2017 et 2018 permettant leur commercialisation.

Limites d'utilisation et contraintes de Pheroball Pin

Cette étude permet aussi de montrer les limites de cette stratégie de lutte :

- (i) L'efficacité aux doses testées en 2017, entre 300 et 400 billes par hectare sur grandes surfaces forestière (4ha) correspond à une réduction moyenne comprise entre 29 et 36% alors que les tests ont été conduits sur faible population de processionnaire du pin, situation la plus favorable à une lutte par confusion sexuelle.
- (ii) En termes de **temps de dépose des billes** (6 à 8 hectares par jour à 2 personnes) et de nettoyage fréquent du lanceur. En forêt, le parcours précis en suivant le maillage de 10x10 m pour disposer les billes demande beaucoup de temps et augmente ainsi le prix de revient de cette stratégie de lutte. Néanmoins son coût et sa praticité demeurent attractifs par rapport au piegeage ou au BT.
- (iii) En termes de **coût** : Phero ball Pin nécessiterait d'autres expérimentations afin d'évaluer l'efficacité à des doses supérieures.

<u>Lien avec le plan Ecophyto :</u>

Le développement d'autres stratégies en alternative au traitement afin de réguler les processionnaires du pin, du chêne et la pyrale du buis permettra à terme de réduire significativement l'usage des



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



pesticides tout en protégeant végétal et personnes. En alternative aux traitements aériens interdits, d'autres modes de traitement contre la processionnaire du pin sont utilisés à partir du sol, comme les turbines sur pick-up ou les lances. Ces dernières étant utilisés pour propulser en hauteur, ne sont pas écologiques en termes de retombés importantes et d'intrants.

Le dépôt ciblé de la phéromone microencapsulée répond à une forte demande pour de nombreux ravageurs inféodés aux arbres (Pheroball) mais aussi avec des méthodes manuelles sur végétal de la strate arbustive (gel phéromonal microencapsulé).

Perspective de transfert : 700 caractères espaces compris

L'UEFM et ses partenaires institutionnels organisent des journées techniques afin de former les gestionnaires aux nouvelles techniques de gestion alternative des ravageurs. L'UEFM et la FREDON participent à la conférence sur le buis AFPP (2 communications en liens avec le projet). L'UEFM va poursuivre le développement de l'application smartphone AGIIR (Alerter et Gérer les Insectes Invasifs et/ou Ravageurs) comme outil d'aide à la gestion entres autres, des 3 insectes cibles du projet. Cette application disponible sous Android et sous los est téléchargeable gratuitement. La diffusion du guide technique et sa mise à jour en temps réel va se poursuivre. Les 2 ingénieurs de recherche de l'UEFM contribuent à l'enseignement universitaire en donnant des cours (Agrocampus Angers, Facultés de Marseille...).

Perspective de recherche:

Phéroball Pin et dose en forêt: Les résultats de Pheroball Pin en terme d''efficacité pouvant être variable, des concentrations plus importantes pourraient être testées comme par exemple 500 billes par hectare afin d'en améliorer l'efficacité.

Gel phéromonal et efficacité : L'expérimentation du gel phéromonal disposé en plot sur le houppier a obtenu plus de 87% de réduction des populations. Ayant été conduite sur un seul essai dose, elle mériterait aussi d'être renouvelée afin de valider ou non ce résultat.

Pheroball Pin, usage sur petits bosquets urbains: Les tests en zone urbaine à 30 billes par pin montrent un résultat significatif avec une réduction de 58 % (+/-21%) des populations. D'autres essais devraient être conduits.

Poursuivre la recherche sur la phéromone processionnaire du chêne : analyse et la synthèse (blocage actuel).



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



Publications scientifiques et autres valorisations du projet :

- Brinquin A.S. et Martin J.C., 2017 : Les clés pour lutter contre la processionnaire du pin. https://www6.paca.inra.fr/entomologie_foret_med/Insectes-ravageurs-et-protection-durable/Aidea-la-decision
 - E. Pal, M. Corréard, F. Rei, J. Thévenet, S. Lantus, E. Pezzini, M. Buradino, A-S Brinquin et J.C. MARTIN (2018). Processionnaire du pin : un traitement bille en tête. Phytoma 715, 28-32.
 - E. Pal, M. Correard, M. Buradino, E.Morel, S. Touzeau, J.Thévenet, D. Vauthier, O.Gilg et J.C. Martin (2017). Processionnaire du pin : le piégeage se perfectionne. Phytoma 709, 27-29.
 - J.-C. Martin, M. Buradino, A.-S. Brinquin, M. Correard, J. Thévenet, D. Vauthier, E. Morel, A. Gilli, M. Vénard & E. Tabone (2018). Réguler la pyrale du buis *Cydalima perspectalis*: limites d'utilisation de la phéromone sexuelle de synthèse. Végéphyl Colloque sur les bioagresseurs du buis Tours 16 & 17 octobre 2018 (sous presse).

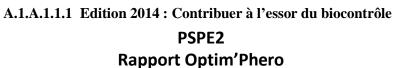


PHEROBALL PIN : bille chargée de phéromone microencapsulée déposable par lanceur Painball pour lutter contre la processionnaire du pin



Tir de billes de Phéroball Pin en zone urbaine (Avignon 2017)







2- RAPPORT TECHNIQUE DU PROJET OPTIM'PHERO

IDENTIFICATION

Acronyme du projet	Optim'Phéro		
Titre du projet	Optimiser les Phéromones et Transposer les résultats obtenus		
	sur la processionnaire du pin à d'autres Insectes Modèles,		
	lépidoptères ravageurs des Zones Non Agricoles.		
	Solutions innovantes de biocontrôle pour d'autres		
	lépidoptères.		
Coordinateur du proj	Unité Expérimentale Entomologie et Forêt Méditerranéenne /		
(société/organisme)	INRA		
Période du projet	Juillet 2015-juillet 2018		
(date de début – date de fin)	Convention ONEMA 31/7/2015		
	CA Plan national Axe 3 en date du 21/11/2014		
Site web du projet, le cas échéant			

Rédacteur de ce rapport	
Civilité, prénom, nom	Jean-Claude MARTIN
Téléphone	0432722911
Adresse électronique	Jean-claude.martin@inra.fr
Date de rédaction	Août 2018

Liste des partenaires présents à la fin du	Partenaire 1 et porteur du projet INRA UEFM : Unité				
projet (société/organisme et responsable expérimentale Entomologie et Forêt Méditerranéenne UE034					
scientifique)	Domaine Saint Paul Site agroparc 84914 AVIGNON Cedex.				
	Partenaire 2 INRA-UEFL: Unité Expérimentale				
	Forestière Lorraine UE1260 Centre INRA Nancy-Lorraine 54280				
	CHAMPENOUX.				
	Partenaire 3 FREDON-PACA: Quartier Cantarel – BP				
	162, Chemin de la Castelette, 84147 MONTFAVET Cedex				
	(siège social) et Antenne du Var, 224 rue des Découvertes,				
	83390 CUERS (suivi technique)				
	Partenaire 4 M2i Lifesciences: 1 rue Royale – 112				
	Bureaux de la colline 92 213 SAINT CLOUD Cedex				



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle
PSPE2
Rapport Optim'Phero



RAPPORT TECHNIQUE

Le projet a été structuré en groupes de travail (workpackages WP1 à WP5) et tâches. Le rapport technique sera donc présenté en reprenant cette restructuration.

Rappel des tâches et WP

WP1: Optimisation et production sémiochimique

Le WP1 a été principalement piloté et réalisé par le partenaire M2I. Il s'agit de tâches de laboratoire structurées de la façon suivante :

- -Synthèse des phéromones basée sur l'expertise du partenaire 4 dans la fabrication industrielle de sémiochimiques pour chacune des 3 espèces du projet.
- -Mise au point de la micro-encapsulation des phéromones pour chaque espèce.
- Etude de leurs relargages grâce à une technologie propriétaire exclusive de microencapsulation des substances phéromonales permettant de faire des modes de dépôt adaptés (pourront varier suivant les insectes cibles, les supports végétaux...)
- Formulation des phéromones micro-encapsulées selon le mode d'application retenu par espèce.

WP2 : Solutions de biocontrôle

Le WP2 a eu la charge d'expérimenter in situ les technologies proposées par le WP1 et de les adapter aux insectes cibles, afin d'en évaluer l'impact sur la réduction des populations pour les 3 espèces en comparaison avec des témoins non « traités ». Les résultats d'efficacité seront validés par des répétitions et la méthodologie sera réajustée en fonction des résultats obtenus.

Les expérimentations du WP2 ont été faites sur le terrain dans des conditions opérationnelles et avec des méthodes et moyens pouvant à terme (après homologation), être mis en œuvre par les gestionnaires. Les sites seront sélectionnés pour chaque insecte cible suivant plusieurs critères :

- niveau de population de l'insecte cible
- accord et engagement du gestionnaire du site pour confier la gestion à titre expérimental à l'INRA (UEFM, UEFL) et ou FREDON PACA.
- possibilité d'intégrer une zone témoin (non « traitée » confusion sexuelle, ni autre gestion) à proximité du site.

WP3: Valeur d'exemple

Le WP3 s'est appuyé sur les résultats obtenus par les WP1 et WP2 comme valeur d'exemples pour réguler d'autres lépidoptères ravageurs des ZNA. Les ravageurs des Zones Agricoles n'ont pas été étudiées dans le projet OPTIM'PHERO comme convenu, néanmoins le projet a aussi une valeur d'exemples pour ces espèces de lépidoptères.

Méthodes:



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



- analyse bibliographique des besoins en termes de stratégies de régulation alternatives de lépidoptères des ZNA par espèce : importance du dégât, nécessité de lutte, moyens actuellement utilisés, solutions alternatives.
- étude des phéromones disponibles et des possibilités d'optimisation par la méthode développée dans le projet.
- étude par espèce, des modalités de dépôt de la phéromone pour la régulation par confusion sexuelle.
- Proposition d'une stratégie adaptée de transferts vers d'autres espèces cibles.

WP4: Actions de transfert, valorisation

Le projet OPTIM'PHERO intègre les actions de transfert et la valorisation dans le WP dédié à ces actions : le WP4. C'est un WP important dans le projet et son objectif est de veiller au succès du transfert des résultats vers tous les utilisateurs potentiels nationaux et internationaux en utilisant les moyens et les réseaux les plus adaptés :

- publication dans des revues du biocontrôle et de la PBI
- formation lors de Journées Techniques
- formation des encadrants
- publications en ligne
- applications disponibles sur Smartphone (Android et IOS)
- guide technique
- brevets

Transfert des résultats par des publications dans des revues techniques, des Journées Techniques, par la réactualisation du site internet Ephytia. Production de l'application Smartphone d'aide à la décision pyrale du buis et processionnaire du chêne /AGIIR (Alerter et Gérer les Insectes Invasifs et/ou Ravageurs).

Guide technique du biocontrôle de ces espèces, publications http://www.ecophytozna-pro.fr/

Valeur d'exemple : Carnet de route pour poursuivre ce transfert de technologies vers d'autres lépidoptères ravageurs des Zones Non Agricoles.

Pérennisation de nouvelles activités industrielles à la fois dans la chimie et dans la fabrication des objets pour l'application.

A - WP1: OPTIMISATION ET PRODUCTION SEMIO-CHIMIQUE:

A.1 TACHES 1 A 3 (M2I LIFE SCIENCE) - SYNTHESE DES PHEROMONES ET MISE AU POINT DE LA MICRO-ENCAPSULATION DES PHEROMONES CONCERNEES PAR LE PROJET ET FORMULATION SELON LE MODE D'APPLICATION RETENU

M2i a développé une nouvelle voie de synthèse originale qui permet de :

• Avoir un procédé plus efficace : 5 étapes de synthèse à partir du dodecynol.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



- Une synthèse industrialisable.
- Une approche qui permet d'avoir une pureté isomérique > 99% et donc une phéromone beaucoup plus pure que celle obtenue avec les voies de synthèse existantes.

M2I a mis au point une formulation phéromonale microencapsulée biodégradable pour chacun des 3 insectes cibles. Celles-ci ont ensuite été testées pour validation de leurs attractivités (monitoring) en essai champs (forêts et autre JEVI) par l'INRA et la FREDON PACA.

Fort des résultats rapides pour la processionnaire du pin, nous avons pu travailler au développement d'une formulation qui soit incorporable dans des billes de Paintball. L'objectif étant d'utiliser la bille de paintball pour déposer la formulation à base de phéromone dans la canopée des pins.

La mise au point pour la fabrication de bille oxodégradable contenant la formulation phéromonale a été effectuée à l'échelle laboratoire.

Nous avons pu ainsi réaliser la fabrication de prototypes afin de réaliser les essais champs qui ont démontré que la pose de diffuseur via un pistolet Paintball permettait d'observer un effet confusion. Une autre technique de dépôt de la phéromone de la processionnaire du pin a été testée, avec un dépôt de phéromone semi-gel sur les houppiers des pins.

Pour la pyrale du buis, une formulation en gel déposable sur les tiges de buis a été mise au point. Pour la processionnaire du chêne, les difficultés techniques de synthèse de la phéromone n'ont pas permis d'obtenir une phéromone avec de réelles capacités d'attraction des adultes.

A.2 TACHE 4 (M2I LIFE SCIENCE) – PRODUCTION MASSIVE DE LA PHEROMONE ET DES MODES D'APPLICATION ADAPTES A CHAQUE ESPECE ETUDIEES DANS LE PROJET

Incertitudes et difficultés techniques et scientifiques à surmonter, verrous technologiques à lever : La société Sphericall en partenariat avec M2I, a développé une nouvelle machine industrielle pour la fabrication de billes oxo-biodégradables qui sont compatibles avec nos formulations.

Le développement de la formulation au cours de divers essais pilotes a révélé plusieurs contraintes techniques :

- Viscoélasticité de la formulation :
 - Une formulation trop liquide ou trop visqueuse ne permet pas la fabrication des billes.
 - Caractère collant de la formulation : les premières formulations, bien que de viscosité satisfaisante, ont montré un caractère collant qui a empêché le nettoyage automatisé de la machine à bille. Nous avons mis au point un test de nettoyage et avons ainsi pu ajuster la formulation pour avoir un nettoyage performant et fabriquer en continu.
- Stabilisant de la formulation : le stabilisant initial s'altère au cours de la fabrication des billes avec un changement de coloration. Nous avons donc changé le stabilisant initialement mis dans la formulation. Une fois la formulation développée nous avons pu fabriquer 80 000 billes selon le cahier des charges défini.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



Un test d'éclatement des billes a été mis au point et a permis de confirmer que le transfert de la formulation sur un support était satisfaisant

Le procédé est donc industrialisé et servira aux futures productions de billes de paintball

A.3 TACHE 5 (M2I LIFE SCIENCE ET UEFM) – BREVET ET DOSSIER D'HOMOLOGATION DES MODES D'APPLICATION ET DIFFUSEURS

La firme M2I Lifesciences a déposé 2 demandes d'autorisations provisoires de mise sur le marché au niveau des professionnels pour la phéromone déposé par paintball (billes de Pheroball pin) en confusion sexuelle contre la processionnaire du pin. Les 2 demandes ont été accordées au cours des étés 2017 et 2018 par les services de l'état.

Une autorisation provisoire de mise sur le marché a aussi été accordée pour la technologie Box T Pro (pyrale du buis) en confusion sexuelle pour la saison 2018.

Les autorisations définitives de mise sur le marché devront intégrer les conseils d'utilisation selon les résultats et dosages définis par l'INRA.

B WP2: SOLUTIONS DE BIOCONTROLE

B.1 TACHES 1ET 2 (PARTENAIRES 1, 2 & 3 SUIVANT LES ESPECES): TEST DE FORMULATION PAR ESPECE ET TEST DE LA CONFUSION SEXUELLE

Dès l'ouverture du projet OPTIM'PHERO, les partenaires INRA, FREDON ont mis en place des tests comparatifs en plein champ (forêts ou autre zone JEVI) des phéromones microencapsulés par M2i. Pour chaque espèce cible, les produits synthétisés par M2i ont été comparés avec des diffuseurs de référence.

Le tableau 1 montre les expérimentations effectuées avec le code couleur: en vert, résultat permettant de passer à l'étape suivante; en rouge, objectif non atteint; en beige, quelques avancées, recherche à poursuivre. Sur la processionnaire du pin, dès la première année la phéromone a montré une excellente performance et très vite des tests ont été mis en place pour expérimenter la confusion sexuelle avec le paintball sur de grandes surfaces. Inversement sur la processionnaire du chêne, la phéromone microencapsulée ne montre pas d'effet attractif sur les mâles de cette espèce au cours des 3 années de test malgré les nombreuses variantes produites par M2i de synthèse de la phéromone microencapsulée. Sur la pyrale du buis, dès la première année la phéromone, bien que moins performante, était attractive sur les mâles de l'espèce. En 2016 et 2017, l'INRA avec ses partenaires ont testé de nouvelles productions de phéromones microencapsulées fournies par M2i afin d'en améliorer l'efficacité.

C'est ainsi que la lutte par confusion sexuelle a pu être expérimentée dès 2015 sur la pyrale du buis par dépôt de gel phéromonal (Box T Pro) sur les tiges de buis.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



Tableau 1 : Pour les 3 espèces cibles, progression des expérimentations mises en place depuis la phéromone à la confusion sexuelle.

	Processionnaire du pin	Processionnaire du chêne	Pyrale du buis
	Eté 2015	Eté 2015	Eté-automne 2015
Test phéromone		Eté 2016	Saison 2016
microencapsulée		Eté 2017	Saison 2017
	Eté 2015 premier essai surface limitée	2015 Pas de test par manque d'efficacité	2015 Premier test de confusion sexuelle
	Eté 2016 expérimentation en	2016 Pas de test par	
Test de la confusion	forêt	manque d'efficacité	2016 Premier test de confusion sexuelle
sexuelle par dépôt	Eté 2017 expérimentations doses	2017 Pas de test par	
innovant	en forêt et en milieu urbanisé	manque d'efficacité	2017 Premier test de confusion sexuelle
Légende couleu	r: Résultat		
	Faible		
Réduction des pop	. A consolider		
	Bon (jalon)		

Tableau 2 : Sites expérimentaux par espèces cibles répartis dans la partie Est de la France

		Processionnaire du pin	Processionnaire du chêne	Pyrale du buis
	2015	Col des Abeilles Sault 84	Lorraine 51	3 sites Avignon 84
site test phéromone (2 Homme/Jour) pdt 12	2016	-	Lorraine 51	3 sites Avignon 84
semaines	2017	Col des Abeilles Sault 84	Lorraine 51 et Meuse	2 sites Avignon 84
site test confusion sexuelle (4 Homme/Jour) pdt 12	2015	Montagnette 84	-	L'Haÿ les Roses
	2016	Eze 06	-	L'Haÿ les Roses
semaines)	2017	Eze 06 et Avignon 84	-	Avignon 84

B.2 Tâche 3 (partenaires 1 & 4) : Etude par espèce, des modalités de diffusion (ou dépôt) de la phéromone en fonction des configurations végétales :

La confusion sexuelle avec des modes de dépôt innovant a été testée uniquement sur la processionnaire du pin et la pyrale du buis. En effet, sur la processionnaire du chêne, aucune phéromone testée (hors diffuseurs de référence) n'ont été attractifs.

1. Processionnaire du pin

Deux types de configurations végétales ont été étudiés pour tester la confusion sexuelle à l'aide des billes de PheroBall Pin :



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



- la forêt avec des sites expérimentaux de grande surface. Chaque essai dose, répétitions et témoins avait une surface minimale de 4 hectares. Sélectionnés pour la présence de la processionnaire du pin en forêt urbanisée donc fortement fréquentée par le public.
- Les bosquets urbains de 3 à 10 pins au cœur de parcs routiers urbains. Ce secteur est aussi attaqué de façon récurrente par la processionnaire du pin.

Ces 2 types de configurations végétales sont complémentaires et très caractéristiques des zones nécessitant une stratégie de lutte contre la processionnaire du pin.

2. Pyrale du buis

Sur pyrale du buis, les tests de confusion sexuelle ont été conduits seulement en espace vert sur buis de haie. La configuration « forêt », bien que très infestée est trop « saturée » en pyrale du buis jusqu'à remplir totalement les pièges à phéromone en quelques heures. Dans ces conditions, tous les essais en forêt ont été arrêtés. La pyrale posant de réels problèmes aux gestionnaires de parcs et jardins, les efforts se sont concentrés sur ces milieux.

B.3 Tâche 4 (partenaire 1) : Elaboration d'un carnet de route pour le transfert aux nouvelles espèces cibles de ZNA :

Compte tenu des résultats encore mitigés sur 2 espèces sur 3 étudiées (aucun sur chêne, insuffisant sur pyrale du buis), l'élaboration d'un carnet de route pour le transfert aux nouvelles espèces cibles des ZNA ou JEVI se résume dans les conditions suivantes :

- Choix d'espèces potentiellement à risque pour le milieu (dégâts sur végétaux, santé publique...) avec une phéromone décrite
- Synthétiser cette phéromone sous la forme microencapsulée (Brevet M2i) et expérimenter ces nouvelles formulations sur l'insecte cible (toutes les phéromones n'étant pas attractives pour les mâles de l'espèce cible sous la forme microencapsulée).
- L'insecte cible doit avoir une capacité reproductrice la plus faible possible. Par exemple, une femelle de pyrale du buis dépose jusqu'à 1200 œufs avec 3 générations par an alors que la processionnaire du pin ne pond que 200 œufs et a une seule génération par an.

Espèces proposées pour un transfert en raison de leur hauteur (grands arbres) et du manque de moyen de lutte hors traitement aérien ou avec turbine à partir du sol :

- Mineuse de marronnier
- Carpocapse de la noix
- Carpocapse de la châtaigne



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



- Processionnaire du chêne sous réserve production phéromone microencapsulé attractive.
- Tordeuse du chêne
- Bombyx disparate
- Bombyx Cul Brun

La technologie des billes de « paintball » peut servir aussi à d'autres dépôts en hauteur comme par exemple :

- Frelons asiatiques (insecticide...)
- Papillon palmivore (phéromone, répulsif, champignons entomopathogène...)
- Charançon du palmier (répulsif)
- Lépidoptères ravageurs des fruitiers (hors champs de mission INRA UEFM)

C WP4: ACTIONS DE TRANSFERT, VALORISATION

C.1 TACHE 1 (PARTENAIRES 1 ET 3): LIVRABLES

Le guide « les clés pour lutter contre la processionnaire du pin » a été ré-édité avec 9 pages supplémentaires et de nombreuses mises à jour sur les nouveautés en matière de stratégies alternatives de régulation. Ce guide diffusé par de nombreux partenaires est aussi téléchargeable sur les sites DRAAF Auvergne, INRA UEFM, INRA National, Conseil départemental des Alpes Maritimes, FREDON, plusieurs collectivités territoriales ...

https://www.elagage-hevea.com/fr/livret-hevea-lutte-contre-les-chenilles-processionnaires-version-2.html

 $\underline{https://www6.paca.inra.fr/entomologie_foret_med/Insectes-ravageurs-et-protection-durable/Aide-a-la-decision}$

http://www.inra.fr/Grand-public/Ressources-et-milieux-naturels/Toutes-les-actualites/document-cles-pour-lutter-contre-processionnaire-du-pin

https://www.departement06.fr/documents/A-votre-service/Cadre-de-vie/proteger/dpt06 avotreservice cadredevie protegerlaforet-lutte-chenille-processionnaire.pdf

http://www.fredonoccitanie.com/surveillance/actualites/2018/08/22/les-cles-pour-lutter-contre-lechenille-processionnaire-du-pin/

De nombreuses collectivités ainsi que le site wikipedia permettent aussi le téléchargement de ce livret exemple la ville de Tourrettes sur Loup.

https://tourrettessurloup.com/lutte-contre-la-chenille-processionnaire-du-pin/



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



Disponible aussi sur Wikipedia

https://fr.wikipedia.org/wiki/Processionnaire du pin

En commande en version imprimée cartonnée pour 3.50€ (prix coutant) :

https://www.elagage-hevea.com/fr/livret-hevea-lutte-contre-les-chenilles-processionnaires-version-2.html



Figure : les clés pour lutter contre la processionnaire du pin édition mise à jour en décembre 2017 intégrant les pages supplémentaires avec la stratégie Pheroball Pin, ainsi que les stratégies combinées **23 pages**.

Autres publications dans des revues techniques :

• Publications biocontrôle présentant la technologie paintBall pour déposer la phéromone processionnaire du pin comme stratégie de régulation de l'insecte.

Malausa, T. (Coordinateur), Joly, E., Frerot, B., Marion-Poll, F., Thiery, D., **Martin, J.-C.,** Levevre, A., Navajas, M., Tabone, E., Rasplus, J.-Y., Ris, N., Ogier, J.-C., Pagès, S., Givaudan, A., Gaudriault, S., Gatti, J.-L., Lavigne, C., Bouvier, J.-C., Mailleret, L., Vercken, E., Klein, E., Roques, L., Desneux, N., Poncet, C., Bardin, M., Nicot, P., Ponchet, M., Galiana, E., Brisset, M.-N. (2018). *Les conquêtes de l'INRA pour le biocontrôle*. FRA: INRA Sciences & Impact. 32 p. https://prodinra.inra.fr/record/441064



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



E. Pal, M. Correard, M. Buradino, E.Morel, S. Touzeau, J.Thévenet, D. Vauthier, O.Gilg et J.C. Martin (2017). *Processionnaire du pin : le piégeage se perfectionne*. Phytoma **709**, 27-29.

Usage et limites d'utilisation:

E. Pal, M. Corréard, F. Rei, J. Thévenet, S. Lantus, E. Pezzini, M. Buradino, A-S Brinquin et J.C. MARTIN (2018). *Processionnaire du pin : un traitement bille en tête*. Phytoma **715**, 28-32.

Box T pro (Diffuseur de phéromone confusion sexuelle Pyrale du Buis) : Martin et al, 2018 (sous presse actes du colloques Buis AFPP Tours)

• Quelques articles de presse, sites internet, flyers collectivités territoriales...



Innovation : des fusils de paintball pour chasser la chenille processionnaire du pin



A.1.A.1.1.1 Edition 2014: Contribuer à l'essor du biocontrôle



PSPE2 Rapport Optim'Phero





MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION

Appel à projets de recherche « Pour et Sur le Plan Ecophyto »

A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle
PSPE2
Rapport Optim'Phero





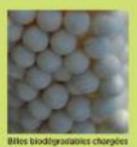
Avant 2007 : lutte aérienne par pulvérisation d'insecticide biologique (Bacillus Thuringiensis)



Depuis le Grenelle de l'environnement, l'épandage aérien a progressivement été interdit sauf dérogation, désormais soumise à accord interministériel (loi du 17/08/15)

Dès 2007 : sur les parcs naturels départementaux, le traitement aérien a été remplacé par l'expérimentation de méthodes de lutte alternative dans le cadre d'un partenariat exemplaire avec l'Institut National de Recherche Agronomique

En 2016 : une méthode novatrice dite de « confusion sexuelle » sera testée sur le Parc Naturel Départemental de la Grande-Corniche



de phéromone encapsuille dans le cire d'abeille



Projection des billes sur le tronc des arbres par un lanceur de type Paintball



Le phéromone sirei déposée agit per confusion sexuelle



Figure: Poster INRA-CD06 de communication sur les expérimentations conduites avec Pheroball Pin.



MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE ETDE L* ALIMENTATION

Appel à projets de recherche « Pour et Sur le Plan Ecophyto »

A.1.A.1.1.1 Edition 2014 Contribuer à l'essor du biocontrôle



PSPF2 Rapport Optim'Phero





LE LIEN HORTICOLE - N°979-06 JUILLET 2016

Processionnaire du pin: combiner les méthodes de lutte

Pour venir à bout de lachenille urticante. le plus efficace est d'assoCier d1verses techn quesde lutte aux différents stades de déve l'oppement de l'insecte.

01 clle.n.iUe proce__ion.nüre- éu pua 7)-Aum.rlCPI'-M pa.l}lllfd orpna_du <u>r</u>. .la. mcdërm.-,..,, eot l'Oipo Nbte de depm

port I 'hom.IDC k brt.iLJ ot Id..., ■ (plu&ieurs foycont Hé datttb.en ile-de-France). à raison d'environ 4 à 5 km

titu**Desapa**onodad-c3à7 mt.naJ &iona de nymphoses sont parfois obser-\réc& dès la fin du mois de décembre. Lolll d'une journée tech nique organi, éc: par l'école Du Bre-uil en avril dernier à. Paria, aln-Ciaude Martin, imgieur

chercheur à. l'Inra d

&enté-différe-ntes techniques de lutte.

DES SOLUTIONS CONTRE LES CHENLLES_La datruction dea ruds -qui peuvent comilr jusqu'à plusicun centaines de cheniUcast efficace, mais nsc: fa.ire que pour de petitca 1Ut-faces davecun équipement de protection intégrale.. Le coût augmente avec la hauœurdes nid.s (recouraàune nacelle). l...a hil.itc:mc:nbà base:du microorga.nî!Ime Ba.ciUus thuringænsis bmṭak.i tuent.sana distinction les chenilles de lépidoptères.

Qua.nd ils sontappliquésen hiver, ils ont un impact limitt aur lc:1 autres insedc:1 en phase: d'hl\emation. Il saont efficaces

jusqu'au quatrième stade larva..ire, avc:c des pe-rsistances d'action de 8 à 10 jours. Ussont ginéra.Jementr pandu gr.itt à des canoru atomiaeun (Epandage aérien at interditsauf dérogation paramEté prifectoral). tes distance: de 5 écurité par r.t.pport aux habitations et aux points d'eau, et le délai de rentrée rendent leur appli-

cation contraignante en ville. C&opiège!..(de 35 à]O euros TTC selon la circonfé rence de l'arbre et le nombre de nida), efficace:. s'in6talle autour du tronc, a\-ant le d marrage dC"S procc.ssiona, de déttmbre à février adon le climat : lee chen illes s'engouffrent dans le sac rem-

A. La processionnaire du pin développe une génération par an en plaine. Après l'éclosion (de fin juillet à fin septembre), les chenilles se forment pendan 4 à 8 mois en dévorant les aiguilles de pin. Elles s'abittent dans des nids d'hiver Après quolques prospections en févrire, elles quittent les arbres entre mars et mai en processions caractéristiques pour s'enfouir dans le sol et y effectuer leur nymphose. Les adultes, papillons nocturnes, émergent de terre de début juin à la mi-octobre selon les régions.



pli de terre en descendant alrbres. Encore faut-il a\- oir placé la collerette au bon moment!La piq;a doivent être disposé-a hors de portée des enfants. tl faut veiJier à bien colmater les espaces entre: le tronc et k pi. Cette solu6on cat envisageable à l'&hdle de qudquell arbres, mais pasulne forêt

ign@m(8)4t);aavajillé-sur la po5e de nichoirs

mange: cet oiseau pe-ut c:n une &eule journée dévore r jusqu'à. 25 chenilles en hiver, et entre 600 c:t,00 pendant la période de nidification. La pose de dix nic-boirs (à nettoyer à l'automne) par hec-tare su rune parcelle expérimentale- en

A COMBINER AVEC LA LUNE 2 CONTRE LES PAPILLONS. Le pii égeage dell adultes, de juin voire: mai (en climat océanique) à août voire octobre (c:n

forit du mont Ventoux (84) a permis une régulation durable dea populations.

tirées par paint--ball (voir encad.ré) et l'utilisation de micro-hym noptères parasites des a::ufe de procaaionna.ire du pin_ Clnra Paca (Pro\"encc-Aipc..côte dl\zul) a réalisé un faKicule intitul s dés pour lutter contre la processionnaire du ptn.en collaboration avc:e Plank & Cit a l'Onema dans le cadre du pla.n Ecophyto, et avec le pa.rtena.ire-Hévéa. i pré:sente : le cycle de vie de-la proce-a-

des a/ec le-piégeage dea papillona au

DE NOUVELLES TECHNIQUES

en cou rs cl'b-aluation: la confusion

PROMETTEUSES. D'autros aolutions sont

sc:xuelle avec des billes de phéromones

coun de l'été: et le piégodie chenilles

au dut du printemps permet divi-

sager un contrôle du ravageur.

sionnaire du pin, les riaq\Jes sanitairea dles bons geates en cas de manipulation, el risques de confusion avec d'autreo papillon.o, d. . ficbco techniquea de lutte. U est té:léchargea.ble à l'adresse ouivantc::http://tinyurlcom/hwgxhnq Plusieurs document& sont é-galement dispon iblea sur le- site WW'0 ecophy-

tozna-pro.fr dont In po.ster synthé-

tisant les 6tites de piéggage (http:// tinyurIrom/j8\Jowom) _ · VaUrie Vid ril

(r) Ap<Htirdu trois "" stndP!an. "ire lescheniUes possèdent des soies urtia: mtes qu'eUe-s liMœnt en cas dQgrnsion. (2) Plante & Citirt Inro., zon- zoJj 1.1 rapport zorj 🕿 t disponible sur http://tinyurl.rom/=phc6j

climat méditerranéen), s'effectue à l'a.ide de phéromones.se:xudla qui attirent les milc:ti_Jl permet le su ivi dea popu Latio na.

li faut com pter six pièges par hectille: pour le-s pclits tlots de rine-ux ou un piège tous les 25 m pour un alignement d'arbrea.Comme.pour le pàicbenilla, il est nécc.sr;a_ire de t-enir compte du coût en pe-r&Onnd et c:n maté:rid (piè:ges de 35 à 60 euros TTC, e-t phéromones à re:nou-vder toua Les ans de S à 20 euros ITC; i.l C"St po.ssible d'utiliser & piège à pyrale: Buxatr.lpà 12euro) Les ava.ntag:es et les inconvnients de diffients pi tants ont été: évalués dans le: cad re du programmeAltc:rpro (2).Le di&pooitifPro-caspriatntc:une bonne efficacité-. La combi nai!10 n dea différente a mêtho-

Des insectes chassés au paint-ball

e paint ballpour luttercontle l es papiloAS ravageurs? C'est sérieux. La technique développée par M>i Lofe SCience < a été prim! e en octobre dernier dans la catégorie • innovation • duPriX entreprises et environnement organisé parleministl!re de l'tcologie. Iln'eSt pas question de J)!! nture, mais l'epistol et ∴air comprimé utilis.!est lem me que celuiqui permet de lancer les billes..li sert à ti rerversi e sommet de l'arbre (de 7>10 m de hauteur), audébut de l'étO de<capsule
biodégradablesconten.In
le<ph!!romones.pour lutter.contie.la

gie de mjcro-encapsulation brevetée) à raison d'environ 3 blles pour 100rTV_Les pMromone<sont diffusée<pend.lnt 4:6moiSLaphéromone utilis!!eemp he le < ninds de détecter les femelles et réduit ain Si es accouplements (confusion sexuelle).cette technique!!vii tel'étape on reuseconsistantàptacer un pi e ausommet dupin l'aide d'une nacelle. Elleaétltestéepar l'Inrafin 2015 pr2s d'Aviignon (84L'e<péii mentationen coursvii se à comparer l'efficacité de 100 >1000 biii S parhectareafin d'optimi S « la stratégie de l'utte. L'innovation pourchenille procession naire du pin (technolo- rait l! Ue commercialisée cour. .nt 2011



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle
PSPE2
Rapport Optim'Phero



C.2 PRODUITS DU PROJET

Ce sont plusieurs produits élaborés dans le cadre du projet Optim'Phero qui sont à ce jour commercialisés.

C.2.A.1 PHEROBALL PIN

Pheroball pin a obtenu une autorisation provisoire de mise sur le marché pour les étés 2017 et 2018. Pheroball pin est le nom commercial des billes de paintball chargées de phéromone microencapsulée spécifique de la processionnaire du pin mis au point dans le cadre du projet Optim'Phero. L'INRA UEFM a fait des recommandations sur les doses expérimentées efficaces pour réguler la processionnaire du pin par cette stratégie innovante (Phytoma N°715) et les limites d'utilisation du produit. Ces recommandations divergent du protocole validé par la DGAL dans le cadre de l'autorisation de mise sur le marché sur la base d'autres essais jugés concluants.



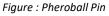




Figure : Dépôt par paintball de Pheroball Pin en confusion sexuelle sur le site expérimental du col d'Eze

C.2.A.2 Box T Pro Press

L'usage de la confusion sexuelle avec Box T Pro Press et son mode de dépôt innovant a été autorisé à la vente par une AMM dérogatoire temporaire de 4 mois à partir du 26 juin 2018 pour la lutte contre la pyrale du buis.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



C.2.A.3 Phéromones monitoring Processionnaire du pin

Les diffuseurs monitoring de phéromone gel microencapsulés livrés en seringue sous le nom de Pine T Pro Caps (processionnaire du pin) sont actuellement commercialisés en France (Nufarm, Koppert...). Les résultats expérimentaux du produit Pine T Pro ont été publiés (E. Pal, M. Correard, M. Buradino, E.Morel, S. Touzeau, J.Thévenet, D. Vauthier, O.Gilg et J.C. Martin (2017). *Processionnaire du pin : le piégeage se perfectionne*. Phytoma **709**, 27-29).

C.2.A.4 Phéromones monitoring Pyrale du buis

Les diffuseurs monitoring de phéromone gel microencapsulés livrés en seringue sous le nom de Box T Pro Caps (pyrale du buis) sont actuellement commercialisés en France (Nufarm, Koppert...). (publication sous presse actes colloque Tours AFPP 10/2018).



Figure: Mode de dépôt innovant (seringue) de la phéromone microencapsulée Pine T Pro (processionnaire du pin) ou Box T Pro (pyrale du buis) en monitoring ou éventuellement en piégeage de masse dans le panier à phéromone des pièges BuxaTrap.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle
PSPE2
Rapport Optim'Phero



3 - RAPPORT SCIENTIFIQUE DU PROJET OPTIM'PHERO

INTRODUCTION

En début de projet, la situation du biocontrôle pour réguler les trois principaux lépidoptères ravageurs présents en JEVI, les processionnaires du pin et du chêne et la pyrale du buis, est très différente selon les espèces.

La processionnaire du pin: par son caractère urticant et les dégâts occasionnés sur les arbres, la processionnaire du pin a été longuement étudiée (biologie, suivi de sa progression géographique...) (Robinet & al, 2007) mais aussi pour la recherche de méthodes de lutte (Martin et al, 2006). Au cours de la période 2008-2014, la processionnaire du pin a fait l'objet de plusieurs études pour la mise au point de stratégies alternatives dans le cadre de 2 projets ANR (Urticlim) et Alterpro (INRA, Plante & Cité, financement ONEMA / Ecophyto). Des techniques innovantes comme le piège à chenilles, le piège à phéromone avec des performances accrues... et la combinaison de plusieurs stratégies ont été mises au point et évaluées sur l'ensemble de l'aire de répartition de l'insecte (Martin et al, 2013). A ce jour, ces techniques utilisées par les gestionnaires, ne sont néanmoins pas satisfaisantes dans toutes les situations (ANSES, 2013) compte tenu du niveau de protection maximal souhaité pour cette chenille (risque sur la santé publique) sur de grandes surfaces avec des accès difficiles dus à la hauteur des arbres et à l'accessibilité des terrains. Rappelons aussi que son espace colonisé correspondant à 70 % du territoire métropolitain et que son aire est en extension rapide touchant ainsi toujours plus de parcs urbains et sites à fort taux de fréquentation par le public...) (Brinquin A.-S., 2013).

Aucune stratégie de lutte par confusion sexuelle n'avait été développée contre ce ravageur. Cette méthode de régulation apporterait une vraie réponse en milieu urbanisé où les dispositifs de piégeage de masse sont plus vulnérables (dégradation de pièges). De même, dans les grands massifs ou espaces protégés, souvent fragilisés par des stress hydriques et l'arrivée de parasites secondaires, la diversité de l'offre de stratégies alternatives de régulation contre la processionnaire du pin tout en respectant l'environnement est là encore souhaitable (ANSES, 2013).

La processionnaire du chêne: cette espèce proche de la processionnaire du pin, mais néanmoins différente par sa biologie, son comportement, les espèces hôtes, les méthodes de lutte... a été peu étudiée. Ces deux espèces sont présentes en milieu urbanisé et en milieu naturel. Elles ont aussi une spécificité commune liée au caractère urticant des larves à partir du 3ème stade qui posent de vrais problèmes de santé publique. Pour la processionnaire du chêne, son spectre d'action est encore plus large puisque le risque va au-delà de la forêt ou de l'arbre, et se prolonge dans le temps au niveau des riverains pendant plusieurs années (plaques de nymphoses sur les troncs) mais aussi géographiquement par le transport de bois (risque depuis les agents exploitant le bois, jusque dans les scieries) (Meurisse, 2011). Contrairement à la processionnaire du pin, les gestionnaires et propriétaires sont totalement démunis puisque seul le traitement phytosanitaire est efficace à ce jour (Delorme et



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



al, 2013). C'est ainsi que les traitements aériens se sont aussi organisés au cours des dernières décennies et répétés sur de très grandes surfaces pour protéger les arbres et les personnes contre cet insecte. De plus, à l'inverse des recommandations faites par les firmes distribuant les phéromones de processionnaire du chêne sur leur efficacité, aucun diffuseur de phéromone commercialisé en France et en Europe, n'a à ce jour, une performance satisfaisante. L'ANSES, suite à une saisine de 2 ministères (Agriculture et Ecologie) conclut que les connaissances acquises sur l'épidémiologie de la processionnaire du chêne semblent beaucoup trop fractionnaires pour permettre de proposer des recommandations en matière de lutte. L'ANSES insiste sur les efforts de recherche conséquents qui devront être consentis pour établir les bases scientifiques et techniques nécessaires à l'élaboration de méthodes de gestion de la processionnaire du chêne. En effet, aucune autre stratégie alternative n'a été développée contre cet insecte qui nécessite pourtant tant d'interventions pour protéger les personnes et les arbres (ANSES, 2013).

La pyrale du buis: Il s'agit d'une espèce invasive qui figure depuis 2008 sur la liste d'alerte de l'Organisation Européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes (OEPP, 2011). Ce lépidoptère invasif, responsable de la mort de sujets à fort intérêt patrimonial, colonise à grande vitesse l'Europe parce qu'il n'a pas d'ennemis naturels sur notre continent, ni de stratégie alternative au traitement phytosanitaire. Introduit sur le continent en 2008 en Suisse et Allemagne, il a très vite colonisé la France (Roberti et al, 2014) et plusieurs pays plus au sud. Avec 3 voire 4 générations par an, cet invasif progresse en détruisant un patrimoine historique sur son passage. Présent en ZNA, d'abord en milieu urbanisé (transport commerciaux de buis), il s'installe aussi en milieu naturel. Des études débutent (communiqué de presse Plante & Cité, 2014) sur les aspects monitoring et piégeage de masse avec la phéromone sexuelle fournie par les distributeurs européens. Néanmoins, comme pour les processionnaires du pin et du chêne, aucune étude d'optimisation de la phéromone et de régulation par la confusion sexuelle n'a été conduite sur cet insecte invasif et responsable de dégâts importants en ZNA (Plante & Cité, 2014).

Depuis 2012, dans le cadre de l'épidémio-surveillance en zones non-agricoles et pépinières ornementales, la FREDON PACA a commencé une surveillance dans le sud-est, vis-à-vis de la pyrale du buis. Cette étude a permis de mettre en évidence la présence du ravageur sur de nombreux secteurs de la région majoritairement en pépinière. Dès 2013, les signalements se sont intensifiés avec l'identification de foyers de contamination en jardins et espaces verts sur l'ensemble de la région. Les pratiques des professionnels et des particuliers vis-à-vis de ce ravageur sont peu adaptées. Ils utilisent majoritairement des insecticides à large spectre qui n'ont que peu d'effets sur la pyrale mais un impact fort sur la faune non cible. Un premier suivi par piégeage a été commencé en 2013, cependant le monitoring commence réellement en 2014 avec la volonté de suivre les vols de pyrale sur plusieurs points de la région dans le Var et les Alpes-Maritimes.

La problématique liée à la pyrale du buis a été relayée régulièrement dans les Bulletins de Santé du Végétal en Zones non Agricoles de la région PACA dès 2012 (BSV Paca, 2012, 2013, 2014).

Le projet OPTIM'PHERO a été conçu afin de développer des stratégies de lutte alternative innovantes et respectueuses de l'environnement contre ces ravageurs des zones JEVI. Quatre équipes ont décidé dans ce projet d'associé leurs forces résultant de compétences pluridisciplinaires fortes en synergie allant de la chimie fine avec des brevets novateurs, à l'entomologie appliquée avec des résultats



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle
PSPE2
Rapport Optim'Phero



concrets publiés. Ce projet a pour objectif de proposer des solutions de biocontrôle innovantes pour 3 ravageurs, les processionnaires du pin et du chêne et la pyrale du buis qui constituent des menaces majeures. OPTIM'PHERO a pour vocation d'élargir la gamme de produit du biocontrôle avec la technologie nouvelle développée par le partenaire français M2i Life Sciences permettant un relargage contrôlé des substances phéromonales et des modes d'applications de la confusion sexuelle, innovants, adaptés à la configuration végétale et aux contraintes (hauteur, accessibilité, fréquentation par le public...).

A – APPROCHES SCIENTIFIQUES ET TECHNIQUES UTILISES

C.3 Approches au laboratoire M2I

Principe de microencapsulation

La microencapsulation est une technique permettant d'emprisonner des liquides ou des solides dans une enveloppe (membrane) qui les isole dans le but de les protéger de l'environnement extérieur, ou de maitriser leur libération dans un environnement choisi. Dans le cas des phéromones, cette technologie permettra de maitriser le relargage de la phéromone en fonction de la taille de la particule et de la « coque » qui la sépare de l'environnement extérieur.



Figure 1: Schéma simplifié d'une microparticule ou microcapsule

Un système microencapsulé peut être dispersé dans l'eau et être utilisé avec un système de pulvérisation. Ceci permettrait à l'agriculteur d'utiliser une solution microencapsulé selon des moyens conventionnels (épandage, atomiseur...) et donc d'éviter la pose de diffuseur (dans le cas de la confusion sexuelle). De plus le coût de main d'œuvre peut être fortement diminué s'il est en association avec d'autres traitements qu'a l'habitude de faire l'agriculteur (épandage de cuivre par exemple sur la vigne).

L'autre particularité des microparticules est de permettre de maitriser le relargage. En effet sur les diffuseurs classiques on obtient des relargages empiriques souvent dû aux différences de températures ou d'humidité. Les microparticules permettent de pouvoir maitriser de façon plus linéaire le relargage des phéromones en fonction de la présence ou non de l'insecte.

Principe de fabrication de microparticules développé par COATEX

La société COATEX a développé une méthode d'encapsulation consistant à se servir d'un polymère ionique mais surtout d'utiliser une matrice hydrophobe pour le principe actif.

Tout d'abord il forme une émulsion entre :

- La phase aqueuse contenant le polymère ionique, l'eau, et la soude
- La phase hydrophobe contenant la matrice (huile, cire, paraffine) et le principe actif.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



Ensuite, on ajoute l'acide phosphorique qui a pour effet de changer les taux de charge et de créer un réarrangement du polymère et donc celui-ci va s'enrouler autour des gouttes de corps gras il se forme alors des microparticules.

Ci-dessous vous est présentée une méthode de fabrication de microparticule à base de polymères ioniques.

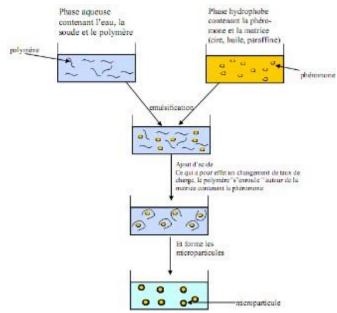


Figure 2: Schéma de la méthode de fabrication de microparticule à base de polymères ioniques

Incertitudes et difficultés techniques et scientifiques à surmonter, verrous technologiques à lever

Les incertitudes et difficultés techniques résident dans la réussite de la formation de microparticules dans un premier temps.

En effet la microencapsulation est dépendante de la matrice utilisée mais aussi du substrat à encapsuler et de sa teneur. La nature chimique des différents composants du latex et les viscosités relatives des phases aqueuses et hydrophobes influent sur la microencapsulation. Ce procédé présente donc des difficultés techniques qui nécessitent un ajustement expérimental précis des conditions opératoires. La seconde difficulté est d'être capable de contrôler le relargage des phéromones au cours du temps en fonction des besoins. Ceci nécessite d'être capable d'influer sur les paramètres telles que la viscosité de la matrice afin de "tuner" la mobilité des phéromones dans la matrice, la taille des particules qui influera sur la vitesse de relargage et enfin les spécificités des polymères choisis.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle
PSPE2
Rapport Optim'Phero



C.4 APPROCHES EN EXPERIMENTATIONS IN SITU (INRA PACA & LORRAINE ET FREDON PACA)

Le plan expérimental s'est déroulé en suivant le projet initial au cours des 3 années du projet en fonction des résultats obtenus. En effet, le premier frein à l'avancée du projet était la mise au point par M2i d'une phéromone efficace pour chaque insecte cible. C'est ainsi que pour la processionnaire du pin par exemple, dès la première année du projet, la phéromone microencapsulée était performante (sans différence significative avec les produits de comparaison). Ainsi, la firme M2i a produit le mode de dépôt innovant PheroBall Pin qui a été mis en pré-test dès l'été 2015. La progression a été très rapide avec des premiers résultats d'efficacité de la confusion sexuelle dès la fin de l'été 2016 et une optimisation de la stratégie au cours de l'été 2017 (figure 3).

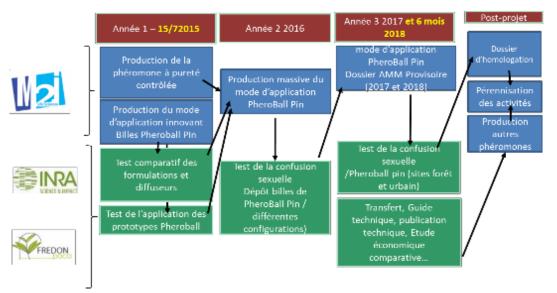


Figure 3 : Schéma du déroulé du projet au cours des 3 années pour la processionnaire du pin : de la phéromone microencapsulée efficace en 2015 à une stratégie de régulation par confusion sexuelle fin 2017 décrite dans un guide technique.

Pour la processionnaire du chêne, le premier verrou « production d'une phéromone efficace sur l'insecte cible » n'a pas permis d'avancer dans le déroulé du projet. En effet, c'est 3 années de travail pour la mise au point de cette phéromone microencapsulée et 3 années de tests comparatifs en forêt sans résultats pour les préparations microencapsulées expérimentées (figure 4). Malgré un effort plus important et demandant plus d'hommes/jour pour la pose des dispositifs de comparaison des diffuseurs de phéromone et leurs suivis en forêt de Lorraine, aucun résultat n'a été obtenu.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



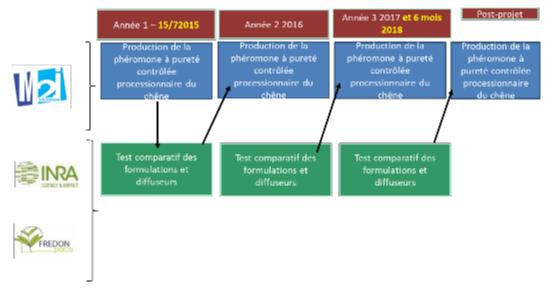


Figure 4 : Schéma du déroulé du projet au cours des 3 années pour la processionnaire du chêne avec uniquement les tests comparatifs des formulations expérimentales de la phéromone microencapsulée. Le nombre de formulations expérimentales à tester a été progressivement augmenté entre 2015 et 2017 sans résultat.

Pour la pyrale du buis, dès la première année du projet, la phéromone microencapsulée, bien qu'inférieure à la phéromone de comparaison montrait un potentiel d'efficacité. La firme M2i a produit le mode de dépôt innovant Box T Pro, avec une phéromone microencapsulée sous forme de gel oxobiodégradable qui a été mis en pré-test dès l'été 2015. De nouveaux tests de comparaisons de nouvelles formulations de phéromone microencapsulée de pyrale du buis ont été conduits au cours des années 2016 et 2017, apportant ainsi plus d'expérimentations à installer et à suivre. La confusion sexuelle a été expérimentée au cours de ces 2 dernières années avec le dépôt au pinceau de phéromone Box T pro sous forme de gel (figure 5). La firme M2i ayant mis au point dans les secrets de ses laboratoires un mode de dépôt plus adapté de cette phéromone, a obtenu une AMM provisoire jusqu'en fin de saison 2018 pour la lutte par confusion sexuelle contre la pyrale du buis avec son « système » de dépôt innovant. Dérogation obtenu sans avoir de résultats dans les tests INRA et hors projet Optim'Phéro...



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



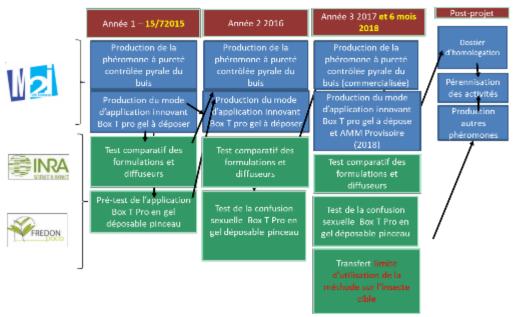


Figure 5 : Schéma du déroulé du projet au cours des 3 années pour la pyrale du buis avec des tests comparatifs des formulations expérimentales de la phéromone microencapsulée les 3 années et de même, des tests de confusion sexuelle au cours des 3 années.

A- A2-1 DISPOSITIF DE COMPARAISON DE DIFFUSEURS DE PHEROMONE

La firme M2i a fourni chaque année des formulations microencapsulées à tester (3 à 5 formulations pour chaque espèce et par année). Les tests ont été conduits (suivis) pendant toute la période de vol des adultes soit 5 à 6 mois pour la pyrale du buis, 4 mois pour la processionnaire du pin et 2 mois pour la processionnaire du chêne. Au cours des 3 années, ce sont c'est un total de 9 tests avec un ou plusieurs diffuseurs de référence de la même espèce soit 84Hommes/jour. Chaque formulation à tester et les produits de comparaison ont été installés dans un piège à phéromone et espacés de 5 m pour la pyrale du buis et de 50 m pour les processionnaires du pin. La répartition de chaque modalité répartie au hasard forme ainsi une séquence qui a été répétée entre 10x ou 20x (suivant possibilité du terrain).

B- A2-2 DISPOSITIF DE REGULATION PAR LA CONFUSION SEXUELLE PROCESSIONNAIRE DU PIN

Expérimentation en zone forestière (tableau 1)

Les essais comparatifs conduits en 2016 avaient pour objectif de (i) déterminer le nombre de billes nécessaire par hectare. C'est ainsi qu'il a été testé entre 100 et 400 billes par hectare ainsi que la modalité 100 billes répétées en milieu de la période de vol des papillons, (ii) de valider le rôle d'une répartition serrée par rapport à la dose totale hectare : 1000 billes par hectare dosées à 10% des Phero Ball Pin classiques.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



Les tests conduits en 2017 avaient pour objectif de valider ce nombre, en testant notamment les 2 modalités de 300 et 400 billes par hectare. Enfin un autre mode de dépôt a également été testé, la phéromone en gel semi liquide déposé en hauteur, entre 6 et 9 mètres, sur le houppier grâce à une lance télescopique branchée sur pulvérisateur mécanique à pression (cf. figures 6 & 7). L'appareil a été étalonné afin de déposer par plot sur le houppier, l'équivalent en phéromone de 400 billes par hectare.

Tableau 1 : Modalités testées en zone forestière au cours des années 2016 et 2017

Nombre de billes/ha	Année	Nombre de répétitions (4 hectares)	Remarques
400	2016	1	
1000	2016	2	Billes expérimentales sous-dosées à 10% des Phéro Ball Pin
200	2016	2	
100 + 100	2016	2	1er dépôt de 100 billes/ha avant le vol et 2eme dépôt de 100 billes par ha en milieu de vol)
100	2016	1	
300	2017	2	
400	2017	1	
Gel déposé en			Gel semi-liquide déposé par lance entre 6 et 9 mètres de
hauteur	2017	1	hauteur (houppier)





Figures 6 & 7 : Dépôt par lanceur Paintball des Phero Ball Pin et dépôt en hauteur de la phéromone gel semi liquide (photos : J-C Martin)

L'ensemble du dispositif expérimental a été installé sur le Col d'Eze dans les parcs départementaux de La Grande Corniche et du Vinaigrier (CD06). En effet, sur ces sites la processionnaire du pin est suivie depuis 2009 par l'UEFM. Il est important de noter que les expérimentations de 2016 et plus particulièrement celles de 2017 ont été conduites en phase de rétrogradation des populations de processionnaires du pin.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero





Figure 8: Exemple de maillage 10x10 mètres permettant de déposer entre 3 billes et 4 billes par 100 m² au cours des tests 2017. Emplacement des 5 pièges sentinelles (en bleu)

Mise en place sur le terrain: Sur chacune des parcelles sélectionnées pour l'étude, un maillage en carré de 10x10m a été effectué par SIG (Système d'Information Géographique) de manière à répartir au mieux les billes de phéromones sur chaque parcelle expérimentale de 4 hectares (figure 8). En 2016, les billes ont été appliquées sur tout support végétal, alors qu'en 2017, le dépôt a été fait uniquement sur les pins tout en conservant la dose pour chaque carré du maillage. La dépose des Phéro Ball Pin s'est faite avant le début du vol des papillons (dernière semaine de juin) au rythme de 6 à 8 hectares par jour par équipe de 2 personnes. Parmi les difficultés rencontrées, il faut citer les contraintes de terrains accidentés, de fortes présences de ronces, de

chênes kermesses ou de genêt scorpion ainsi que la perte notable de temps due au nettoyage des lanceurs Paintball régulièrement mis en sécurité à cause de la présence de billes fêlées, obstruant le canon du lanceur. Cette dernière difficulté devrait être maintenant réglée par la firme productrice qui explique avoir professionnalisé la production et le contrôle qualité.

Contrô le d'un effet sur les papillons mâles et de l'impact sur les nids d'hiver

Afin de contrôler l'effet « confusion » sur les mâles présents dans les parcelles « confusion » par rapport au témoin, 5 pièges à phéromones dits pièges « sentinelles » modèle Cameratrap® chargés avec diffuseur phéromone Process'Attract) ont été installés au centre de chaque parcelle et suivis tous les 15 jours jusqu'à la fin du vol des papillons. La dynamique naturelle de la processionnaire du pin a aussi été suivie dans les témoins durant toute la période de vol des adultes. En janvier 2016, 2017 et 2018, des dénombrements de nids de chenilles ont été effectués à raison de 3 placettes échantillonnées de 30 arbres, soit 90 arbres pour chacune des modalités traitées et témoins.

Expérimentation en zone urbaine sur petits bosquets (figure 9)

Un essai de confusion sexuelle a également été conduit au cours de l'été 2017 à proximité du Centre Hospitalier d'Avignon (84). Six petits bosquets composés de 3 à 7 pins et situés dans des giratoires ou en bordure de route, ont été choisis pour un traitement par confusion sexuelle. La dose testée de 30 Phéro Ball Pin par arbre a été déterminée en s'appuyant sur un essai préliminaire de 2016. En effet, lors de cet essai précédent, les doses testées de 1 à 10 billes par pin n'avaient pas d'impact sur la descendance.

Deux autres bosquets composés respectivement de 5 et 8 pins ont servi de zone témoin (sans traitement). Le dénombrement exhaustif des nids d'hiver de processionnaires du pin a été fait au cours des années n (janvier 2017) et n+1 (janvier 2018) dans les bosquets traités et témoins. Le dépôt des



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



billes par lanceur Paintball a été réalisé le 28 juin 2017 avant le début du vol des papillons. Lors de cette opération, les mêmes difficultés de nombreuses billes cassées ont été observées.

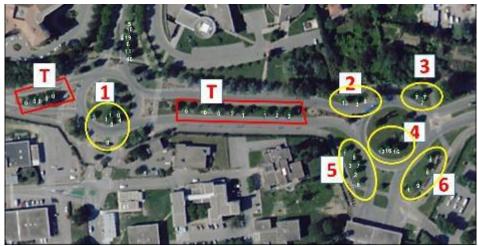


Figure 9 : Carte du dispositif en zone urbaine quartier Centre Hospitalier Avignon (1 à 6 = petits bosquets traités à raison de 30 billes par pin; T = témoin). Les chiffres indiquent les emplacements des pins et le nombre de nids de processionnaire en janvier 2017.

C- A2-3 DISPOSITIF DE REGULATION PAR LA CONFUSION SEXUELLE PYRALE DU BUIS

Le site de la Roseraie du Val de Marne, fortement attaqué par la pyrale du buis et disposant à cette période-là de 5 kilomètres linéaires de bordure en buis *Buxus sempervirens* a été choisi comme site d'étude de la confusion sexuelle grâces à un partenariat avec le gestionnaire du site (CD93).



Figure 10 : Présentation du site d'étude en 2016, avec les 2 modalités confusion sexuelle (rouge) et le témoin (vert) et comparaison avec le piégeage de masse (hors projet) – La Roseraie du Val de Marne

En 2016, le site de la Roseraie a été partagé en trois parties : une modalité confusion sexuelle et le témoin soit 4000 m² par parcelle. Ainsi que la modalité piégeage de masse (hors projet).

- Dénombrement des chenilles / 5 haies de comptage d'une longueur d'un mètre en 2015 et 11 haies de comptage d'un mètre en 2016
- Avant la première nymphose les 7 mai 2015 et 5 mai 2016.
- Dénombrements intermédiaires le 23 juillet 2015, 25 septembre 2015 et 15 juillet 2016
- Dispositif de confusion sexuelle
 Le gel phéromonal BoxTPro fourni par la firme M2I Life Sciences a été déposé au pinceau sur les buis des haies à raison de :
- 500 points de diffusion en 2015 sur 5000 m² soit un équivalent de 4g/ha. Chaque dépôt était constitué de 4 mg de phéromone gel BoxTPro microencapsulée.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



- 500 points de diffusion en 2016 sur 4000 m² soit un équivalent de 6.25g/ha. Chaque dépôt était constitué de 5 mg de phéromone gel BoxTPro microencapsulée
- Dispositif de piégeage de masse (hors projet mais intéressant pour la comparaison)
- En 2015, 50 pièges BuxaTrap® installés sur 5000 m² soit 1 piège/100 m²
- En 2016, 50 pièges BuxaTrap[®] installés sur 4000 m² soit 1 piège/80 m²

A2-3 Test comparatifs des nouvelles formulations de processionnaire du chêne

En 2015, une formulation de phéromone microencapsulée pour la processionnaire du chêne a été testée à 2 doses 2.5 et 10 mg en comparaison avec une phéromone commercialisée avec 10 répétitions.

En 2016, 4 formulations 9052-1 à 9052-4 de phéromone microencapsulée pour la processionnaire du chêne ont été testées en comparaison avec une formulation d'une autre firme.

En 2017, 5 formulations 1507A à1507C de phéromone microencapsulée pour la processionnaire du chêne ont été testées en comparaison avec une formulation d'une autre firme (tableau 2).

Chacun de ses tests a été effectué en Lorraine puis en 2017 en Meuse. Les sites ont été sélectionnés en raison de leur présence de l'insecte cible.

Tableau 2 : Exemple de test de comparaison des formulations de phéromone effectué en 2017 en forêt de Lorraine sur processionnaire du chêne (5 formulations M2i, 1 produit de comparaison (X225-15) et 10 répétitions

	Phéromone	Code	Piège	Fournisseur	Nb
					piège
1	gel	1507A-	Cameratrap	M2i	10
		16			
2	gel	1507B-	Cameratrap	M2i	10
		16			
3	Polymère	1507C-	Cameratrap	M2i	10
		16			
4	gel	1507D-	Cameratrap	M2i	10
		16			
5	gel	1507E-	Cameratrap	M2i	10
		16			
6	OPMX225 = Réf	X225-15	Cameratrap	Sumiagro	10



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle
PSPE2
Rapport Optim'Phero



D RESULTATS OBTENUS

D.1 EXPERIMENTATION PROCESSIONNAIRE DU PIN

a) En zone forestière

Effet de la confusion sexuelle sur les papillons

En 2017, les résultats obtenus grâce aux pièges sentinelles disposés sur les parcelles traitées et non traitées ne montrent aucune différence statistique suivant les modalités testées (analyse par un test ANOVA suivi d'un post-hoc de Tukey). Toutefois, on remarque que les pièges placés sur les parcelles traitées avec 400 billes/ha tendent à capturer moins de papillons (16.3 ± 14.3 papillons capturés en moyenne) contrairement aux zones témoins (28.5 ± 18.9 papillons capturés en moyenne).

Effet de la confusion sexuelle sur le nombre de nids d'hiver de processionnaire du pin (tableau 3)

L'étude de l'impact (réduction/augmentation) de la confusion sexuelle sur la dynamique des populations comparées à la dynamique naturelle dans les témoins s'appuie sur les résultats comparés de dénombrements des nids d'hivers de la processionnaire du pin (formule d'Henderson et Tilton) au cours des années n et n+1.

Les résultats 2016 ont permis de déterminer qu'une réduction des populations était possible avec 400 billes par hectare. L'expérimentation 2017 révèle une diminution significative du nombre moyen de nids d'hiver globalement sur toutes les modalités testées à l'exception des zones traitées à 400 billes/ha. Ces réductions étant comprises entre – 29.1% et -87.8%; cette dernière étant la parcelle traitée par gel phéromonal en hauteur.

Tableau 3 : Résultats des comptages de nids effectués avant et après traitement par confusion sexuelle pour l'expérimentation de 2017. Les lettres indiquent les résultats statistiques obtenus après analyse par un test de Wilcoxon (a,b: différence statistique ($p \le 0.05$); ns: non significatif), les flèchent permettent de visualiser le sens des variations statistiques. Le pourcentage de réduction a été calculé grâce à la formule d'Henderson et Tilton prenant en compte les variations naturelles d'effectif (années n et n+1).

Modalités testées	Mesures	2017	2018	Réduction réajustée par rapport à la dynamique naturelle (%)
	Nombre de nids total	65	37	
300billes/ha (n = 10)	Nombre de nids (moyenne ± écart-type)	10,83±6,11 a	6,17±4,36 b ↓	29.10%
	Nombre de nids total	77	41	
400billes/ha (n = 6)	Nombre de nids (moyenne ± écart-type)	12,83±8,30 ns	6,83±5,27 ns	35.9%
Gel phéromonal en hauteur	Nombre de nids total	30	2	
(40g/ha) (n = 3)	Nombre de nids (moyenne ± écart-type)	10±8,72 a	0,67±0,58 b ↓	87.80%
	Nombre de nids total	22	18	
Témoin (n = 9)	Nombre de nids (moyenne ± écart-type)	2,44±3,21 ns	2,00±2,00 ns	



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



Cependant, lorsqu'on prend en compte l'amplitude des résultats obtenus par placette de 30 arbres échantillonnés (3 pour chaque parcelle de 4 hectares), des cas d'échecs ou de très faibles impacts inexpliqués sont observés localement quelques soient la dose. Inversement, des cas d'impacts forts avoisinant les 100 % de réduction permettent de montrer le potentiel de la lutte par confusion sexuelle moyennant quelques ajustements (figure 11).

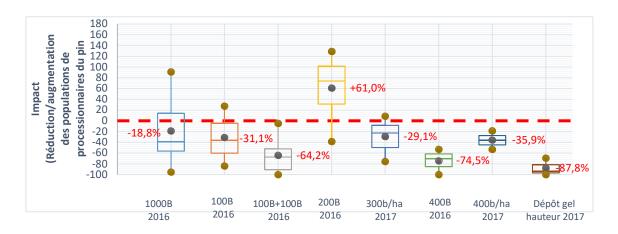


Figure 11 : Box plots des impacts du traitement par confusion sexuelle pour l'ensemble des modalités testées en zone forestière par année

(*1000 billes = billes sous-dosées à 10% seulement des phero ball classiques).

b) En zone urbaine sur petits bosquets (Tableau 4)

Les captures de papillons obtenus en 2017 sur les petits bosquets ne permettent pas de mettre en évidence un effet ou non de la confusion sexuelle sur le nombre de capture de papillons mâles. Mais par ailleurs, le suivi du nombre de nids d'hiver de processionnaires du pin montre une réduction de 24.67 ± 11.36 nids en 2017 à 12.16 ± 5.38 nids en 2018. L'ajustement par rapport à la dynamique naturelle des témoins (formule d'Henderson et Tilton) permet de caractériser un impact de la confusion sexuelle à la dose utilisée sur petits bosquets. Dans ce cadre expérimental, le traitement par confusion sexuelle à 30 billes par pin sur des petits bosquets a induit une réduction significative de 57,91 % (± 20,85 %) du nombre de nids de processionnaire du pin.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



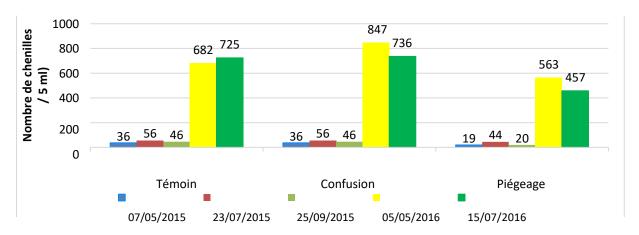
Tableau 4 : Résultats des comptages de nids effectués avant et après traitement par confusion sexuelle en zone urbaine. Les lettres indiquent les résultats statistiques obtenus après analyse par un test de Wilcoxon (a,b : différence statistique ($p \le 0.05$) ; ns : non significatif), les flèchent permettent de visualiser le sens des variations statistiques. Le pourcentage de réduction (Impact) a été calculé à l'aide de la formule d'Henderson et Tilton prenant en compte les variations naturelles d'effectif.

	Zone traitée (n=28)		Zone témoin (n =13)	
Mesures	2017	2018	2017	2018
Nombre de nid total	148	56	13	17
Nombre de nids (moyenne ± écart-type)	24.67 ± 11.36 a	12.16 ± 5.38 b ↓	6.5 ± 9.20 ns	8.5 ± 6.40 ns
Réduction (%)	-57,91 ± 20,85 %			

D.2 EXPERIMENTATION PYRALE DU BUIS

- 1- Résultats comparés piégeage de masse et confusion sexuelle
- Dénombrement des chenilles rapporté à 5 mètres linéaires

Figure 12 : Résultat des dénombrements de chenilles de pyrale du buis pour les modalités « piégeage », « confusion » et le témoin pour les 5 dates de relevés entre 2015 et 2016 sur le site de la Roseraie du Val de Marne (rapporté à 5 mètres linéaires)



Les dénombrements des chenilles effectués dans la placette témoin sont un indicateur de la dynamique naturelle de la pyrale du buis sur le site de la Roseraie au cours de la période expérimentale. Ils permettent ainsi de réajuster ou corriger les données obtenues dans les placettes « confusion » et « piégeage » au cours de la même période afin d'en évaluer l'impact (formule d'Henderson et Tilton).



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



Figure 13 : Formule d'Henderson et Tilton utilisée pour évaluer l'impact du traitement par piégeage ou par confusion sexuelle sur les chenilles de pyrale du buis pour chaque année

Henderson-Tilton's formula			
Corrected % = (1	n in Co before treatment * n in T after treatment	-)*100	
Coffected % = (1	n in Co after treatment * n in T before treatment	-)*100	
Where : n = Insect population , T = treated , Co = control			

Tableau 5 : Impact des traitements par piégeage ou par confusion sexuelle effectués entre 2015 et 2016 sur le site de la Roseraie du Val de Marne. Impact évalué par dénombrement des chenilles

("-" réduction des populations ; "+" augmentation)

	Confusion sexuelle	Piégeage de masse
Impact entre le 7/5/2015 et le 5/5/2016	+24.18%	+56.41%
Impact entre le 5/5/2016 et le 15 juillet 2016	-18.26%	-23.64%

Observations des dégâts sur les buis

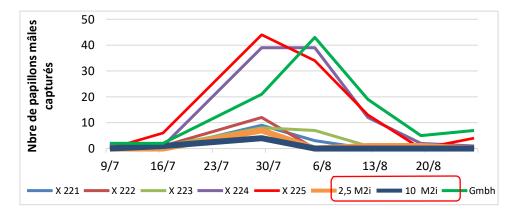
Les notations de dégâts, bien qu'étant non exploitables du fait de la réduction du feuillage à chaque relevé, montrent une augmentation fulgurante au cours des 14 mois de suivis. Dans les placettes « Confusion » comme « Piégeage », les dégâts sont généralisés au 15 juillet 2016 avec des défoliations quasi totales identiques au témoin.

La firme M2i précise que le produit et le protocole testés ici diffèrent de celui mis au point ensuite par M2i et qui dispose d'une AMM dérogatoire (en combinaison avec du BtK). En 2015, il avait été testé une méthode de dépose d'une phéromone « gel » au pinceau. Le produit homologué en juin 2018 est un gel phéromonal d'un dosage différent et à appliquer à l'aide d'un atomiseur manuel.

D.3 PROCESSIONNAIRE DU CHENE

Figure 14

Résultat comparatif des captures de papillons mâles de processionnaire du chêne obtenues au cours de la saison 2015 en Lorraine dans les 10 répétitions et 8 modalités de diffuseurs de phéromone. Les phéromones microencapsulées en test en 2015 étaient codifiées « 2,5M2i » et « 10M2i »



Dans ce test 2015 (figure 14), les formulations « 2,5M2i » et « 10M2i » sont significativement inférieurs aux phéromones de comparaison X224, X225 et Gmbh. Aucun essai de lutte par confusion ne pouvait être conduit avec ces formulations.

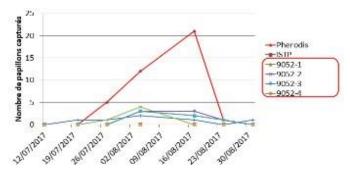


A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



En 2016 et 2017 d'autres tests ont été conduits avec des diffuseurs M2I avec des résultats encore plus faibles à cause d'une rétrogradation brutale des populations entre la fin de l'évolution larvaire et l'émergence des adultes avec l'arrivée de prédateurs/parasites a rendu les résultats non interprétables (figure 15).

Figure 15
Résultat comparatif des captures de papillons mâles de processionnaire du chêne obtenues au cours de la saison 2017 en Lorraine dans les 10 répétitions et 6 modalités de diffuseurs de phéromone. Les phéromones microencapsulées en test en 2017 étaient codifiées « 9052-1» à « 9052-4 »



La première étape de production d'une phéromome microencapsulée efficace pour attirer les papillons mâles de processionnaire du chêne n'ayant pas été atteinte, aucun test n'a été effectué en confusion sexuelle sur cette espèce.

E DISCUSSION ET CONCLUSION

Limites d'utilisation et contraintes de Pheroball Pin

Cette étude qui a démontré la possibilité de réguler la processionnaire par confusion sexuelle permet aussi de montrer les points de progrès de cette stratégie de lutte :

(iv) En termes d'**efficacité** aux doses testées en 2016 et 2017, entre 300 et 400 billes par hectare sur grandes surfaces forestière (4ha), l'amplitude de la réduction est comprise entre 29 et 74%

La réduction de population a été plus importante en 2016 avec une plus forte pression. En 2017, dans les témoins, comme dans tout le massif, les populations étaient encore à la baisse.

Des concentrations plus importantes pourraient être testées comme par exemple 500 billes par hectare afin d'en améliorer l'efficacité. L'expérimentation du gel phéromonal disposé en plot sur le houppier a obtenu plus de 87% de réduction des populations. Ayant été conduite sur un seul essai dose, elle mériterait aussi d'être renouvelée afin de valider ou non ce résultat.

Les tests en zone urbaine à 30 billes par pin montrent un résultat significatif avec une réduction de 58% (+/-21%) des populations.

Cette dernière année a été marquée par une application plus difficile que l'année dernière du fait du viellissement de billes d'une année sur l'autre. Cela affecte significativement le temps de pose du fait du nettoyage fréquent des lanceurs.

(v) En termes de **temps de dépose des billes** (6 à 8 hectares par jour à 2 personnes) et de nettoyage fréquent du lanceur. En outre, la firme M2I précise que les billes utilisées avaient été



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



produites l'année précédente et cette ancienneté les avait rendues plus fragiles. Elle informe que c'est un problème désormais résolu par l'achat d'une nouvelle machine de fabrication des billes. En forêt, le parcours précis en suivant le maillage de 10x10 m pour disposer les billes demande beaucoup de temps et augmente ainsi le prix de revient de cette stratégie de lutte.

(vi) En termes de **coût**: Phero ball Pin pourrait nécessiter d'autres expérimentations afin d'évaluer l'efficacité à des doses supérieures, Il est possible d'espérer qu'une production industrialisée des billes ainsi qu'une ouverture à la concurrence avec d'autres modes de dépôt de la phéromone pour la lutte par confusion sexuelle permettraient d'en baisser le prix de vente. Une étude devrait aussi être conduite afin d'étudier la question du ratio Augmentation des billes / efficacité d'un point de vue économique car augmenter le nombre de billes améliorera-t'il l'éfficacité dans les mêmes proportions?

La firme M2i précise que :

L'effet prix est surtout lié au coût de développement de la phéromone en tant qu'actif. Aujourd'hui les besoins annuels sont très faibles (10 kg) ce qui ne permet pas de descendre significativement le prix unitaire de la pheromone. Cependant les potentiels de volume sont important et on peut espérer une optimisation des coûts avec l'augmentation de la pénétration de la solution en France puis dans le reste de l'Europe.

Arbres isolés :

Pour des applications sur arbres isolés les volumes de billes/an sont faibles il faut traiter au moins 50.000 arbres isolés par an pour diviser le prix de la phéromone ce qui conduit à un coût unitaire bas et très compétitif. Pour illustrer ce lien prix/volume, si l'on traite 10*plus d'arbres/an, on peut espérer diviser par 2 le coût de traitement.

• Forêts:

L'effet volume et encore plus drastique que sur les arbres isolés puisque si on considère pouvoir traiter 100.000 Ha/an (ce qui est réaliste à l'échelle européenne et méditerranéenne), on aboutit à un prix de revient hectare en très nette baisse et en conséquence très compétitif. L'asymptote situe le prix final du produit à un niveau cohérent par ailleurs avec les données économiques sur vigne ou arbres fruitiers. Enfin, M2i a acquis en 2018 une machine pour mécaniser la production de billes cela a pour conséquence d'en améliorer la qualité, et la quantité tout en abaissant le prix unitaire.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle
PSPE2
Rapport Optim'Phero



<u>Cette étude conduite sur 3 années démontre que la confusion sexuelle sur la processionnaire du pin est maintenant possible.</u> Par cette technologie innovante, mise au point dans le cadre du projet optim'phero, il est possible de réduire la descendance, à condition de respecter les doses minimales. En effet, au sujet de Phéro Ball Pin, pour l'INRA, il est nécessaire d'employer malgré quelques cas d'échecs, 300 billes au minimum par hectare dans les grands espaces forestiers.

M2i pose la question de l'utilité d'utiliser 300 billes par hectare, lorsque le protocole retenu par la DGAL dans l'AMM dérogatoire (120 jours) considère un résultat satisfaisant avec 200 billes/ha.

Lorsqu'il s'agit d'arbres isolés ou petits bosquets, 30 billes déposées sur chaque arbre contribuent à réduire significativement les populations de processionnaire du pin.

Box T pro pour la pyrale du buis :

Ces 3 années d'expérimentation montrent, qu'utilisée seule, la confusion sexuelle avec BoxTpro aux doses utilisées ne permettent pas de réduire l'impact de la pyrale du buis en terme de dégâts occasionnés sur les buis. En effet, bien qu'ayant obtenu en 2016 une réduction des populations d'environ 20% (18.26 et 23.64%), à ce niveau d'infestation de la pyrale du buis (plus de 100 chenilles par mètre linéaire), 80% des chenilles restantes sont suffisantes pour défolier tous les buis. Il faut noter que les bordures de buis de très petites tailles (environ 25cm sur 25) n'ont pas redébourré au printemps 2017 et qu'à ce jour la quasi-totalité des bordures en buis du site de la Roseraie est morte et arrachée.

4 - CONTRIBUTION AU PLAN ECOPHYTO DU PROJET OPTIM'PHERO

A- AUTORISATION PROVISOIRE DE MISE SUR LE MARCHE DE LA CONFUSION SEXUELLE CONTRE LA PROCESSIONNAIRE DU PIN ET SA COMMERCIALISATION

Pheroball Pin est une innovation dans la lutte par confusion sexuelle contre la processionnaire du pin par son mode de dépôt original et facile d'emploi plus particulièrement en espace JEVI. Un autre atout de ces billes de phéromone réside dans le fait que la phéromone microencapsulée est oxobiodégradable après un temps de diffusion correspondant à la durée du vol des papillons. Une formulation qui se dépose sur les écorces d'arbre lors de l'éclatement des billes sur les troncs tout en maitrisant la cinétique de diffusion de la phéromone.

La technique réduit ainsi la manutention avec un seul passage pour la dépose des billes sans avoir à démonter le dispositif en fin de vol.

Cette étude préliminaire de PheroBall Pin démontre aussi pour la première fois que la confusion sexuelle est aussi efficace sur arbres isolés à condition de l'utiliser à une dose optimale (30 billes par arbre traité).



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2 Rapport Optim'Phero



La firme M2I Lifesciences a déposé 2 demandes d'autorisations provisoires de mise sur le marché au niveau des professionnels pour la phéromone déposée par paintball (billes de Pherobal pin) en confusion sexuelle contre la processionnaire du pin. Les 2 demandes ont été accordées au cours des étés 2017 et 2018 par les services de l'état. Le nouvel outil « Pheroball Pin » mis à la disposition des professionnels, fait donc partie des stratégies élaborées et mises au point dans le cadre du projet Optim'Phero.

L'INRA (<u>avis non partagé par M2i</u>) préconise que les autorisations de mise sur le marché (dérogatoire ou définitive) devraient intégrer ses conseils d'utilisation et d'autres dosages efficaces.

B- INTEGRATION DE LA STRATEGIE DE LA CONFUSION SEXUELLE DANS UNE STRATEGIE GLOBALE DE REGULATION DE LA PROCESSIONNAIRE DU PIN : LE GUIDE : « LES CLES POUR LUTTER CONTRE LA PROCESSIONNAIRE DU PIN »

Le guide « Les clés pour lutter contre la processionnaire du pin » en 23 pages, décrit l'ensemble des stratégies alternatives permettant de réguler ce ravageur. En effet, Pheroball pin permet une régulation de la processionnaire du pin par la confusion sexuelle, laquelle doit être combinée avec d'autres méthodes alternatives non concurrentes comme le piégeage des chenilles ou la pose de nichoirs à mésanges afin de réduire le risque santé publique lié à ces chenilles urticantes. Le guide décrit chaque technique avec ses avantages et inconvénients, la période d'utilisation en fonction de la phénologie locale et des spécificités biologiques, ainsi que la combinaison des méthodes comme favorable à la réduction du risque, voire atteindre le risque « 0 ».

Ce guide est largement diffusé sur internet (cf rapport technique) et par des Instituts techniques (FREDON, Plante & Cité ...).

C- PREMIERE AUTORISATION PROVISOIRE DE MISE SUR LE MARCHE DE BOX T PRO EN CONFUSION SEXUELLE

Une autorisation 120 jours de mise sur le marché a aussi été accordée pour la technologie Box T Pro (pyrale du buis) en confusion sexuelle pour la saison 2018. La firme précise que cette autorisation dérogatoire de mise sur le marché inclue dans son libellé la combinaison de la confusion sexuelle contre les papillons avec l'application d'insecticide comme le BtK contre les chenilles.

D- PINE T PRO PHEROMONE MONITORING OU LUTTE PAR PIEGEAGE DE MASSE PROCESSIONNAIRE DU PIN

La phéromone Pine T Pro est actuellement commercialisée en monitoring sous la forme microencapsulée fournie en seringue. Plusieurs fournisseurs français ou européens fournissent ce produit qui peut aussi s'utiliser en piégeage de masse en fonction de la reglementation en vigueur.

E- BOX T PRO PHEROMONE MONITORING

La phéromone Box T Pro est actuellement commercialisée en monitoring sous la forme microencapsulée fournie en seringue. Plusieurs fournisseurs français ou européens fournissent ce produit.



A.1.A.1.1.1 Edition 2014 : Contribuer à l'essor du biocontrôle PSPE2

PSPE2 Rapport Optim'Phero



F- TRANSFERT DE LA TECHNOLOGIE VERS D'AUTRES USAGES

A ce jour, la firme M2i Life Sciences a pour projet de développer les stratégies de phéromone microencapsulées et leurs modes de dépôt adaptés au végétal (Billes Pheroball, gel déposable...) et à d'autres espèces de ravageurs pour lesquelles, soit l'usage de pesticides est récurrent, soit les espèces sont à usage orphelin.

Espèces proposées pour un transfert en raison des difficultés d'accessibilité sur végétal hôte (grands arbres) et du manque de moyen de lutte hors traitement aérien ou avec turbine à partir du sol :

- Mineuse de marronnier
- Carpocapse de la noix

: La firme M2i précise qu'elle réalise des essais BPE depuis 2017 de confusion sexuelle par paintball contre ce ravageur en coopération avec les acteurs de la filière. • Carpocapse de la châtaigne

- Tordeuse du chêne
- Bombyx disparate

Espèces proposées pour un transfert en raison de leur caractère urticant (risque santé publique) et du manque de moyen de lutte hors traitement aérien ou avec turbine à partir du sol :

- Processionnaire du chêne (poursuivre les recherches de la formulation)
- Bombyx Cul Brun

La technologie de fabrication des billes de « paintball » peut servir aussi à d'autres dépôts en hauteur comme par exemple :

- Frelons asiatiques (insecticide...)
- Papillon palmivore (phéromone, répulsif, champignons entomopathogène...)
- Charançon du palmier (répulsif)

Extension aux espèces des végétaux des zones agricoles

L'INRA dans son unité expérimentale Entomologie et Forêt Méditerranéenne (UEFM) n'a pas vocation à développer des stratégies de gestion des insectes hors forêt ou zone JEVI. Néanmoins, la firme M2i Life Sciences envisage d'autres usages sur les ravageurs agricoles. Les avancées obtenus dans le cadre du projet Optim'Phero, ouvrent une « grande porte » aussi vers l'agriculture et les usages liés (arboriculture, viticulture...).

G- VERS UNE REDUCTION DE L'USAGE DES PESTICIDES

Le développement d'autres stratégies en alternative au traitement permettra à terme de réduire l'usage des pesticides. Même si les traitements aériens ne sont plus autorisés, d'autres modes de traitement à partir du sol sont utilisés comme les turbines sur pick-up ou les lances. Ces dernières étant utilisés à partir du sol ne sont pas écologiques en termes de retombés importantes et d'intrant. Le dépôt ciblé de la phéromone microencapsulée répond à une forte demande pour de nombreux ravageurs inféodés aux arbres (Pheroball) mais aussi avec des méthodes manuelles sur végétal de la strate arbustive (gel phéromonal microencapsulé).