

2017-2018

Master 1 Biologie Végétale

LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LE CARPOCAPSE DE LA CHÂTAIGNE

TEST DE SOLUTIONS DE BIOCONTRÔLE EN
LABORATOIRE ET EN VERGER

GABILLARD Claire |

Sous la direction de Mme |
LEBARBIER Nathalie

Membres du jury
BOUREAU Tristan | Tuteur
LE PAVEN Marie Christine | Auditrice
MONTRICHARD Françoise | Présidente du jury



2017-2018

Master 1 Biologie Végétale

LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LE CARPOCAPSE DE LA CHÂTAIGNE

TEST DE SOLUTIONS DE BIOCONTRÔLE EN
LABORATOIRE ET EN VERGER

GABILLARD Claire |

Sous la direction de Mme |
LEBARBIER Nathalie

Membres du jury
BOUREAU Tristan | Tuteur
LE PAVEN Marie Christine | Auditrice
MONTRICHARD Françoise | Présidente du jury



L'auteur du présent document vous autorise à le partager, reproduire, distribuer et communiquer selon les conditions suivantes :



- Vous devez le citer en l'attribuant de la manière indiquée par l'auteur (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'il approuve votre utilisation de l'œuvre).
- Vous n'avez pas le droit d'utiliser ce document à des fins commerciales.
- Vous n'avez pas le droit de le modifier, de le transformer ou de l'adapter.

**Consulter la licence creative commons complète en français :
<http://creativecommons.org/licences/by-nc-nd/2.0/fr/>**

Ces conditions d'utilisation (attribution, pas d'utilisation commerciale, pas de modification) sont symbolisées par les icônes positionnées en pied de page.



REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Sébastien Cavaignac de m'avoir acceptée au sein du Pôle Châtaigne d'Invenio pour la réalisation de ce stage.

Je remercie aussi particulièrement ma maître de stage Nathalie Lebarbier de m'avoir accueillie à Douville et d'avoir partagé ses connaissances sur la filière castanéicole. Merci pour sa volonté à m'expliquer ses activités et pour ses réponses à mes questions. J'ai apprécié passer du temps à nos ateliers bricolage et aux essais en compagnie des torymus et des carpocapses.

Merci à Isabelle pour sa présence et son accueil chaleureux.

Merci également à l'ensemble du personnel d'Invenio et du Ciref pour leur accueil et leur sympathie.

Enfin merci à mes collègues stagiaires, Mamadou et Maxime, aussi colocataires, ainsi qu'à Élodie pour leur compagnie.

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné(e) Claire GABILLARD
déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant(e) le 27/ 06 / 2018

Glossaire

balanin : *Curculio elephas*, petit insecte phytophage dont la larve est responsable de châtaignes véreuses.

carpocapse : *Cydia splendana*, petit papillon dont la larve se développe dans le fruit de certains arbres (notamment les châtaignes) donnant alors des fruits véreux.

chancre : altération de l'écorce due ici à un champignon, *Cryphonectria parasitica* qui provoque un dessèchement et la mort des parties supérieures au point contaminé.

confusion sexuelle : méthode de lutte contre les ravageurs consistant à diffuser des phéromones femelles de synthèse dans l'air afin d'empêcher les mâles de localiser les femelles et ainsi limiter l'accouplement.

cynips : *Dryocosmus kuriphilus*, petite guêpe dont la larve se développe dans les bourgeons et provoque des galles (excroissances) entraînant une baisse de la production fruitière.

diapause : arrêt temporaire de l'activité ou du développement chez les insectes, en hiver, ou à la saison sèche, ou en cas de carence alimentaire (larousse.fr)

encre : altération des racines et du collet due à des micro-organismes du genre *Phytophthora* entraînant un dessèchement et la mort de l'arbre.

futaies : forêts d'arbres provenant d'une graine donnant généralement un tronc unique (fût).

souches hypovirulentes : souches d'un pathogène dont la virulence est réduite ce qui, dans le cas du chancre de l'écorce, permet à l'arbre de cicatriser la lésion.

taillis : végétation arborescente basse issue de rejets de souches obtenus après coupe.

tordeuse : *Pammene fasciana*, petit papillon dont la larve cause la perte des bogues infestées qui tombent prématurément.

torymus : *Torymus sinensis*, petite guêpe parasitoïde pondant ces œufs dans les larves de cynips.

Table des matières

LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LE CARPOCAPSE DE LA CHÂTAIGNE.....	2
1. Introduction.....	2
1.1. Présentation d'Invenio.....	2
1.2. Le châtaignier : <i>Castanea spp.</i>	3
1.3. Le carpocapse de la châtaigne : <i>Cydia splendana</i>	4
1.4. Des solutions de biocontrôle pour lutter contre <i>Cydia splendana</i>	6
a) Champignons entomopathogènes.....	6
b) Nématodes entomopathogènes.....	6
2. Matériels et Méthodes.....	8
2.1. Obtention des carpocapses.....	8
2.2. Dispositif expérimental de l'essai au laboratoire.....	8
2.3. Dispositif expérimental de l'essai au verger.....	9
3. Résultats.....	10
3.1. Résultats de l'évaluation des lots.....	10
3.2. Résultats de l'essai au laboratoire.....	11
3.3. Résultats de l'essai au verger.....	12
4. Discussion.....	12
4.1. Augmenter la viabilité des larves récoltées.....	12
4.2. Diminuer les contaminations des larves récoltées.....	12
4.3. Observer les résultats en verger.....	13
4.4. Confirmer la cause de la mort des larves.....	13
5. Conclusion.....	15
6. Bibliographie.....	16

Table des figures

Figure 1 : carte de l'implantation des différents sites d'Invenio en France

Figure 2 : répartition de la production française de châtaignes en 2016

Figure 3 : cycle de vie de *C. splendana*

Figure 4 : carpocapse adulte

Figure 5 : larves de carpocapse

Figure 6 : cocons de carpocapse

Figure 7 : verger âgé de châtaigniers ayant une structure fermée

Figure 8 : mode d'action des champignons entomopathogènes

Figure 9 : larve de carpocapse infectée par *Beauveria bassiana*

Figure 10 : larves de carpocapse infectées par *Beauveria bassiana*

Figure 11 : mode d'action des nématodes entomopathogènes

Figure 12 : substrat contenant *Steinernema carpocapsae*

Figure 13 : substrat contenant *Steinernema feltiae*

Figure 14 : larve de carpocapse infectée par des nématodes

Figure 15 : tri des cocons d'un échantillon par catégories

Figure 16 : ouverture d'un cocon rempli

Figure 17 : larve vivante lors de l'ouverture d'un cocon rempli

Figure 18 : larve morte lors de l'ouverture d'un cocon rempli

Figure 19 : préparation d'un plateau avec les barquettes

Figure 20 : comptage des cocons remplis

Figure 21 : tubes contenant chacun 60 cocons remplis

Figure 22 : humidification de la perlite

Figure 23 : préparation du mélange

Figure 24 : plateau préparé contenant deux modalités

Figure 25 : cage d'émergence posée au verger

Figure 26 : barquettes contenant des cocons non triés

Figure 27 : répartition des cocons à l'emplacement de la cage d'émergence

Figure 28 : application d'un produit de biocontrôle au pulvérisateur à main

Figure 29 : humidification d'un emplacement

Figure 30 : piège posé sur une cage d'émergence

Figure 31 : graphique représentant le pourcentage de larves mortes et de larves vivantes selon les modalités

Figure 32 : graphiques représentant le pourcentage de larves mortes par catégorie selon les modalités

Table des tableaux

Tableau I : modalités testées lors de l'essai au laboratoire

Tableau II : modalités testées lors de l'essai au verger

Tableau III : résultats de l'évaluation du lot de cocons non traités

Tableau IV : résultats de l'évaluation du lot de cocons traités

Tableau V : résultats de l'estimation du pourcentage de viabilité des cocons non traités

Tableau VI : résultats de l'estimation du pourcentage de viabilité des cocons traités

Tableau VII : résultats des tests de Kruskal-Wallis des différentes variables expliquées par la variable modalité

Tableau VIII : résultats des tests de Kruskal-Wallis des différentes variables expliquées par la variable répétition



Figure 1 : carte de l'implantation des différents sites d'Invenio en France

Source : Invenio, 2017. <https://www.invenio-fl.fr/>

Lutte biologique contre le carpocapse de la châtaigne

1. Introduction

1.1. Présentation d'Invenio

Invenio est le centre de recherche et d'expérimentation de la filière fruits et légumes de la région Nouvelle-Aquitaine. Il résulte de la fusion, en 2010, du Centre Inter-Régional d'Expérimentation Arboricole (CIREA) avec la station expérimentale spécialisée en cultures légumières et machinisme (Hortis Aquitaine). Le centre a pour mission de répondre aux besoins et aux attentes des acteurs de la filière afin d'assurer la rentabilité et la pérennité des productions. Invenio est structuré en différents pôles pour satisfaire les exigences spécifiques de chaque produit. Ils sont répartis sur différents sites implantés sur 5 départements de la région Nouvelle-Aquitaine ([Figure 1](#)) en fonction des sols et des conditions climatiques. Aujourd'hui, il est nécessaire de repenser l'agriculture pour répondre aux préoccupations environnementales et aux nouvelles attentes de la société tout en travaillant à l'amélioration des productions et à la qualité des produits. Pour répondre à cette problématique, Invenio effectue des essais permettant la mise au point de nouvelles solutions à apporter aux producteurs.

Les financements d'Invenio proviennent de diverses origines. Une partie est fournie par des aides publiques. Elles émanent principalement du Conseil Régional de la Nouvelle-Aquitaine, de FranceAgriMer et du Fonds Européen de Développement Régional (FEDER). Une autre partie est fournie par la vente des productions des cultures étudiées (pour le pôle châtaigne : la vente des plants produits et des châtaignes récoltées) ainsi que par les prestations de services, par exemple en biocontrôle (lutte contre le [carpocapse*](#) avec la pose de [confusion sexuelle*](#), lutte contre le [cynips*](#) avec l'élevage et la vente de [torymus*](#) et lutte contre le [chancre*](#) avec la vente de [souches hypovirulentes*](#)). Enfin, la dernière partie provient d'une cotisation fournie par les producteurs adhérents d'Invenio.

Le site de Douville situé en Dordogne comprend deux pôles : le pôle fraise et le pôle châtaigne. Chaque pôle est géré par un comité de pilotage. Celui-ci est constitué de producteurs et de l'équipe référente d'Invenio spécialiste du sujet (ingénieurs, chargés de programme...). Ils décident de la répartition des financements des expérimentations selon leurs besoins et leurs attentes. Le pôle châtaigne est composé d'un laboratoire de culture in vitro et d'une pépinière qui permettent la production de jeunes plants de châtaigniers. Le pôle possède également près de 14 hectares de verger de châtaigniers permettant la réalisation des différents essais : évaluation variétale, amélioration des itinéraires techniques de production (taille mécanique, pollinisation...) et expérimentations en protection contre les bioagresseurs ([cynips*](#), [carpocapse*](#), [chancre*](#)...).

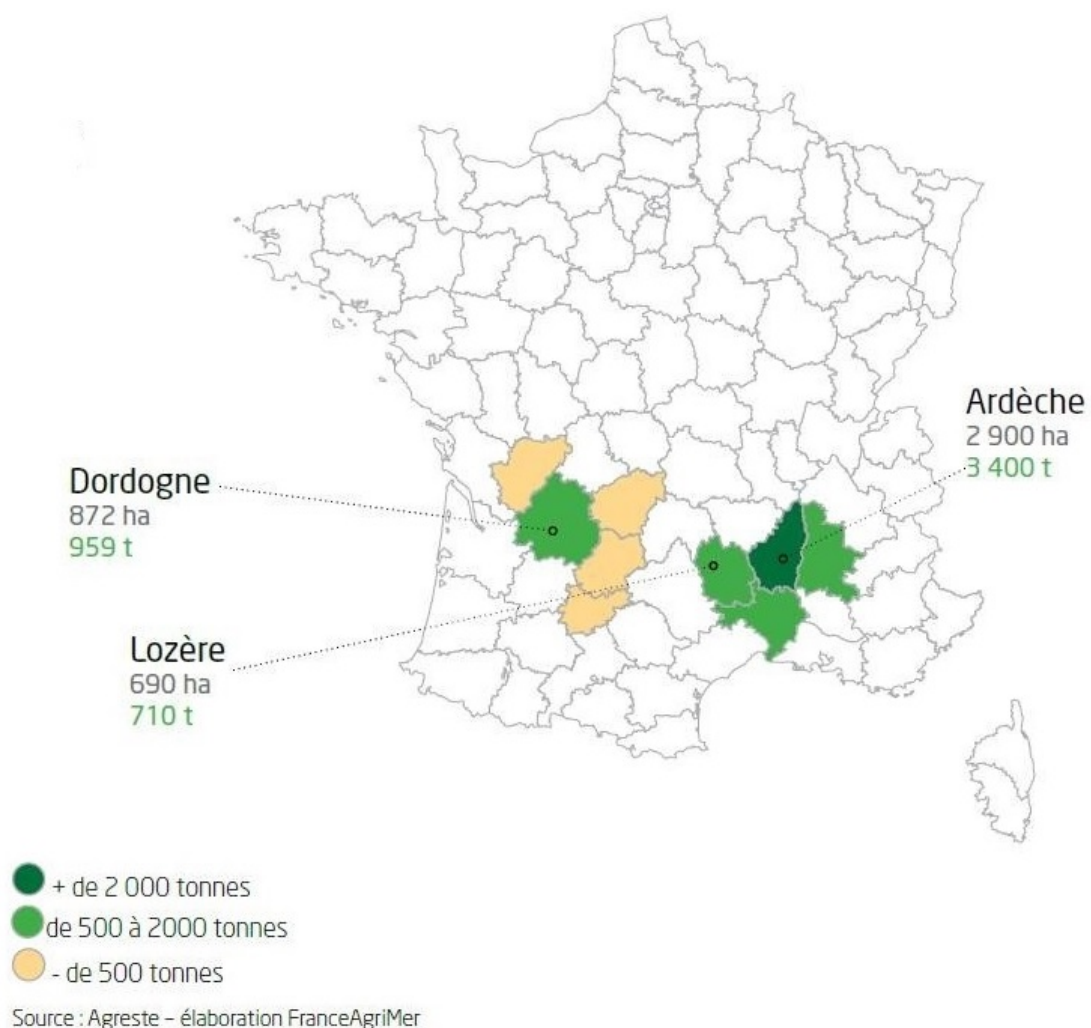


Figure 2 : répartition de la production française de châtaignes en 2016
 Source : FranceAgriMer, 2017 – Chiffres-clés des filières fruits et légumes

1.2. Le châtaignier : *Castanea spp.*

Le châtaignier est un arbre à feuilles caduques appartenant à la famille des Fagacées comme les hêtres (*Fagus*) et les chênes (*Quercus*). En France, il pousse dans les régions d'origine géologique très ancienne, constituées par des sols acides provenant des vieux massifs granitiques et schisteux : le Massif Central, le Périgord et le Limousin entre autres (Breisch, 1995). On distingue deux types de châtaigneraie : la châtaigneraie forestière et la châtaigneraie fruitière. La châtaigneraie forestière, très importante en terme de surface, est constituée essentiellement de taillis* et de futaies*. Elle n'est pas utilisée pour la récolte du fruit mais elle peut être exploitée pour son bois. La châtaigneraie fruitière est constituée de surfaces entretenues, plantées de châtaigniers sélectionnés pour la production des fruits (AREFLH, 2017). Il existe deux pôles de production qui sont localisés dans le Sud-Ouest et le Sud-Est de la France (Figure 2). Les 3 premiers départements producteurs sont l'Ardèche, la Dordogne et la Lozère (FranceAgriMer, 2017).

À la fin du XIX^e siècle, la France produisait de l'ordre de 500 000 tonnes de châtaignes. Un certain nombre de facteurs ont causé un déclin important de la production : exode rural dû à la révolution industrielle, abattages massifs pour l'industrie des tanins, concurrence de cultures comme les céréales et arrivée de maladies telles que la maladie de l'encre* ou le chancre* de l'écorce. La majorité des châtaigniers présents en France appartient à l'espèce *Castanea sativa*, le châtaignier d'Europe, mais pour lutter contre le dépérissement des châtaigniers, des espèces exotiques ont été implantées : le châtaignier japonais (*Castanea crenata*) et le châtaignier chinois (*Castanea mollissima*). Ces espèces résistantes à l'encre et au chancre ont permis de limiter les pertes économiques et de produire des variétés hybrides comme Marigoule, Marsol, ou encore Précoce Migoule qui sont issues de la pollinisation naturelle de l'espèce *C. crenata* par *C. sativa* (Breisch, 1995).

En 2016, la surface de production était de 8 142 ha et la production était de 7 800 tonnes dont près de 25 % ont été dirigées vers la transformation (Agreste, 2017). Cette production ne permet pas de répondre aux fortes demandes du marché et la France doit donc importer plus de 10 000 tonnes de châtaignes, principalement d'Espagne et d'Italie (AREFLH, 2017). Les châtaignes sont l'objet d'attaques importantes d'insectes (tordeuse*, carpocapse*, balanin*) et de pourritures qui perturbent énormément leur commercialisation (Breisch, 1995). Chaque année, 25 à 50 % des volumes de châtaignes sont perdus en raisons d'attaques de bioagresseurs. Pour exploiter le potentiel de production des châtaigneraies françaises et répondre aux besoins du marché, il est indispensable d'apporter des solutions pour diminuer les pressions exercées par ces ravageurs, notamment le carpocapse* de la châtaigne, *Cydia splendana*.

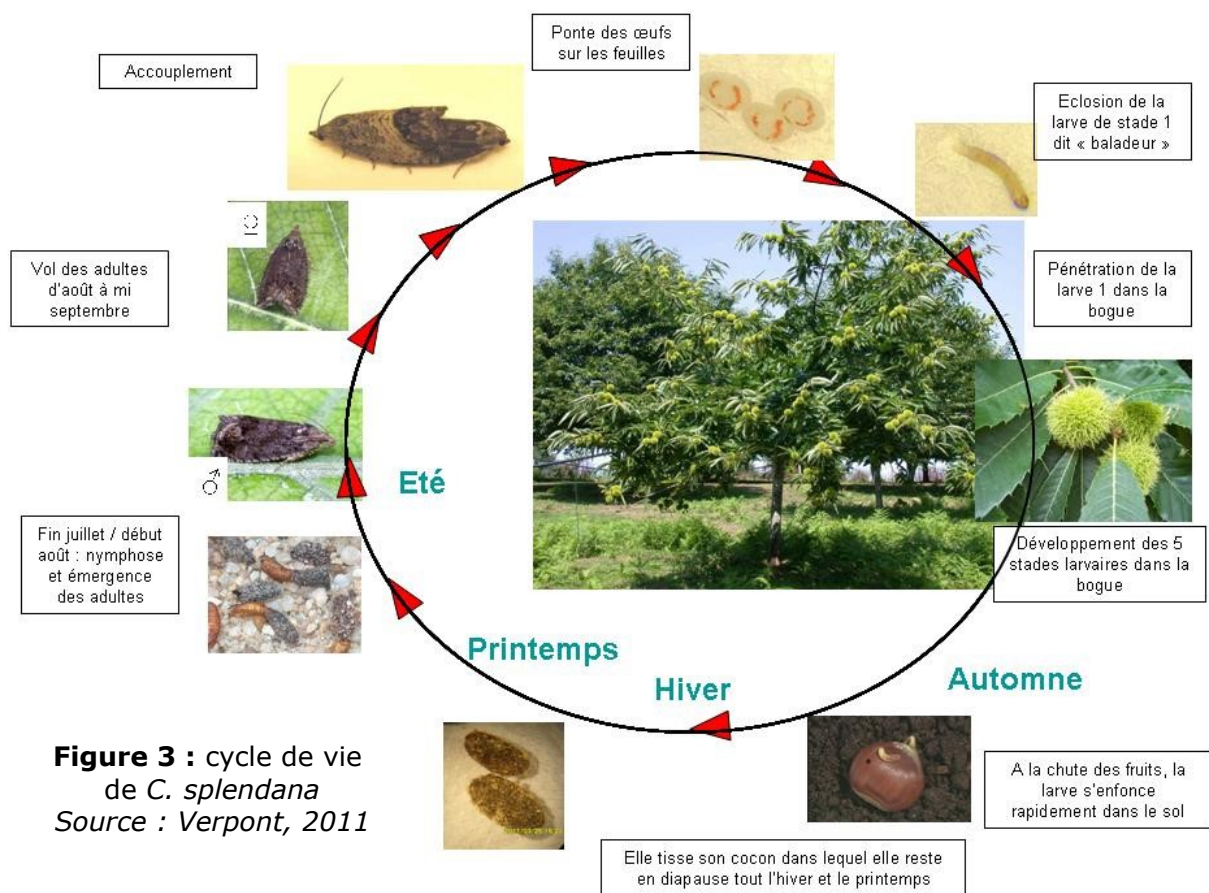


Figure 3 : cycle de vie de *C. splendana*
Source : Verpont, 2011



Figure 4 : carpocapse adulte
Source : B Sale, 2014



Figure 5 : larves de carpocapse
Source : CG, 2018



Figure 6 : cocons de carpocapse (hibernaculum)
Source : N Lebarbier, 2018

1.3. Le carpocapse de la châtaigne : *Cydia splendana*

Le carpocapse de la châtaigne est un lépidoptère (papillon) de la famille des Tortricidés. L'adulte mesure 13 à 18 mm d'envergure (HYPPZ). C'est une espèce univoltine, elle ne produit qu'une seule génération par an (Breisch, 1995). Le cycle biologique de *Cydia splendana* (Figure 3) passe par quatre stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte. Les premiers papillons (Figure 4) apparaissent dès la fin du mois de juillet et leur vol peut s'étaler jusqu'à début octobre si les conditions climatiques sont favorables. Les femelles émergent 4 jours après les mâles. Ce sont des papillons de mœurs crépusculaires et nocturnes, ils restent immobiles sur la face inférieure des feuilles durant le jour (Verpont, 2011). La ponte débute 4 à 5 jours après la sortie des femelles et leur accouplement. Chacune dépose isolément plus de 100 œufs sur la face inférieure des feuilles, au voisinage des bogues (Breisch, 1995). La durée d'incubation des œufs est variable selon les températures, 9 à 15 jours après la ponte les œufs éclosent (Verpont, 2011). Dès sa sortie de l'œuf, la jeune larve part à la recherche d'une bogue et creuse une galerie de pénétration pour se développer à l'intérieur du fruit. La croissance de la larve s'effectue en 40 à 45 jours. Peu avant de quitter le fruit, la larve (Figure 5) découpe un trou de 1,5 mm de diamètre qu'elle obstrue avec un opercule de soie. Une fois le fruit tombé, la larve sort et cherche aussitôt à s'enfouir dans le sol à une profondeur de 1 à 10 cm où elle tisse un cocon appelé hibernaculum (Figure 6) dans lequel elle restera en *diapause** jusqu'à la nymphose qui survient au cours du mois de juillet de l'année suivante (Breisch, 1995).

Le carpocapse est un ravageur important dans toutes les zones de productions de châtaignes car sa larve est responsable de châtaignes véreuses et rend les fruits impropres à la consommation. Souvent des pourritures se développent à l'intérieur des fruits infestés ce qui augmente les dégâts. Les fruits attaqués perdent toute valeur commerciale et leur proportion peut souvent dépasser 50 % de la récolte dans certaines conditions (Breisch, 1995). La présence de ces fruits attaqués déprécie la qualité de la production et nécessite des opérations de tri onéreuses ce qui représente un enjeu économique important.

En agriculture conventionnelle, un insecticide à base de molécules de synthèse est utilisé (lambda-cyhalothrine). Cependant, son utilisation se heurte à différents problèmes : pour être efficace l'insecticide doit être appliqué à proximité des rameaux en croissance. Or, les vergers âgés de châtaigniers sont fermés (Figure 7) et ont une hauteur supérieure à 20 m ce qui rend la pulvérisation depuis le sol inefficace, la pulvérisation par voie aérienne étant interdite depuis 2010. Ensuite, la prolifération du cynips dans les vergers français a nécessité le lancement d'une grande campagne de lutte biologique avec d'importants lâchers de torymus. Le cynips provoque des galles sur les rameaux, ce qui cause des dégâts considérables et entraîne une forte diminution de production fruitière. Le seul recours actuellement viable est le torymus qui parasite les larves de cynips. Cette lutte biologique exclut toute possibilité de recours à la lutte chimique car elle pourrait impacter l'installation du torymus et engendrer de fortes répercussions sur la production de châtaignes. Enfin, de plus en plus de producteurs souhaitent se convertir en agriculture biologique pour répondre à la forte demande des distributeurs qui ont besoin de plus de volume de châtaignes pour alimenter le marché en biologique et ainsi proposer un produit en adéquation avec les attentes du consommateur.



Figure 7 : verger âgé de châtaigniers ayant une structure fermée et une hauteur supérieure à 20 m

Source : K Amblard, 2017

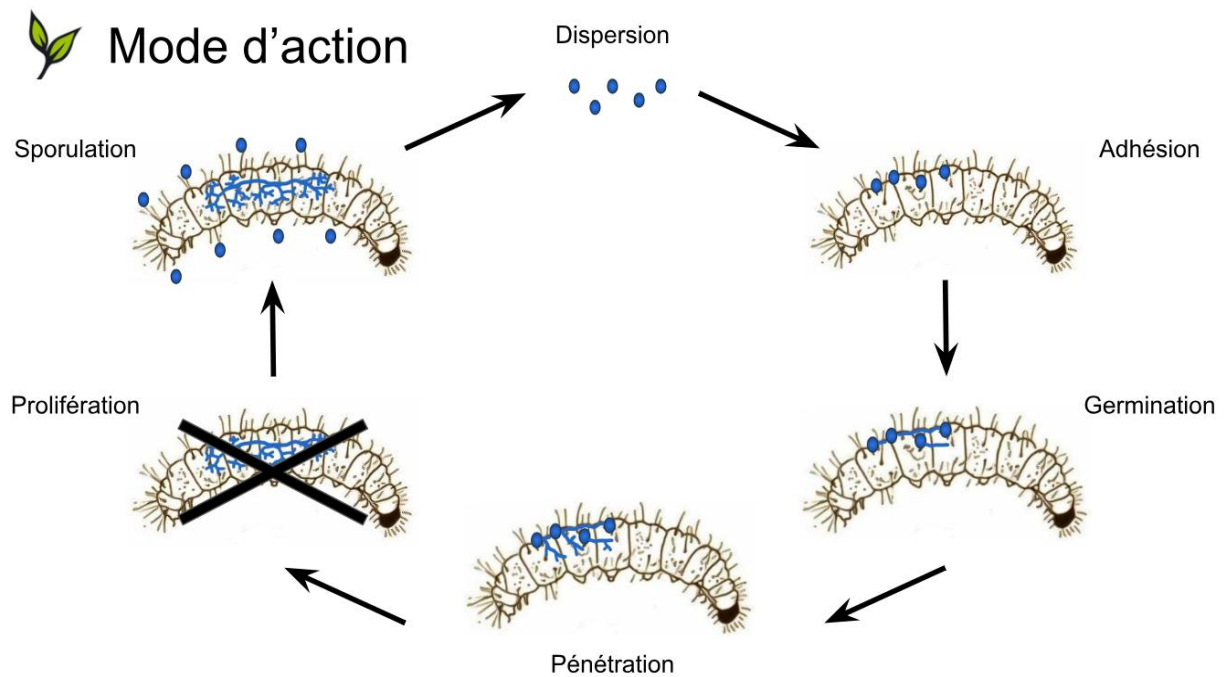


Figure 8 : mode d'action des champignons entomopathogènes

Source : CG, 2018



Figure 9 : larve de carpocapse infect e par *Beauveria bassiana* observ e   la loupe binoculaire

Source : CG, 2018



Figure 10 : larves de carpocapse infect es par *Beauveria bassiana*

Source : CG, 2018

C'est pour répondre à cette problématique que le projet Biocastanea a été lancé. Ce projet consiste à réaliser des essais avec différentes solutions alternatives (confusion sexuelle, travail du sol, produits de biocontrôle...) et à trouver une combinaison permettant de proposer une stratégie de lutte globale. L'objectif final du projet est de permettre la production de châtaignes en agriculture biologique en limitant à 15 % les pertes causées par le carpocapse. Le but de ce stage est de tester différentes solutions de biocontrôle pouvant être utilisées pour répondre à l'objectif de ce projet.

1.4. Des solutions de biocontrôle pour lutter contre *Cydia splendana*

a) Champignons entomopathogènes

Les champignons entomopathogènes sont des champignons qui provoquent une maladie chez les insectes. Ceux utilisés dans cet essai sont cosmopolites, ils possèdent une large répartition géographique et sont naturellement présents dans le sol. L'utilisation de champignons entomopathogènes en tant que produits de biocontrôle est déjà très répandue dans la filière des fruits et légumes. *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* semblent être les plus utiles contre les ravageurs grâce à leur facilité de production, de stockage et d'application (Toledo *et al.*, 2010). *Beauveria bassiana* a notamment prouvé son efficacité en tant qu'agent de lutte biologique respectueux de l'environnement contre toute une variété de ravageurs (Xia *et al.*, 2013). L'utilisation de champignons entomopathogènes comporte cependant certaines limites et contraintes. Par exemple, leur efficacité varie avec les conditions de terrain. Pour que le traitement soit réussi les champignons ont besoin de conditions environnementales favorables telles qu'une forte humidité et des températures moyennes, n'excédant pas 32°C (Xia *et al.*, 2013).

Le mode d'action des champignons entomopathogènes est illustré Figure 8. Les insectes sont infectés par les spores du champignon présents dans l'environnement. Ces spores se fixent sur un insecte. Pour germer, elles ont besoin d'un environnement avec un fort taux d'humidité (Feng *et al.*, 1994). Une fois sur l'hôte, les spores germent et forment un tube de germination qui pénètre à l'intérieur de l'insecte (Toledo *et al.*, 2010). Le succès de l'infection dépend des activités enzymatiques du champignon pour la dégradation des protéines, de la chitine et des lipides (Feng *et al.*, 1994). Même si la pénétration à travers le tégument est le mode de pénétration le plus courant, il existe également un mode d'infection par ingestion chez certains insectes (Feng *et al.*, 1994 ; Toledo *et al.*, 2010). Une fois à l'intérieur de l'insecte, le mycélium prolifère. L'hôte est tué par l'épuisement de ses nutriments et/ou par la toxémie causée par les métabolites toxiques du champignon. En plus de son effet létal, une infection par un champignon entomopathogène peut aussi avoir des effets secondaires sublétaux comme une réduction du potentiel de reproduction (Feng *et al.*, 1994). Dans des conditions favorables, le mycélium émerge et produit des spores à la surface du cadavre de l'hôte. Ces spores

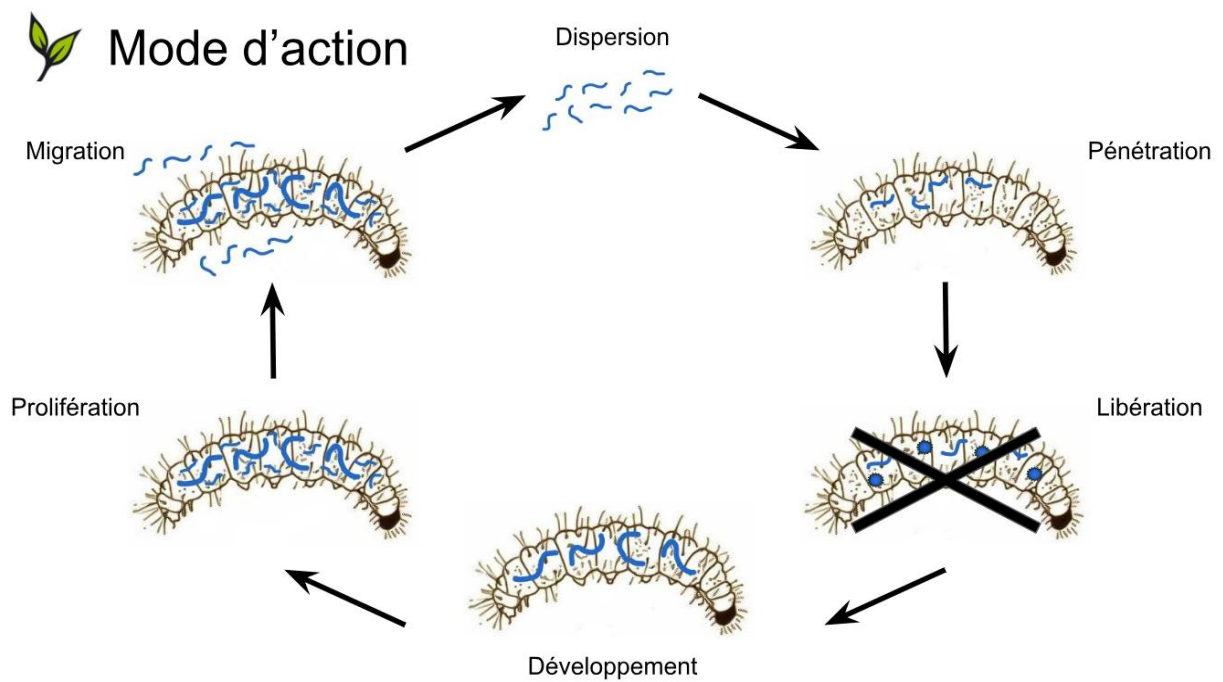


Figure 11 : mode d'action des nématodes entomopathogènes
Source : CG, 2018



Figure 12 : substrat contenant *Steinernema carpocapsae*, peu mobile
Source : CG, 2018



Figure 13 : substrat contenant *Steinernema feltiae*, assez mobile
Source : CG, 2018



Figure 14 : larve de carpocapse infectée par des nématodes observée à la loupe binoculaire
Source : CG, 2018

sont alors dispersées dans l'environnement et peuvent aller contaminer un nouvel hôte. *Beauveria bassiana*, agent de la muscadine blanche, développe un mycélium blanc (Figure 9 et 10) tandis que *Metarhizium anisopliae*, responsable de la muscardine verte, produit des spores de couleur verte.

b) Nématodes entomopathogènes

Les nématodes entomopathogènes sont des nématodes qui provoquent une maladie chez les insectes. Ils sont également déjà beaucoup employés dans la filière fruits et légumes contre toute une variété de ravageurs (Shapiro-Ilan *et al.*, 2010). Tout comme *Beauveria* et *Metarhizium*, les nématodes utilisés lors de cet essai (*Steinernema carpocapsae* et *Steinernema feltiae*) sont cosmopolites et naturellement présents dans le sol. Ils sont considérés comme non toxiques pour les humains, sont relativement spécifiques à leurs hôtes et peuvent être facilement appliqués avec un équipement standard de pulvérisation de pesticides (Tofangsazi *et al.*, 2015). L'utilisation de nématodes entomopathogènes comporte également certaines contraintes. Ils sont sensibles au rayonnement UV et à la dessiccation (Shapiro-Ilan *et al.*, 2010), il ne faut donc pas réaliser les traitements en plein soleil, veiller à ce que le taux d'humidité soit suffisamment élevé et à ce que les températures soient comprises entre 8 et 33°C.

Le mode d'action des nématodes entomopathogènes est illustré Figure 11. Les nématodes juvéniles infectieux sont en phase libre dans l'environnement (Emelianoff *et al.*, 2007) et localisent leurs hôtes grâce au dioxyde de carbone, aux vibrations et autres indices chimiques qu'ils émettent (Tofangsazi *et al.*, 2015). *Steinernema carpocapsae*, peu mobile (Figure 12), chasse à l'affût tandis que *Steinernema feltiae*, assez mobile (Figure 13), utilise une stratégie de chasse intermédiaire combinant l'affût et le déplacement (Tofangsazi *et al.*, 2015). Une fois en contact avec l'insecte, ils pénètrent à l'intérieur par leurs voies naturelles ou par perforation à travers le tégument. Les nématodes du genre *Steinernema* sont associés symbiotiquement avec des bactéries du genre *Xenorhabdus* qu'ils portent dans une vésicule intestinale (Emelianoff *et al.*, 2007). Lorsque les nématodes sont à l'intérieur de l'insecte, ils relarguent leurs bactéries qui se multiplient et produisent des toxines et des enzymes ce qui provoque la mort de l'insecte par septicémie (Tofangsazi *et al.*, 2015). Cette attaque bactérienne permet aux nématodes de débarrasser l'insecte des autres micro-organismes et de convertir les tissus en sources nutritives qui leur permettront de se développer et de se multiplier (Emelianoff *et al.*, 2007). Dès lors que les ressources sont épuisées, les nématodes se ré-associent avec les bactéries et quittent le cadavre de l'insecte pour aller chasser à nouveau (Figure 14).

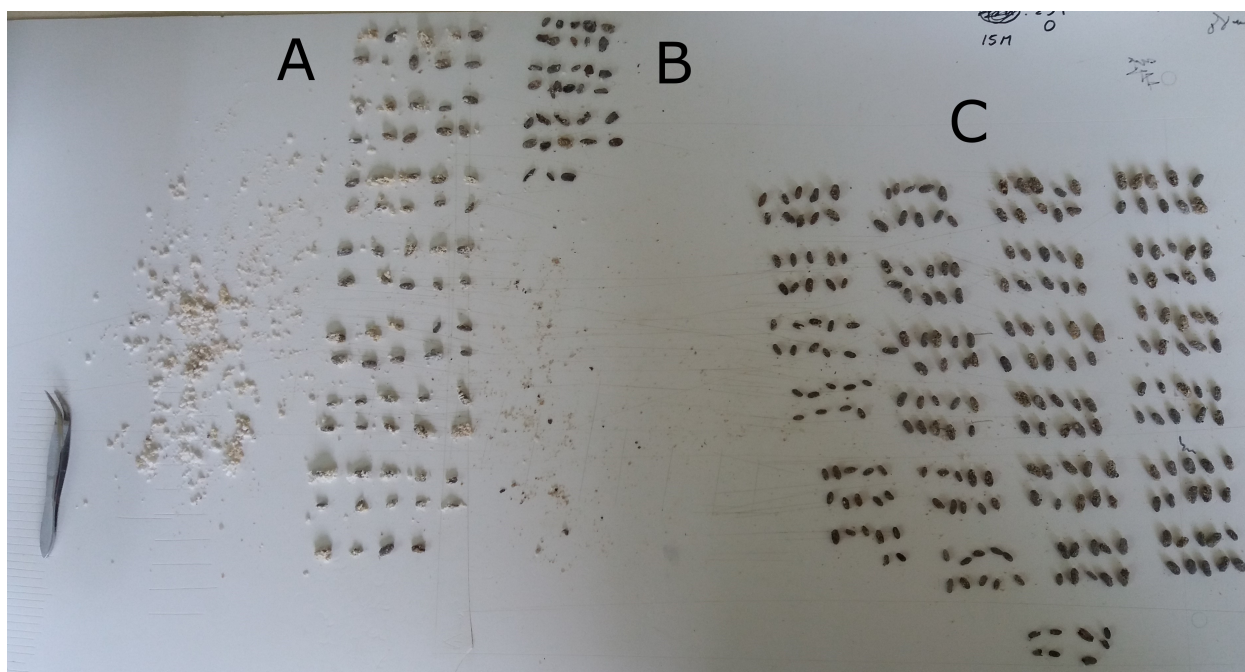


Figure 15 : tri des cocons d'un échantillon par catégories. A : cocons avec mycélium, B : cocons vides, C : cocons remplis
Source : CG, 2018



Figure 16 : ouverture d'un cocon rempli
Source : CG, 2018



Figure 17 : larve vivante lors de l'ouverture d'un cocon rempli
Source : CG, 2018



Figure 18 : larve morte lors de l'ouverture d'un cocon rempli
Source : CG, 2018

2. Matériels et Méthodes

2.1. Obtention des carpocapses

Les différents produits de biocontrôle sont testés sur des cocons de carpocapse ([Figure 6](#)) qui ont été récupérés lors de la récolte à l'automne. Les châtaignes collectées dans la région sont apportées à la coopérative et subissent un prétrempage qui consiste à verser les châtaignes dans l'eau et à éliminer tout ce qui flotte : ce sont des fruits véreux, pourris, mal développés, desséchés et donc impropres à la consommation. Une partie de ces châtaignes est récupérée et déposée sur du sable pour que les larves de carpocapse s'y enfouissent en sortant des fruits et y forment leur cocon. Ces cocons sont récupérés et sont stockés durant l'hiver et le printemps dans des boîtes contenant de la perlite. Lors de leur récupération, une partie de ces cocons a subi un traitement fongicide afin de tester l'évolution de la viabilité du lot traité avec pour objectif de récupérer plus de larves viables pour les essais. Avant le début des essais une évaluation des lots (cocons traités/non traités) est effectuée pour déterminer la viabilité des larves et ainsi estimer la quantité de cocons disponibles. Chaque lot est pesé et deux échantillons d'environ 25 g sont prélevés par lot. Les échantillons prélevés sont pesés puis les cocons sont triés par catégories : cocons avec mycélium, cocons vides et cocons remplis ([Figure 15](#)). Dans cette dernière catégorie, 50 cocons avec 5 répétitions sont ouverts pour déterminer la viabilité des larves dans les 2 lots ([Figure 16](#), [17](#) et [18](#)). Le nombre de larves vivantes dans chacun des lots peut alors être estimé. Avec le nombre de cocons disponibles, deux essais sont réalisés : un en laboratoire et un en verger.

2.2. Dispositif expérimental de l'essai au laboratoire

Il y a 7 modalités à tester : le témoin, les 3 souches de *Beauveria*, le *Metarhizium* et les 2 nématodes du genre *Steinernema* ([Tableau 1](#)). Il y a 5 répétitions qui sont effectuées par modalité et par condition (cocons traités/non traités). L'essai est réalisé dans des barquettes contenant chacune 500 mL de perlite. Elles sont conditionnées par 10 sur des plateaux. Les plateaux sont aménagés avec un film plastique au fond et enfermés dans un sac plastique pour limiter les pertes en eau dues à la ventilation de la chambre climatique dans laquelle ils seront stockés à une température de 15°C. Dans cette même optique, les barquettes sont recouvertes d'une autre barquette qui sert de couvercle ([Figure 19](#)). Les cocons remplis sont comptés et répartis par 60 dans des tubes ([Figure 20](#) et [21](#)). Les barquettes sont ensuite préparées en respectant les dosages recommandés de chaque produit. Les quantités à préparer sont calculées et ajoutées à la perlite, elle est humidifiée avec un volume de 100 mL d'eau pour 500 mL de perlite ([Figure 22](#)), le tout est mélangé ([Figure 23](#)) et réparti dans les barquettes ([Figure 24](#)). Le témoin est également humidifié avec la même quantité d'eau que les autres modalités. Les 60 cocons sont ensuite ajoutés dans chaque barquette. L'humidité des barquettes est contrôlée tout au long de l'essai et une réhumidification est effectuée lorsque cela est nécessaire. Le taux de mortalité des larves est observé à différentes dates : 7 jours après le début de l'essai, 20 cocons sont ouverts dans chaque barquette et à 14 jours, 10 cocons sont ouverts. Après 18 jours, une deuxième application des produits est

Tableau I : modalités testées lors de l'essai au laboratoire

nom	principe actif	produit	matériel biologique : <i>Cydia splendana</i>	
			cocons non traités	cocons traités
T0	Eau distillée	Témoin	1,2,3,4,5	6,7,8,9,10
T1	Beauveria bassiana	Naturalis	1,2,3,4,5	6,7,8,9,10
T2	Beauveria bassiana	souche 147	1,2,3,4,5	6,7,8,9,10
T3	Beauveria bassiana	souche 111	1,2,3,4,5	6,7,8,9,10
T4	Metarhizium anisopliae	Met52	1,2,3,4,5	6,7,8,9,10
T5	Steinernema carpocapsae	Capsanem	1,2,3,4,5	6,7,8,9,10
T6	Steinernema feltiae	Entonem	1,2,3,4,5	6,7,8,9,10



Figure 19 : préparation d'un plateau avec les barquettes contenant 500 mL de perlite
Source : CG, 2018



Figure 20 : comptage des cocons remplis
Source : CG, 2018

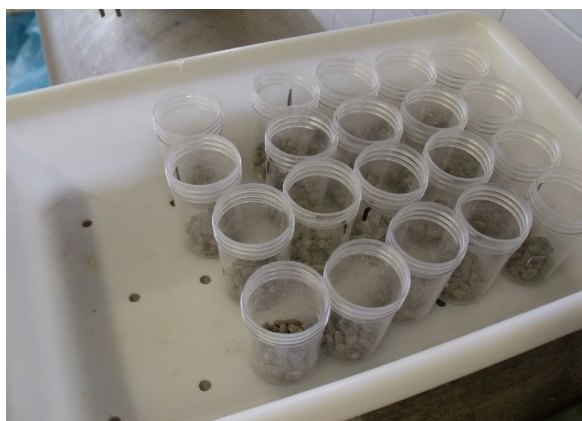


Figure 21 : tubes contenant chacun 60 cocons remplis
Source : N Lebarbier, 2018

effectuée. 14 jours après la deuxième application, 15 cocons sont ouverts dans chaque barquette et à 28 jours, 10 cocons sont ouverts pour 3 modalités : le témoin et les 2 nématodes. Les larves sont comptées par catégorie : vivantes ou mortes. Dans cette dernière catégorie, des sous-catégories sont formées : septicémie, mycélium, vides ou autres.

2.3. Dispositif expérimental de l'essai au verger

Cinq modalités sont testées : le témoin, 1 souche de *Beauveria*, le *Metarhizium* et les 2 nématodes du genre *Steinernema* (Tableau II). Il y a 2 répétitions qui sont effectuées par modalité. L'essai est réalisé sur le terrain au verger d'Invenio à Douville, dans des cages d'éclosion (Figure 25). Pour l'essai sur le terrain les cocons ne sont pas triés : un poids est calculé pour obtenir plus de 700 larves vivantes grâce à l'estimation du nombre de cocons viables réalisée lors de l'évaluation du lot. Ce poids permet de répartir les cocons dans des barquettes (Figure 26). Les cocons sont alors répartis sur l'emplacement de la cage (Figure 27) et couverts d'une fine couche de terre. Les produits à appliquer sont ensuite préparés pour respecter les dosages recommandés. Les quantités sont calculées pour être adaptées cette fois-ci à la taille de la cage. Les produits sont répartis sur le terrain. Les nématodes et le *Beauveria* sont appliqués au pulvérisateur à main (Figure 28), tandis que le *Metarhizium*, sous forme de granulés, est appliqué à la main. L'emplacement des cages est humidifié avant et après l'application des différents produits (Figure 29) puis il recouvert par la cage (Figure 25). Le taux d'éclosion des papillons adultes sera mesuré en juillet grâce aux relevés des pièges de ces cages (Figure 30).



Figure 22 : humidification de la perlite
Source : N Lebarbier, 2018



Figure 23 : préparation du mélange
Source : N Lebarbier, 2018



Figure 24 : plateau préparé contenant deux modalités
Source : N Lebarbier, 2018

Tableau II : modalités testées lors de l'essai au verger

nom	principe actif	produit	matériel biologique : <i>Cydia splendana</i>
T0	Eau distillée	Témoin	1,2
T1	Beauveria bassiana	Naturalis	1,2
T2	Metarhizium anisopliae	Met52	1,2
T3	Steinernema carpocapsae	Capsanem	1,2
T4	Steinernema feltiae	Entonem	1,2

3. Résultats

3.1. Résultats de l'évaluation des lots

À partir des données obtenues lors de l'évaluation des lots, les moyennes et les écart-types sont calculés. Les estimations pour chaque lot sont alors déterminées grâce à la règle de proportionnalité en fonction du poids des lots (Tableau III et IV). Le lot de cocons non traités contiendrait donc environ 981 cocons avec mycélium, 403 cocons vides et 2948 cocons remplis. Quant à lui, le lot de cocons traités contiendrait environ 2347 cocons avec mycélium, 1311 cocons vides et 11863 cocons remplis (plus ou moins l'écart-type correspondant). Le nombre de larves vivantes de chaque lot est ensuite déterminé à l'aide du pourcentage de viabilité obtenu lors de l'évaluation (Tableau V et VI) qui est de 92,8 % ($\pm 1,6$ %) pour le lot de cocons non traités et de 96,4 % ($\pm 1,2$ %) pour le lot de cocons traités. Le nombre de larves vivantes de chaque lot est alors calculé en multipliant le nombre de cocons remplis par ce pourcentage. On obtient donc un nombre de 2735 larves vivantes dans le lot de cocons non traités et 11436 larves vivantes dans le lot de cocons traités. Des tests statistiques sont ensuite réalisés avec le logiciel R (www.r-project.org) pour déterminer s'il existe des différences significatives entre les deux conditions (cocons traités/non traités), c'est à dire pour déterminer s'il y a un effet du traitement fongicide sur la viabilité des larves de carpocapse. Dans un premier temps la normalité des données est testée grâce à un test de Kolmogorov-Smirnov à un seuil de 5 %. Les p-values obtenues sont supérieures à 5 % (p-value = 0,7137 pour le nombre de larves vivantes, p-value = 0,7189 pour le nombre de larves mortes, p-value = 0,7137 pour le pourcentage de viabilité), la distribution de ces données suit donc bien une loi normale. Dans un deuxième temps, l'homogénéité des variances est testée grâce à un test de Fisher-Snedecor de comparaison de deux variances à un seuil de 5 %. Les p-values obtenues sont inférieures à 5 % (p-value = 0,0010 pour le nombre de larves vivantes, p-value = 0,0010 pour le nombre de larves mortes, p-value = 3,05e-06 pour le pourcentage de viabilité), les variances ne sont donc pas homogènes. On ne peut pas réaliser de tests paramétriques sur ces données. C'est donc un test non paramétrique de comparaison de plusieurs médianes (test de Kruskal-Wallis à un seuil de 5 %) qui est effectué. Les p-values obtenues sont supérieures à 5 % (p-value = 0,1301 pour le nombre de larves vivantes, p-value = 0,1301 pour le nombre de larves mortes, p-value = 0,1301 pour le pourcentage de viabilité), il n'y a pas de différence significative entre les données, il n'y a donc pas d'effet du traitement fongique sur la viabilité des larves de carpocapse.



Figure 25 : cage d'émergence posée au verger
Source : N Lebarbier, 2018



Figure 26 : barquettes contenant des cocons non triés équivalent à plus de 700 larves viables
Source : N Lebarbier, 2018



Figure 27 : répartition des cocons à l'emplacement de la cage d'émergence
Source : N Lebarbier, 2018



Figure 28 : application d'un produit de biocontrôle au pulvérisateur à main
Source : N Lebarbier, 2018



Figure 29 : humidification d'un emplacement
Source : N Lebarbier, 2018



Figure 30 : piège posé sur une cage d'émergence
Source : N Lebarbier, 2018

3.2. Résultats de l'essai au laboratoire

À partir des données obtenues lors des observations de l'essai au laboratoire, des tests statistiques sont réalisés avec le logiciel R (www.r-project.org) pour déterminer s'il existe des différences significatives entre toutes les variables de l'essai : les modalités de traitement (témoin, *Beauveria*, *Metarhizium*, *Steinernema*...), les conditions (cocons traités/non traités), les répétitions, les dates, le nombre de larves vivantes, le nombre de larves mortes et leur répartition dans les différentes catégories (septicémie, mycélium, vides, autres). Cela a pour objectif de définir l'efficacité des produits de biocontrôle sur les larves de carpocapse en conditions contrôlées. Dans un premier temps la normalité des données est testée grâce à un test de Kolmogorov-Smirnov à un seuil de 5 %. Les p-values obtenues sont inférieures à 5 % (p-value = 1,66e-05 pour le nombre de larves vivantes, p-value = 3,11e-09 pour le nombre de larves mortes, p-value = 2,2e-16 pour le nombre de larves mortes avec des symptômes de septicémie, p-value = 5,66e-10 pour le nombre de larves mortes avec du mycélium, p-value = 2,2e-16 pour le nombre de cocons vides, p-value = 2,11e-09 pour le nombre de larves mortes sans symptôme connu), la distribution de ces données ne suit pas une loi normale. On ne peut pas réaliser de tests paramétriques. C'est donc un test non paramétrique de comparaison de plusieurs médianes (test de Kruskal-Wallis à un seuil de 5 %) qui est effectué. En testant l'effet modalité, les p-values obtenues sont supérieures à 5 %, sauf pour la variable septicémie, où une p-value inférieure à 5 % est observée ([Tableau VII](#)). Il n'y a pas de différence significative entre les modalités de traitements pour le nombre de larves vivantes et le nombre de larves mortes. Cela veut donc dire qu'il n'y a pas d'effet significatif des produits de biocontrôle sur la viabilité des larves de carpocapse. En testant l'effet répétition, les p-values obtenues sont supérieures à 5 % ([Tableau VIII](#)). Il n'y a pas de différence significative entre les répétitions. Il semblerait donc que le traitement des cocons au fongicide n'ait pas eu d'impact sur les résultats observés lors de l'essai. Même s'il n'y a pas de différence significative entre les différents traitements de biocontrôle, les pourcentages des larves mortes et des larves vivantes sont calculés pour les valeurs à 14 jours après la deuxième application et représentés sous forme de graphiques pour obtenir une idée de la répartition de ces données ([Figure 31](#) et [32](#)). On peut voir sur la première figure qu'un fort taux de mortalité est observé pour chaque modalité, même chez le témoin qui possède un pourcentage de larves mortes d'environ 72 %, ce qui suggère une contamination des cocons. Cette contamination serait due à un champignon car on retrouve la présence de mycélium dans toutes les modalités ([Figure 32](#)). Il semblerait aussi qu'il y ait quand même une différence significative pour la variable septicémie. Cela pourrait correspondre à l'effet des nématodes mais cela pourrait être mieux observé sans cette contamination de base.

3.3. Résultats de l'essai au verger

Les résultats de l'essai au verger seront disponibles seulement après la fin des émergences, lorsque le taux d'émergence des papillons adultes aura été calculé grâce aux relevés des pièges qui seront effectués au cours du mois de juillet. Concernant les tests statistiques, le même procédé sera effectué sur les données récoltées : vérification de la normalité des données grâce à un test de Kolmogorov-Smirnov à un seuil de 5 %,

Tableau III : résultats de l'évaluation du lot de cocons non traités

	1 ^{er} échantillon	2 ^{ème} échantillon	moyenne	écart-type	lot
poids (en g)	24,58	24,64	24,61	0,04	287,29
nombre de cocons avec mycélium	94	74	84	14	981
nombre de cocons vides	36	33	35	2	403
nombre de cocons remplis	260	245	253	11	2948
nombre total de cocons	390	352	371	27	4331

Tableau IV : résultats de l'évaluation du lot de cocons traités

	1 ^{er} échantillon	2 ^{ème} échantillon	moyenne	écart-type	lot
poids (en g)	24,42	26,56	25,49	1,5	1078
nombre de cocons avec mycélium	61	50	56	8	2347
nombre de cocons vides	27	35	31	6	1311
nombre de cocons remplis	231	330	281	70	11863
nombre total de cocons	319	415	367	68	15521

Tableau V : résultats de l'estimation du pourcentage de viabilité des cocons non traités

répétition	1	2	3	4	5	moyenne
nombre de larves vivantes	44	47	49	47	45	46,4
nombre de larves mortes	6	3	1	3	5	3,6
pourcentage de larves vivantes	88	94	98	94	90	92,8
pourcentage de larves mortes	12	6	2	6	10	7,2

Tableau VI : résultats de l'estimation du pourcentage de viabilité des cocons traités

répétition	1	2	3	4	5	moyenne
nombre de larves vivantes	49	47	47	50	48	48,2
nombre de larves mortes	1	3	3	0	2	1,8
pourcentage de larves vivantes	98	94	94	100	96	96,4
pourcentage de larves mortes	2	6	6	0	4	3,6

Tableau VII : résultats des tests de Kruskal-Wallis des différentes variables expliquées par la variable modalité

	p-value
vivantes	0,8757
mortes	0,7537
septicémie	0,0002
mycelium	0,8046
vides	0,1361
autres	0,1524

vérification de l'homogénéité des variances grâce à un test de Fisher-Snedecor à un seuil de 5 % puis réalisation d'un test de Kruskal-Wallis à un seuil de 5 % afin de pouvoir comparer les résultats.

4. Discussion

4.1. Augmenter la viabilité des larves récoltées

Les résultats ont montré qu'il n'y avait de pas différence entre les pourcentages de larves vivantes des cocons traités et des cocons non traités lors de la récolte. Le traitement fongique n'a pas eu d'effet sur la viabilité des larves de carpocapse. Il n'est donc pas utile de traiter les cocons avec ce fongicide lors de leur récupération à l'automne pour obtenir plus de larves pour la réalisation des essais. Ce résultat est tout de même intéressant puisqu'il permet d'enlever ce traitement au protocole de récupération des larves et donc de gagner du temps ainsi que de diminuer le coût de la manipulation. Il n'y a pas d'augmentation du nombre de larves viables récoltées grâce au traitement fongique, cependant, le pourcentage de viabilité sans traitement fongique étant assez élevé (92,8 % ($\pm 1,6$ %)), les pertes sont limitées et le nombre de larves viables disponibles est suffisant pour la réalisation des essais. Le fait que le traitement fongique n'ait pas d'effet significatif n'a donc pas énormément d'incidence sur la disponibilité en cocons. Pour augmenter la viabilité des larves récoltées, il faudrait trouver une autre méthode ou tester un autre fongicide mais ce n'est pas vraiment pertinent puisqu'il y a assez de cocons pour la réalisation des essais. Si le besoin en nombre de larves disponibles devait augmenter pour réaliser plus d'essais, il faudrait seulement récupérer plus de matière lors de la récolte : le pourcentage de viabilité sans traitement étant plutôt élevé, cela suffirait à récupérer assez de larves en tenant compte de ce pourcentage.

4.2. Diminuer les contaminations des larves récoltées

Pour le moment, nos premiers résultats restent très mitigés concernant l'efficacité des produits de biocontrôle. D'après la littérature étudiée, ces produits sont décrits comme plutôt efficaces. Cependant lors de notre essai en laboratoire, là où les effets de ces produits devraient être optimum grâce à des conditions contrôlées, leur impact n'a pas pu être observé statistiquement. En effet, le témoin possède un fort taux de mortalité ce qui masque pratiquement toute l'influence des produits de biocontrôle et indique une contamination des cocons. Cette contamination serait due à un champignon, probablement un *Beauveria*, naturellement présent dans le sol des vergers des producteurs. Il contaminerait certains fruits tombés au sol à l'automne et se répandrait aux autres fruits collectés à la coopérative lors de l'étape de prétrempage. Il semblerait y avoir peu de solutions viables en ce qui concerne la diminution de cette contamination. En effet, la récupération des larves a lieu en plein pic d'activité de la filière castanéicole. Changer l'eau des bacs de prétrempage plus souvent serait trop coûteux en temps et en argent pour la coopérative et entraînerait une baisse de rentabilité. D'autant plus que cette eau est déjà changée régulièrement afin de limiter au maximum la contamination de la récolte de

Tableau VIII : résultats des tests de Kruskal-Wallis des différentes variables expliquées par la variable répétition

	p-value
vivantes	0,9145
mortes	0,7232
septicemie	0,9738
mycelium	0,9023
vides	0,0527
autres	0,0931

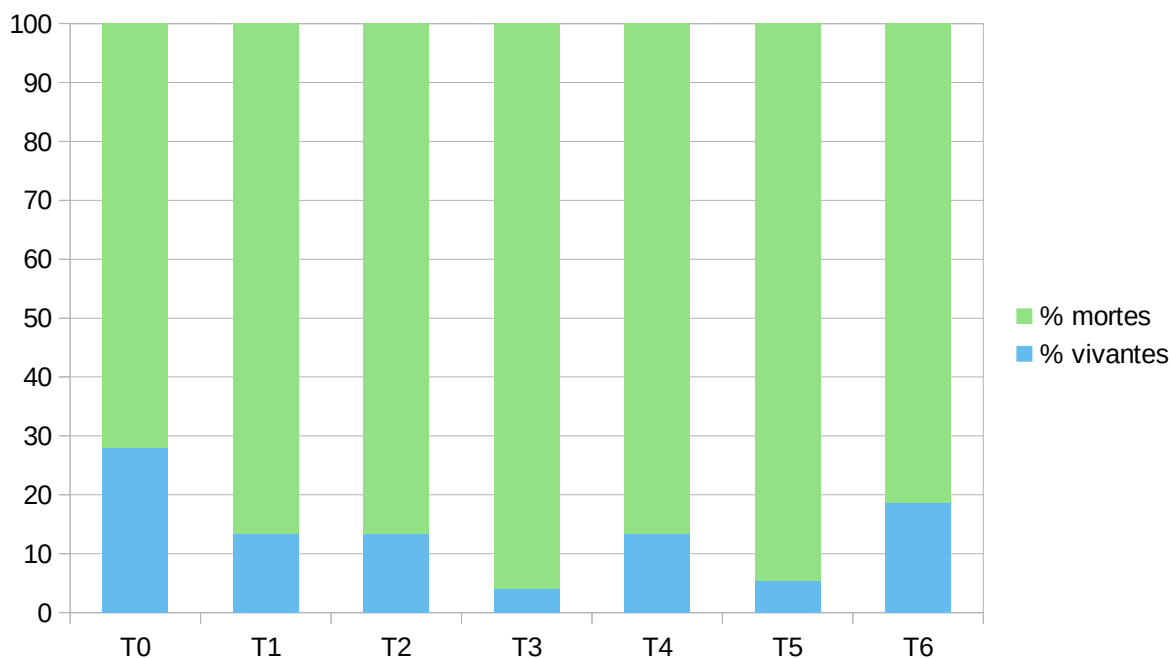


Figure 31 : graphique représentant le pourcentage de larves mortes et de larves vivantes selon les modalités. T0 : témoin, T1 : Naturalis (*Beauveria*), T2 : souche 147 (*Beauveria*), T3 : souche 111 (*Beauveria*), T4 : *Metarhizium*, T5 : *Steinernema carpocapsae*, T6 : *Steinernema feltiae*.

châtaignes saines et que la coopérative cherche également à réduire sa consommation en eau lors des différentes étapes de traitement des fruits après la collecte. Il faudrait trouver un moyen de récupérer les châtaignes véreuses sans passer par l'étape de prétrempage mais celle-ci est difficilement évitable puisqu'il s'agit du moyen le plus efficace pour séparer les châtaignes saines des fruits véreux, pourris ou mal développés... Un tri manuel pourrait être effectué en amont du prétrempage mais il serait moins efficace et très coûteux en temps. Il pourrait cependant être envisageable afin d'obtenir des résultats fiables concernant l'effet des différents produits de biocontrôle.

4.3. Observer les résultats en verger

Les premiers résultats de la partie laboratoire sont très mitigés concernant l'efficacité des produits de biocontrôle testés. Cependant, il reste à observer les résultats au verger pour confirmer ou non l'infestation du témoin par un champignon et l'impact de la méthode de récupération. Les conditions climatiques au verger pourraient peut être permettre l'observation d'effets plus marqués des produits. Il faudra donc attendre la fin de l'essai pour conclure quant à l'efficacité des différentes solutions de biocontrôle.

4.4. Confirmer la cause de la mort des larves

Pour pouvoir affirmer de façon certaine la cause de la mort des insectes par le pathogène appliqué, il faudrait utiliser une autre méthode de notation de l'essai. Déterminer la cause de la mort des larves par simple observation des symptômes visibles est très limité. Le classement par catégories n'est pas très précis et ne garanti pas l'exactitude des résultats. Bien que non envisagée pour l'instant, une méthode de détermination de présence ou d'absence du pathogène par son ADN ainsi que sa quantification grâce à la réalisation de PCR quantitatives pourrait être développée pour déterminer avec certitude la présence des agents entomopathogènes chez les larves mortes afin d'établir la cause de leur mort. Cependant, appliquer cette méthode serait coûteux et sa mise en place serait longue puisqu'il faudrait préparer tout le matériel génétique nécessaire (amorces etc.) et élaborer un protocole solide. Elle nécessiterait également du matériel de biologie moléculaire pour réaliser la manipulation. En revanche cette méthode serait rapide d'utilisation car il n'y aurait pas à ouvrir toutes les larves pour déterminer leurs symptômes. Grâce à cette méthode le postulat de Koch, permettant d'avoir la certitude qu'un micro-organisme est responsable des symptômes observés, pourrait ou non être validé, ce qui augmenterait la précision des résultats.

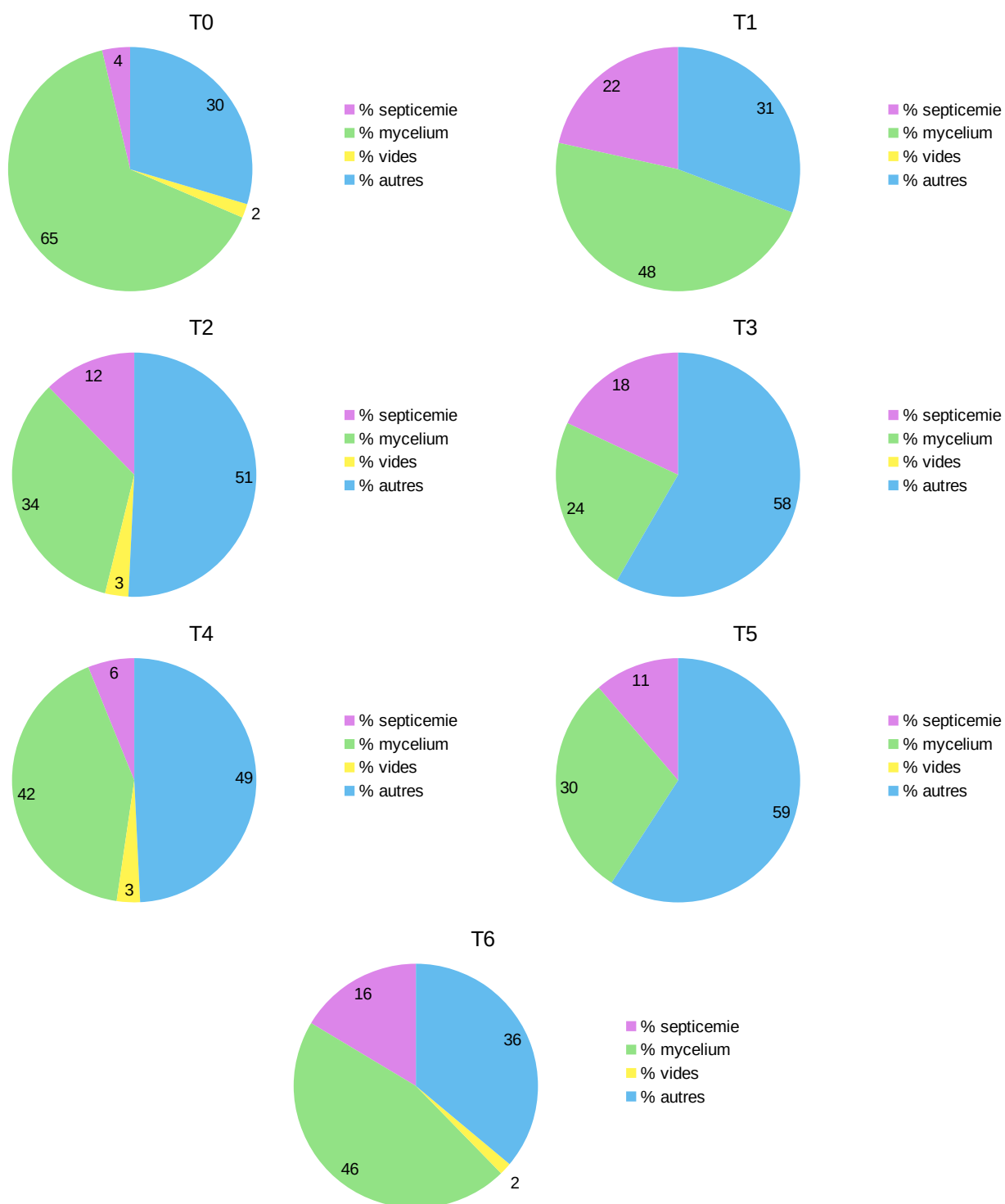


Figure 32 : graphiques représentant le pourcentage de larves mortes par catégorie (septicémie, mycélium, vides et autres) selon les modalités. T0 : témoin, T1 : Naturalis (*Beauveria*), T2 : souche 147 (*Beauveria*), T3 : souche 111 (*Beauveria*), T4 : *Metarhizium*, T5 : *Steinernema carpocapsae*, T6 : *Steinernema feltiae*.

5. Conclusion

Le bilan de la première partie des expérimentations sur l'efficacité de produits de biocontrôle est encourageant. Même si aucun effet significatif n'a été démontré, on sait désormais que les châtaignes des vergers de la région sont naturellement contaminés par un champignon. Comme ce mycélium est déjà énormément présent naturellement et est très efficace, une perspective intéressante serait d'identifier la souche locale responsable de cette forte mortalité et de la cultiver pour pouvoir augmenter la présence de ce mycélium en quantité sur les vergers. Cela pourrait également se faire avec les nématodes entomopathogènes. L'isolement et l'identification des agents de biocontrôle indigènes sont nécessaires pour un contrôle efficace des ravageurs endémiques. L'introduction d'agents de lutte biologique sur un site requiert une connaissance préalable de leur présence et de leur identification correcte car une introduction d'agents exotiques pourrait induire l'exclusion des populations locales et éroder la diversité naturelle. Ces espèces peuvent être moins efficaces que les espèces locales voire totalement inefficaces vis-à-vis des ravageurs endémiques. Ils peuvent également ne pas être adaptés aux conditions environnementales locales. Même si les espèces testées sont présentes en France, le mieux serait de réaliser un inventaire des espèces indigènes des vergers à traiter afin d'introduire les organismes les mieux adaptés au lieu. Une autre perspective intéressante serait de créer des conditions favorables au développement (en contrôlant le taux d'humidité du sol par exemple) de ces agents de biocontrôle déjà présents sur le terrain afin d'augmenter leurs populations. Toutefois, il faudrait veiller à ce que ces conditions ne permettent pas le développement d'autres maladies comme des pourritures des châtaignes, ce qui reviendrait à remplacer un mal par un autre. L'implantation durable d'agents de biocontrôle rendrait possible la mise en place d'une stratégie de lutte globale efficace qui permettrait d'augmenter les rendements français de la filière castanéicole et d'atteindre l'objectif final du projet : permettre la production de châtaignes en agriculture biologique en limitant à 15 % les pertes causées par le carpocapse.

6. Bibliographie

- Breisch H. 1995.** *Châtaignes et marrons*. Paris: Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes.
- Emelianoff V, Sicard M, Le Brun N, Moulia C, Ferdy J-B. 2007.** Effect of bacterial symbionts *Xenorhabdus* on mortality of infective juveniles of two *Steinernema* species. *Parasitology Research* **100**: 657–659.
- Feng MG, Poprawski TJ, Khachatourians GG. 1994.** Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Science and Technology* **4**: 3–34.
- Shapiro-Ilan DI, Cottrell TE, Mizell RF, Horton DL, Behle RW, Dunlap CA. 2010.** Efficacy of *Steinernema carpocapsae* for control of the lesser peachtree borer, *Synanthedon pictipes*: Improved aboveground suppression with a novel gel application. *Biological Control* **54**: 23–28.
- Tofangsazi N, Arthurs SP, Giblin-Davis RM. 2015.** Entomopathogenic Nematodes (Nematoda: Rhabditida: families Steinernematidae and Heterorhabditidae). : 5.
- Toledo AV, de Remes Lenicov AMM, López Lastra CC. 2010.** Histopathology Caused by the Entomopathogenic Fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* , in the Adult Planthopper, *Peregrinus maidis* , a Maize Virus Vector. *Journal of Insect Science* **10**: 1–10.
- Verpont F. 2011.** Approfondissement des connaissances sur la biologie du carpocapse des châtaigniers, *Cydia splendana*. Mémoire de fin d'études : ENITA de Bordeaux. 37 pages.
- Xia J, Zhang C-R, Zhang S, Li F-F, Feng M-G, Wang X-W, Liu S-S. 2013.** Analysis of Whitefly Transcriptional Responses to *Beauveria bassiana* Infection Reveals New Insights into Insect-Fungus Interactions (M Ghanim, Ed.). *PLoS ONE* **8**: e68185.

SOURCES INTERNET :

AGRESTE (Juillet 2017). Statistique Agricole Annuelle (SAA), Résultats 2015 définitifs et 2016 semi-définitifs.
<http://agreste.agriculture.gouv.fr/enquetes/statistique-agricole-annuelle-saa/> (consulté le 17/04/2018)

AREFLH (2017). Livre blanc de la châtaigne européenne 2017.
<http://www.chestnut-meetings.org/livre-blanc.html> (consulté le 18/04/2018)

FRANCEAGRIMER (Décembre 2017). Chiffres-clés 2016, Les filières des fruits et légumes – données 2016.
<http://www.franceagrimer.fr/index.php/filiere-fruit-et-legumes/Informations-economiques/Chiffres-et-bilans>
(consulté le 17/04/2018)

HYPPZ, Encyclopédie des ravageurs européens, INRA.
<http://www7.inra.fr/hyppz/RAVAGEUR/3cydspl.htm> (consulté le 23/04/18)

INVENIO.
<https://www.invenio-fl.fr/>

RÉSUMÉ

Dans la filière castanéicole, le carpocapse du châtaignier, *Cydia splendana* est un ravageur important qui impact fortement les rendements. Les pertes peuvent atteindre plus de 50 % de la récolte. Dans le contexte actuel, avec une agriculture biologique en plein essor, des solutions non chimiques doivent être envisagées et développées. C'est pourquoi des produits de biocontrôle sont testés en laboratoire et en verger lors de cet essai pour réduire les pressions de ce ravageur. Les produits de biocontrôle testés sont des champignons (*Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae*) et des nématodes entomopathogènes (*Steinernema carpocapsae* et *Steinernema feltiae*) ayant fait leurs preuves sur d'autres cultures. Les données obtenues lors de la première partie de l'essai ont montré la présence naturelle d'un champignon dans les vergers qui contamine les larves de carpocapse. Ces résultats sont encourageants et à l'avenir, une stratégie de lutte globale efficace qui permettrait d'augmenter les rendements français de la filière castanéicole pourra être développée. L'objectif final du projet est d'atteindre la limite des 15 % de pertes causées par le carpocapse de la châtaigne.

mots-clés : *Cydia splendana*, carpocapse du châtaignier, biocontrôle, champignons entomopathogènes, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, nématodes entomopathogènes, *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae*.

ABSTRACT

In the castaneicole sector, the chestnut tortrix is an important pest which highly impacts the yields. Losses can reach more than 50% of the harvest. In the current context, with organic farming booming, non-chemical solutions must be considered and developed. This is why biocontrol products are tested in laboratory and in field to reduce the pressures of this pest. The tested biocontrol products are entomopathogenic fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium*) and nematodes (*Steinernema carpocapsae* and *Steinernema feltiae*). The data obtained during the first part of the test showed the natural presence of a fungus in the orchards that contaminates the larvae of chestnut tortrix. These results are encouraging and, in the future, an effective global control strategy that would increase French yields in the castaneicole sector could be developed. The final goal of the project is to reach the limit of the 15% of losses caused by the chestnut tortrix.

keywords : *Cydia splendana*, chestnut tortrix, biocontrol, entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae*..