

Rapport scientifique

Evaluation du potentiel répulsif du gros-thym contre l'aleurode Bemisa tabaci

ECOPHYTO II : Axe 2 : APR : Néonicotinoïdes

Béatrice RHINO

INTRODUCTION

En Martinique, l'aleurode *Bemisia tabaci* est un ravageur majeur des solanacées et cucurbitacées. Le SUPREME, produit phytopharmaceutique à base d'acétamipride est utilisé pour lutter contre ce bioagresseur.

Le gros-thym (*Plectranthus amboinicus*) est une plante aromatique et médicinale très commune en Martinique. Son composé principal, le carvacrol, est connu pour être répulsif pour *B. tabaci*. De précédentes études avaient montré que cette plante n'était pas hôte de *B. tabaci* et l'impact des bordures de gros-thym, associées à la culture de tomate, sur l'abondance de *B. tabaci* dans la parcelle de tomate variait selon la zone d'étude.

L'objectif du projet était d'évaluer le potentiel insectifuge des composés volatils sur l'aleurode *B. tabaci*, selon la zone pédoclimatique d'origine des plants. La première expérimentation a été menée en olfactométrie pour étudier le comportement de *B. tabaci* en présence d'extraits de gros-thym. La deuxième expérimentation, prévue initialement en plein champ sur la station expérimentale du CIRAD n'a malheureusement pas pu être menée à terme car deux semaines après la plantation, les parcelles ont été infectées par la bactérie tellurique *Ralstonia solanacearum*, agent du flétrissement bactérien de la tomate et certaines parcelles ont eu jusqu'à 50% de plants de tomate flétris. Par conséquent, une nouvelle expérimentation a été menée sous serre, en modules insect-proof, pour évaluer le choix des aleurodes entre la tomate en culture pure et la tomate associée au gros-thym.

METHODOLOGIE

- Matériel biologique

En juin 2018, nous avons collecté des plants cultivés dans trois zones pédoclimatiques de la Martinique (Tableau 1)

Code plants gros-thym	GT1	GT2	GT3
Région de collecte	Le François (Centre)	Sainte-Anne (Sud)	Bellefontaine (Nord-caraïbe)
Coordonnées	14.36N, 60.54W	14.26N, 60.52W	14.42N, 61.10W
Températures normales annuelles (mini/maxi) ¹	25 – 29°C	24 – 30°C	22 – 31°C
Précipitations 2017 (mm) ²	1956	1793	2363
Sols ³	Sols rouges à montmorillonite	Vertisols	Sols à alluvions sableuses

¹ Source : <http://www.meteofrance.gp/climat/antilles-guyane>

² METEO-France (2017) Bulletin climatique annuel Martinique 2017

³ Venkatapen, Corinne (2012). Étude des déterminants géographiques et spatialisation des stocks de carbone des sols de la Martinique. Thèse de doctorat. Antilles-Guyane.

Des boutures ont été faites à partir des plantes-mère des trois zones, nous avons produit environ 300 plants/zone, sur notre station expérimentale situé au Lamentin (coordonnées : 14.62N, 60.97W ; sol brun-rouille à halloysite ; températures normales annuelles 23 – 30° ; précipitations 2018 : 1984mm). Les boutures ont été faites en pépinière, dans du terreau. Environ un mois après le bouturage, les plants étaient soit plantés en plein champ ou repiqués en pots dans du sol. Les pots étaient placés en conditions de plein champ, c'est-à-dire hors serre, sans ombrage et avec un arrosage d'appoint hebdomadaire si nécessaire.

Des extraits de gros-thym ont été réalisés à partir de nos plants pour les tests de répulsivité. Des huiles essentielles ont été faites par le PARM (Pôle Agroressources et de Recherche de Martinique). Nous avons effectué des extraits éthanoliques à partir de piégeage de composés organiques volatiles (COVs) fait individuellement sur des plants pendant 24h avec un extracteur de volatiles (PVAS11 - Volatile Assay System) et des pièges de polymère HayeSep Q qui ont été désorbés avec 200µL d'éthanol pur.

La variété de tomate utilisée dans les essais était Heatmaster (Petoseeds). Les plants ont été achetés chez un pépiniériste

Pour les tests en olfactométrie, les aleurodes ont été collectés dans des champs de melon au sud de la Martinique. Les collectes se faisaient mensuellement afin d'avoir une bonne diversité de la population et aussi une bonne vigueur des adultes. Les aleurodes étaient maintenus en élevage dans des cages insect-proof avec trois à quatre plants de tomate, au laboratoire d'entomologie du CIRAD avec les conditions suivantes : température $24 \pm 1^\circ \text{C}$; photopériode 12 :12 ; humidité relative de 70%. Pour les tests de choix, les aleurodes étaient collectés dans les mêmes champs et lâchés le même jour dans la serre.

- Tests de répulsivité

Les tests de répulsivité ont été réalisés selon les méthodes de Zhang et al. (2004)⁴ et Deletre et al. (2014)⁵. Nous avons utilisé des olfactomètres tubulaires verticaux en verre, sans air, mis sous une lumière blanche. L'extrait testé est placé en haut du tube et 10 à 15 aleurodes étaient déposés dans le bas du tube après avoir été préalablement endormis par le froid (-25°C) pendant 80sec. Les observations étaient réalisées 1h après avoir placé les aleurodes, on a compté le nombre d'aleurodes dans la partie haute du tube (2cm à partir du haut), dans la partie basse du tube (10cm à partir du bas) et dans la partie médiane. Une solution de 60µL contenant l'extrait était appliquée sur un filtre en papier et une feuille de tomate ; les filtres et les feuilles étant

⁴ Zhang, W., McAuslane, H. J., Schuster, D. J. (2004). Repellency of ginger oil to *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato. *Journal of economic entomology*, 97(4), 1310-1318.

⁵ Deletre Emilie, Chandre Fabrice, Menut Chantal, Martin Thibaud. 2014. Composés naturels bioactifs contre l'aleurode *Bemisia Tabaci* In : 10e Conférence internationale sur les ravageurs en agriculture, Montpellier, France, 22 et 23 octobre 2014. AFPP. s.l. : s.n., 11 p. Conférence internationale sur les ravageurs en agriculture. 10, Montpellier, France, 22 Octobre 2014/23 Octobre 2014.

découpés en disque d'un diamètre de 2,5cm. Les huiles essentielles ont été testées à trois doses (ng/60µL de solution) : 50, 100, 200 avec 15 répétitions chacune. Les COVs ont été extraits individuellement sur 15 plants/zone et 60µL de la solution éthanolique ont été appliqués sur les filtres et feuilles. Avant de disposer les filtres et folioles de tomate dans les tubes, ils étaient placés sous hotte aspirante pendant 15mn pour séchage. Nous avons travaillé par série de 7 à 9 olfactomètres en incluant un tube vide ne contenant que les aleurodes qui était le tube de contrôle, un tube « filtre + éthanol » et/ou « feuille de tomate + éthanol » qui étaient les témoins auxquels seraient comparés les modalités. Les résultats de chaque modalité ont été analysés avec un modèle linéaire mixte généralisé (GLMM) binomial comprenant un facteur fixe à trois niveaux (extrait testé, tube vide, tube témoin).

- Tests de choix

Les essais ont été réalisés sous serre, dans un module insect-proof d'une superficie de 60 m². Il y avait trois lots de quatre bacs de culture d'une superficie de 1,3 m² chacun et contenant 0.18 m³ de sol. Dans chaque bac nous avons disposé neuf plants de tomates ou neuf plants de tomate + neuf plants gros-thym. Nous avons testé les modalités (tomate & gros-thym origine Sud ; tomate & gros-thym origine Centre ; tomate & gros-thym origine Nord-Caraïbe, tomate) soit avec des plantes entières de gros-thym (7 répétitions), soit avec du mulch de gros-thym (3 répétitions). Une répétition était équivalente à un lot de bacs, les répétitions étaient réalisées à différentes dates et les modalités sont distribuées aléatoirement à chaque répétition. Les aleurodes, collectés sur le jour même sur des cultures de melon, étaient lâchés au centre du dispositif. Nous avons lâché en moyenne 200 aleurodes/répétition. Des observations sur l'abondance des adultes dans les bacs ont été réalisées 3h, 24h et 96h après les lâchers et le dénombrement des pontes a été effectué sur les trois premières feuilles de tomate (1/3 supérieur), sous loupe binoculaire, à 96h. Les résultats ont été analysés avec un GLMM - loi négative binomiale suivi d'une comparaison multiple des moyennes selon la méthode de Tukey.

RESULTATS & DISCUSSION

- Tests de répulsivité

Huiles essentielles

Appliquées sur un filtre, HE GT1 (origine centre) aux doses 100 et 200ng et GT2 (origine sud) à la dose de 200ng, par rapport au témoin (filtre + éthanol), ont eu des proportions d'aleurodes présents dans les parties hautes significativement inférieures et, dans les parties basses, les proportions étaient significativement supérieures de celles du témoin (Figure 1). Selon Deletre et al. (2014), le produit testé est répulsif lorsque les aleurodes restent dans la partie basse du cylindre. On peut donc dire que ces modalités sont répulsives pour les aleurodes, la proportion des aleurodes dans la partie basse variant de 22 à 34% alors qu'elle était de 15% pour le témoin. Toutefois,

on peut supposer que HE GT3 (origine nord-caraïbe) a aussi un effet négatif sur les aleurodes puisqu'aux doses 100 et 200ng, les proportions d'aleurodes présents dans les parties hautes étaient significativement inférieures à celles du témoin même si les proportions des parties basses ne sont pas significatives. Cet effet semble moins important que celui des deux autres HEs aux doses précitées puisque la proportion moyenne de GT3 aux doses 100 et 200ng dans la partie haute variait de 56 à 60% alors moins de 50% des aleurodes se trouvaient dans la partie haute du tube pour les meilleures modalités.

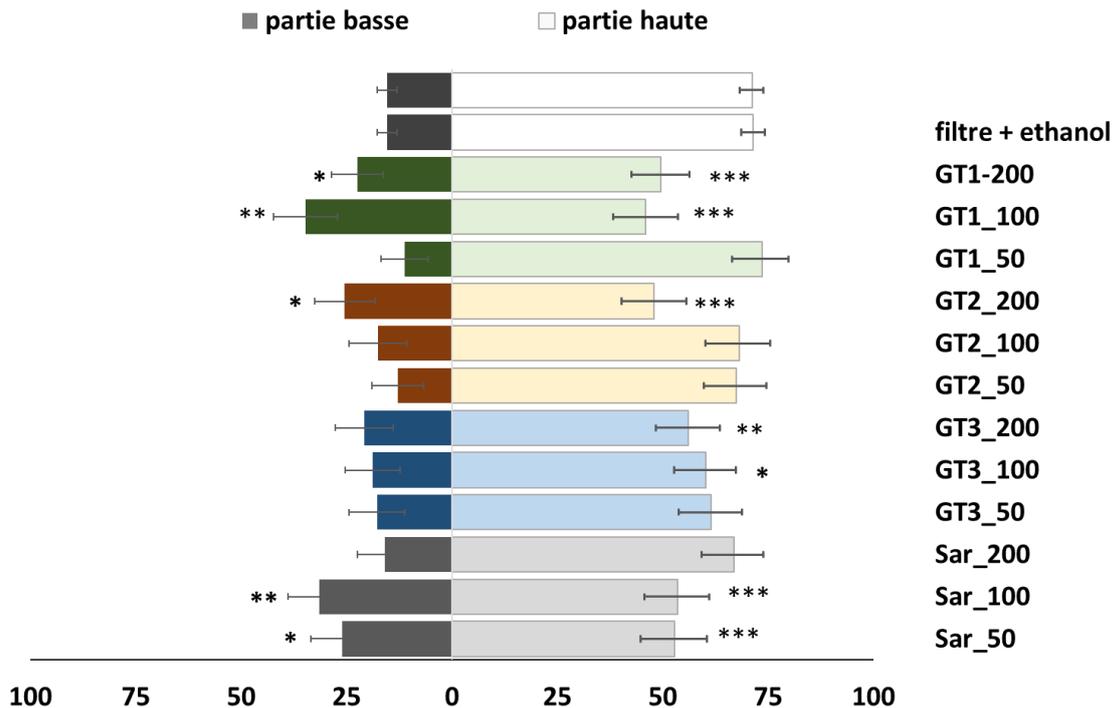


Figure 1 : proportion moyenne (avec intervalle de confiance) des aleurodes dans les parties hautes et basses du tube selon les solutions d'huiles essentielles appliquées sur filtre [Sar(sariette), GT1(gros-thym origine centre), GT2 (gros-thym origine sud), GT3 (gros-thym origine nord-caraïbe)] et les différentes doses de HE (50, 100 et 200ng). Significativité du test de rapport de vraisemblance (likelihood ratio test) : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

On a observé également un effet répulsif significatif de HE sariette à 50ng et 100ng (figure 1). La proportion moyenne d'aleurodes dans la partie haute du tube était 1,4 fois plus faible que dans celle du témoin et la proportion dans la partie basse variait de 26 à 31%. Toutefois nous n'avons pas observé d'effet à la dose de 200ng. Il n'y a pas de réponse linéaire des neurones récepteurs olfactifs (ORN) de l'insecte à la concentration d'une odeur et ces récepteurs peuvent être saturés en cas de forte concentration.⁶ On suppose donc qu'à cette dose, les ORNs des aleurodes étaient saturés et, par conséquent, les insectes ne pouvaient plus distinguer les odeurs.

⁶ Galizia C. G. (2014). Olfactory coding in the insect brain: data and conjectures. The European journal of neuroscience, 39(11), 1784–1795. doi:10.1111/ejn.12558

Sur la tomate, pour toutes les doses, HE GT1 a eu des proportions d'aleurodes présents dans les parties hautes significativement inférieures à celles du témoin (feuille de tomate + éthanol) et dans les parties basses, les proportions étaient significativement supérieures de celles du témoin (Figure 2). Les proportions variaient de 40 à 50% dans la partie haute et de 30 à 41% dans la partie basse. Pour les autres HEs du gros-thym, GT2 et GT3, la répulsivité n'a été observée qu'à 100ng avec moins de 50% d'aleurodes dans la partie haute et plus de 30% d'aleurodes dans la partie basse. Le mélange des odeurs de la tomate et de HE GT1 à la dose de 50ng et de la tomate de la tomate avec GT2 à la dose 100 est répulsif alors que cette dose n'était pas répulsive sur le filtre et que l'odeur de la tomate est attractive pour l'aleurode. Selon Delétré (2016)⁷, cela s'expliquerait par le ratio entre les différentes molécules dans ce panache d'odeur entraînant une confusion d'odeurs chez l'aleurode. La non répulsivité de GT3 et GT2 à la dose de 200ng, alors qu'elles étaient répulsives sur le filtre, pourrait s'expliquer l'hypothèse du changement de ratio ou par une réaction de l'huile essentielle avec la feuille de tomate ayant pour conséquence la production de composés volatils pouvant saturer les récepteurs olfactifs de l'insecte.

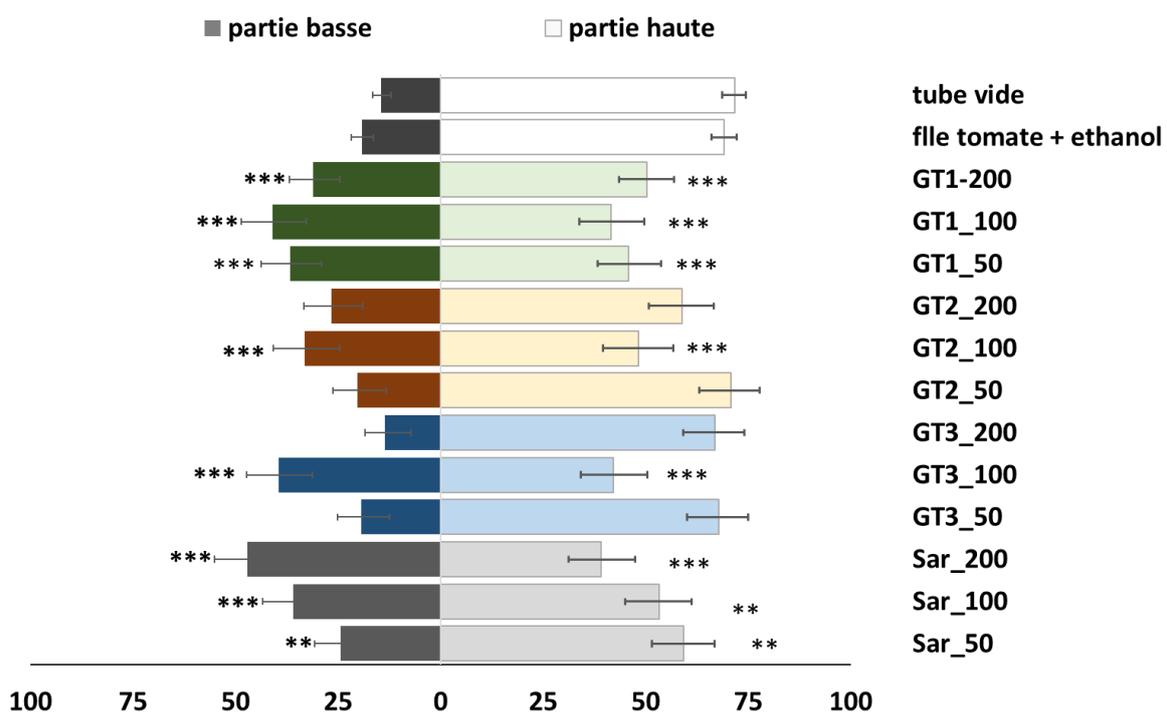


Figure 2 : proportion moyenne (avec intervalle de confiance) des aleurodes dans les parties hautes et basses du tube selon les huiles essentielles appliquée sur feuille de tomate [Sar(sariette), GT1(gros-thym origine centre), GT2 (gros-thym origine sud), GT3 (gros-thym origine nord-caraiïbe)] et les doses (50, 100 et 200ng). Significativité du test de rapport de vraisemblance (likelihood ratio test) : * p<0,05 ; ** p<0,01 ; ***p<0,001

⁷ Deletre, E., Schatz, B., Bourguet, D., Chandre, F., Williams, L., Ratnadass, A., & Martin, T. (2016). Prospects for repellent in pest control: current developments and future challenges. *Chemoecology*, 26(4), 127-142.

On a également observé un effet répulsif significatif de HE sariette appliquée sur feuille de tomate, pour toutes les doses (figure 2). L'effet le plus important a été obtenu avec la dose 200ng, la proportion d'aleurodes dans la partie haute du tube était de 40% avec un taux de non réponse de 47%.

Composés organiques volatiles collectés sur les plants

Sur filtre, seuls les COVs des plants de GT2 (sud) ont eu un effet répulsif ($p < 0.01$) ; 58% (IC = 50-66%) des aleurodes étaient dans la partie haute et le reste des aleurodes était réparti entre la partie médiane (20% & IC = 14-27%) et la partie basse (22% & IC = 16-20%). Les huiles essentielles étant plus concentrées que les extractions de volatiles par piégeage, on suppose que les solutions obtenues avaient de faible concentration.

Sur la tomate, les proportions des COVs dans les parties hautes et basses étaient significativement différentes de celles du témoin (tomate + éthanol) (Figure 3). Les COVs de GT1(centre) ont eu le meilleur effet répulsif, il y avait 41% des aleurodes dans la partie haute et 40% dans la partie basse. Les différences d'effets entre le filtre et la tomate pour GT1 et GT3 s'expliqueraient par la confusion d'odeur.

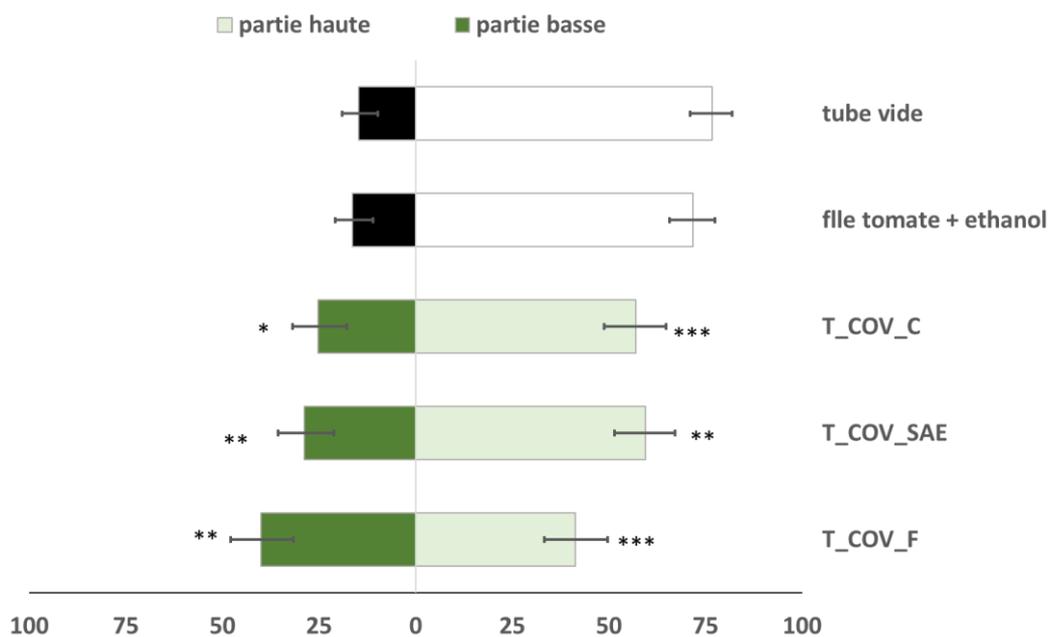


Figure 3 : proportion moyenne (avec intervalle de confiance) des aleurodes dans les parties hautes et basses du tube selon les extraits éthanoliques de COVs appliqués sur feuille de tomate [GT1(gros-thym origine centre), GT2 (gros-thym origine sud), GT3 (gros-thym origine nord-caraïbe)]. Significativité du test de rapport de vraisemblance (likelihood ratio test) : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

- Tests de choix

L'abondance des aleurodes dans les bacs étaient significativement différents 3h ($p < 0.05$), Le nombre d'aleurodes présents dans le bac ayant de la tomate associée à GT2 (sud) était significativement inférieur à celui du bac avec de la tomate seule ; les moyennes respectives étaient égales à 38.8 ± 8.4 et 69.4 ± 19.3 . Seulement 15% (IC = 13-17%) des aleurodes étaient observés dans le bac avec l'association tomate-GT2 contre 26% (IC=24-28%) dans le bac n'ayant que de la tomate.

Pour les tests avec des plants de tomates associés à du mulch de gros-thym, les résultats montrent aussi le nombre d'aleurodes dénombrés était significativement différent selon les associations à 3h et 24h après les lâchers ($p < 0,05$). Il y avait 2 fois moins d'aleurodes présents dans le bac ayant de la tomate associée à mulch de GT2 que dans celui avec de la tomate seule (Figure4). Les proportions moyennes d'aleurodes observés dans le bac ayant l'association tomate-GT2 étaient, respectivement à 3h et 24h, de 16% (IC = 13-20%) et 15% (IC = 12-18%) contre 31% (IC=26-35%) et 23% (IC=19-27%) dans le bac n'ayant que de la tomate.

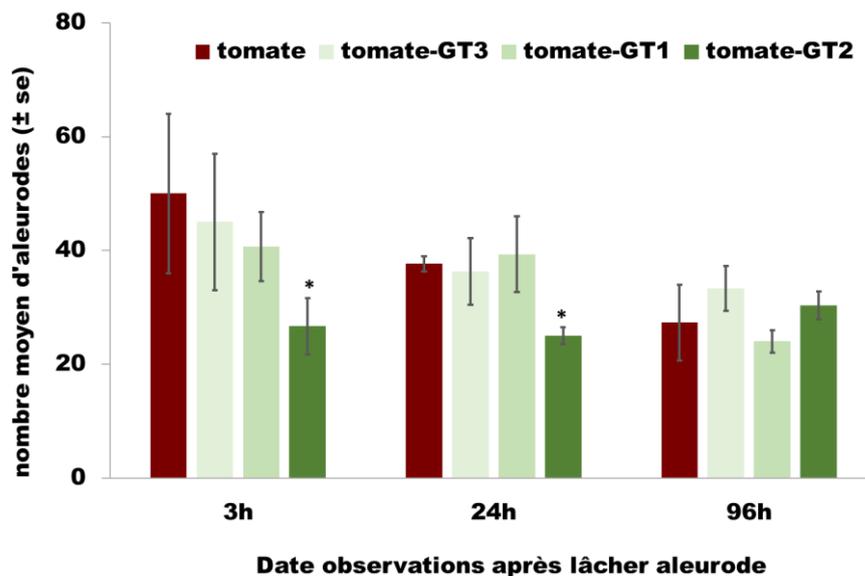


Figure 4 : Abondance des aleurodes selon les associations de culture dans les bacs sous serre [tomate, tomate-mulchGT1(gros-thym origine centre), tomate-mulchGT2 (gros-thym origine sud), tomate-mulchGT3 (gros-thym origine nord-caraïbe)]. Significativité des comparaisons des moyennes selon Tukey : * $p < 0,05$

Les résultats ne montrent pas de différence significative entre les associations lorsque les plants de tomate sont associés aux plants gros-thym alors qu'il y a des différences significatives lorsque les plants de tomate sont associés à des mulchs de gros-thym ($p < 0,01$). Les pontes sont 2 fois moins importantes dans le bac ayant des plants de tomate associés au mulch de GT2 (sud) que dans celui où la tomate est seule (moyenne tomate-GT2 : 99.3 ± 29.7 ; moyenne tomate seule : 213.7 ± 27.8).

Les proportions moyennes des pontes observées dans le bac ayant l'association tomate-GT2 étaient, de 14% (IC = 13-16%) contre 31% (IC=29-33%) dans le bac n'ayant que de la tomate.

En conclusion, seul le gros-thym originaire du sud de la Martinique (GT2) associé à la tomate soit en plante entière ou en mulch a permis de réduire l'abondance des aleurodes sur la tomate par rapport à une culture pure de tomate. Le mulch de GT2 a aussi permis de réduire les pontes d'aleurodes sur tomate par rapport à une culture pure. Ces résultats sont concordants avec ceux obtenus en olfactométrie et montrant que seul les COVs de GT2 avaient un effet répulsif vrai.

Toutefois, il faut noter que faute de temps, nous avons fait le choix de faire des tests de choix multiples afin de faire le plus de répétitions possible compte tenu de la grande variabilité observée sur les données. Celle-ci peut s'expliquer par la variabilité observée entre les plants de gros-thym même lorsqu'ils sont produits à partir de mêmes plantes-mères. Or, nous avons testé en même temps les 3 origines de gros-thym alors qu'en olfactométrie nous avons testés les extraits de gros-thym individuellement. De plus, les aleurodes percevant les odeurs sur de très faibles distances, les bacs étaient rapprochés et cela peut avoir eu pour effet une saturation d'odeur pour les aleurodes. Lors d'une prochaine étude, on pourrait envisager de refaire de nouveaux tests avec le même dispositif mais seulement 2 modalités, tomate seule et tomate + gros-thym (1 origine par série)

CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

Ce projet exploratoire a permis de montrer l'intérêt des huiles essentielles de gros-thym quelle que soit l'origine du gros-thym comme répulsif pour *B. tabaci*. Nous avons fait le choix de produire nos plants au même endroit, pour ne pas avoir d'effet terroir et vérifier s'il y avait des chémotypes chez *P. amboinicus* en Martinique. Dans les trois huiles produites par le PARM nous avons retrouvé du carvacrol comme 1^{er} composé majeur. De ce fait, on pourrait avoir une huile essentielle à partir de plants de gros-thym collectés sur tout le territoire. Une étude pourrait être menée dans des serres de cultures de solanacées ou de cucurbitacées avec des diffuseurs.

Les plants de gros-thym originaires du sud de la Martinique semblent plus répulsifs, Cela pourrait s'expliquer par les conditions dans lesquelles les plants-mère étaient cultivés et de leurs réponses aux stress. Par conséquent, l'utilisation de la plante comme plante de service nécessiterait une étude faite dans différentes zones pédoclimatiques avec ces plants et selon différentes pratiques culturales afin de valider son potentiel.