

AGROFLASH

AGRONOMIE hepia MAI 2017

ÉDITO

La lutte microbiologique : un aperçu de ses vastes possibilités d'utilisation en lutte phytosanitaire.

**La lutte biologique est un concept devenu
maintenant commun en horticulture,
voire en agriculture.**

C'est l'utilisation d'organismes vivants comme auxiliaires de lutte. Elle repose essentiellement sur l'utilisation d'arthropodes parasitoïdes ou prédateurs, et 5'000 espèces d'arthropodes ont été évaluées depuis un siècle et les débuts de la lutte biologique. L'utilisation de trichogrammes contre la pyrale du maïs en est certainement l'exemple le plus important, puisque ces parasitoïdes sont distribués chaque année sur des centaines de milliers d'hectares de cultures de maïs en Europe.

Par contre la lutte microbiologique, c'est à dire l'utilisation de micro-organismes contre d'autres micro-organismes, nématodes, insectes, plantes adventices ou invasives, est un domaine moins connu du public, même si elle a débuté dès les avancées de la microbiologie et de la pathologie végétale à la fin du 19^e siècle. Si le bacille de Thuringe, une bactérie entomopathogène, en est l'exemple le plus notable, et la bactérie la plus utilisée dans le monde en lutte microbiologique contre une grande variété d'insectes, des milliers de souches de quelques centaines d'espèces de bactéries, champignons et virus, ont été évaluées lors de ces dernières décennies et quelques dizaines sont d'ores et déjà commercialisées. L'effort de domestication des microorganismes s'accroît dans tous les domaines et l'identification et la compréhension des microbiotes des environnements les plus divers montrent une importance

jusqu'alors négligée de ces microorganismes et laissent penser à de nouvelles utilisations des micro-organismes.

En agriculture, l'utilisation de micro-organismes antagonistes de champignons pathogènes, inducteurs de croissance des plantes, pathogènes d'insectes ou de plantes adventices, est une alternative prometteuse d'une protection phytosanitaire performante et respectueuse de la biodiversité et de l'environnement.

Le cours de lutte microbiologique permet chaque année de proposer une vision de toutes les possibilités offertes par cette forme de lutte.

Cette année, nous avons pu, avec l'enthousiasme des étudiants, réaliser quelques articles de compilation et de vulgarisation et de travaux récents, que nous vous proposons dans cette édition spéciale Lutte microbiologique d'Agroflash, qui vous fera découvrir quelques nouvelles voies, quelques nouveaux concepts, nous l'espérons, en lutte phytosanitaire pour l'agriculture, la sylviculture et l'environnement, mais aussi quelques inconvénients.

François Lefort
Professeur, filière agronomie

SOMMAIRE

I. Zoom sur différents agents de lutte micro- biologique pour la gestion des maladies fongiques chez *Pinus radiata*.

Pierre-Loup de Dietrich, Jérôme Turrian, Or Keren
et Nicolas Garnier..... 2 - 4

II. Utilisation de virus contre les Lépidotères : les méthodes disponibles.

Kevin Piato, Morgan Le Guen, Enis Mathlouthi,
Charles Palmen..... 4 - 8

III. Mildiou de la vigne, une nouvelle bactérie pour moins de cuivre.

Annabelle Berthet, Xavier Dupla, Mathilde Haenni,
Isaline Quarta..... 8 - 11

IV. Les organismes endophytes en lutte phytosanitaire biologique.

Gabriel Marty, Yannick Barth, Flavien Merz,
Madjid Zare..... 11 - 12

V. Lutte microbiologique contre le feu bactérien, *Erwinia amylovora*. Gaëlle Balestra, Hali Sakho et Pablo Calderon

..... 13 - 14

VI. *Piriformospora indica*, un champignon endophyte multifonction. Dimitri Nicolaides, Katrina Price et Marie Terretaz

..... 15 - 16

VII. Tentative d'inventaire des champignons entomophages homologués, pourquoi et comment ce secteur se développe ?

Noémie Coosemans, Nouria Gawarian,
Léo Mérat et Simon Russi 17 - 18

VIII. Quelles perspectives face à la résistance au virus de la granulose chez *C. pomonella* ?

Sven Aubert, Julien Küpfer, Jérémie Loulier et
Nicolas Mischler 19 - 21

IX. Lutte biologique et microbiologique contre les espèces néophytes de solidages.

Lucien Imfeld, Vladimir Tréand, Benoît Loup
et Basile Giroud 21 - 23

IMPRESSUM

h e p i a

Haute école du paysage, d'ingénierie
et d'architecture de Genève

CONTACT AGROFLASH:

Nadia Yousfi Picenni, nadia.picenni@hesge.ch

CONTACT AGRONOMIE LULLIER:

Site Lullier

Route de Pressinge 150
CH - 1254 Jussy
t +41 22 546 68 12

sv.hepia@hesge.ch

Site Genève

Rue de la Prairie 4
CH - 1202 Genève
t +41 22 546 24 04

f +41 22 546 24 10
sv.hepia@hesge.ch

 /FiliereAgronomieHepia

Zoom sur différents agents de lutte microbiologique pour la gestion des maladies fongiques chez *Pinus radiata*

A l'heure actuelle le Pin de Monterey est l'une des essences les plus utilisées en sylviculture intensive dans certains pays, mais est aussi une espèce en voie de disparition sans sa zone d'origine. Ce conifère à croissance très rapide, comparé à ses congénères, est pourtant sujet à plusieurs maladies fongiques importantes. Cet article présente les avancées en matière de lutte microbiologique sur les principaux micro-organismes capable de limiter de façon efficace le développement de ces pathogènes.

Pinus radiata, également appelé Pin de Monterey, est un conifère naturellement présent au sud-ouest des Etats-Unis. Il mesure entre 25 et 50 mètres de hauteur et peut croître jusqu'à 1,5 mètres par an (fig. 1).



Fig. 1 : *Pinus radiata* ¹

De par sa sensibilité au froid (principalement le gel de printemps) et son exigence en humidité, cette essence n'est pas présente en Suisse. En France sa présence se limite à la Côte Atlantique et Méditerranéenne, généralement dans des sols à tendance sablonneuse. Les principaux pays de plantation sont : Nouvelle-Zélande, Chili, Australie, Afrique du Sud et Espagne. A partir de 1923 cette espèce a été massivement utilisée comme essence de reboisement, notamment en Nouvelle Zélande. Cet arbre joue un rôle important dans la sylviculture et était planté sur environ 4 millions d'hectares en 2004¹, principalement dans l'hémisphère sud (90%). C'est le conifère exotique le plus largement produit avec 3%² de la plantation totale d'arbres dans le monde. C'est aussi le plus sensible à *Heterobasidion* et *Armillaria*.

La lutte biologique est un des moyens de lutter contre les pathogènes et les ravageurs des cultures. Elle est la seule option possible en culture forestière (sauf rares exception dans certains pays où la lutte chimique est autorisée) et a fait ses preuves, notamment contre les maladies du pin de Monterey (*Pinus radiata*).

Cette revue décrit 2 expériences de lutte microbiologique par l'introduction de champignons endophytes contre le chancre du pin et par l'introduction de rhizobactéries dans la rhizosphère des jeunes plants de *Pinus radiata*, pour lutter contre les pathogènes *Heterobasidion annosum* et *Armillaria mellea*.

Expérience 1 :

L'introduction de champignons endophytes pour lutter contre le chancre du pin chez *Pinus radiata*

Le chancre du pin est causé par le champignon *Fusarium circinatum*. Le premier cas de chancre du pin a été identifié dans le nord de la Californie en 1940³. De nos jours, sa distribution se répartit dans les régions chaudes comme Haiti, le Chili, l'Afrique du sud, la Corée, etc. En Europe, il a été rencontré en Italie, au Portugal et en Espagne. En général, l'infection par ce champignon requiert une porte d'entrée : une blessure causée par les insectes, la météo, ou des dommages mécaniques. Le pathogène peut aussi se transmettre via la graine (pas de symptôme avant la germination).

Une production abondante de résine et une présence importante de chancre sont les principaux symptômes du chancre du pin. Ce champignon infecte les racines, les rameaux et le tronc des arbres jeunes et âgés.



Fig. 2 : Production de résine⁴

Ce chancre touche les jeunes plants en pépinières et les arbres adultes. Des essais ont été effectués sur l'efficacité des

fongicides sur *F. circinatum*. Néanmoins, les résultats sont limités et l'effet négatif qu'ils provoquent sur l'écosystème rendent leur utilisation problématique, voire interdite. D'autres solutions, comme l'utilisation de traitement par l'eau très chaude, sont également limitées. Dans le cas de ces essais de lutte microbiologique, les effets antagonistes de champignons endophytes de *Pinus radiata* contre *F. circinatum* ont été testés.

Déroulement de l'expérience

Les effets antagonistes de 546 champignons endophytes contre *F. circinatum* ont été testés in vitro. En boîte de Petri, 4 endophytes ont été placés aux extrémités d'un milieu de culture avec le pathogène au milieu de la boîte.

L'effet antagoniste des champignons endophytes de *Pinus radiata* a été mesuré et 154 champignons endophytes, ayant montré les effets les plus significatifs, ont été sélectionnés pour confirmer leurs effets antagonistes.

Ces 154 champignons endophytes ont été testés par rapport à leurs effets antagonistes selon 5 critères différents : la croissance, la forme, la propagation de *F. circinatum*, le rayon et le pourcentage d'inhibition du pathogène par les champignons antagonistes. Au final, les 6 endophytes qui ont montré les effets antagonistes les plus forts ont été retenus. La troisième partie de l'essai a consisté à réaliser des tests in vivo sur le terrain avec ces 6 champignons. A cette fin, ils ont été inoculé chez de jeunes plants de 5 différentes espèces de pins, dont *Pinus radiata*. 42 jours après, l'agent pathogène a été inoculé à ces plants. L'efficacité des endophytes, et la propagation de la maladie parmi les plants ont été évalués par une méthode visuelle consistant en une échelle de 0 (un plant sain) à 4 (morts des feuilles, branche malades).

Résultats

Parmi les 154 endophytes sélectionnés, 138 ont montré des effets antagonistes sur *F. circinatum*. Parmi ceux-là, 6 ont montré des effets importants et ont été testés sur le terrain par la suite.

Deux endophytes; *Chaetomium aureum* et *Alternaria sp.*, réduisaient significativement les dommages causés par *F. circinatum* (27.8% et 22.2% respectivement).

Discussion

Les résultats démontrent un fort potentiel de l'utilisation de ces endophytes. Les mécanismes de ces organismes contre le pathogène sont principalement de nature écologique: une occupation de niche écologique,) mais aussi des effets directs de répulsion du pathogène (). Un autre avantage de l'utilisation de ce type de lutte est que le pathogène ne développera pas, en principe, de résistance vis-à-vis de ces endophytes.

Expérience 2:

Biocontrôle des champignons pathogènes *Heterobasidion annosum* et *Armillaria mellea*, par l'introduction de rhizobactéries dans la rhizosphère des jeunes



Fig. 3: Symptôme d'infection causée par *Heterobasidion* ⁵

⁵Dans certaines régions du monde, le taux de mortalité de jeunes plants touchés par la maladie causée par *Armillaria mellea* varie entre 20% et 50 %. La perte de volume de *Pinus radiata* est comprise entre 6% et 13%. Contrairement à *A.mellea* qui a une distribution mondiale, *H. annosum* se trouve dans l'hémisphère nord.

Des traitements chimiques et culturaux

Déroulement de l'expérience

Initialement, des souches de bactéries ont été prélevées et isolées à partir de la rhizosphère d'un *Pinus radiata* sain avec une forte présence de champignons pathogènes. Les effets antagonistes sur *A. mellea* et *H. annosum* de 200 rhizobactéries ont été testées in vitro. Après 60 jours de co-culture des rhizobactéries et des pathogènes, l'effet antagoniste des bactéries a été déterminé visuellement par le pourcentage de la surface d'inhibition. Les sept souches de bactéries ayant montré les effets antagonistes les plus importants ont été identifiées et sélectionnées pour un deuxième test permettant la confirmation de leurs effets antagonistes. Avant de réaliser l'essai in vivo, l'effet phytopathogène des sept rhizobactéries a été testé sur les jeunes plants de *P.radiata* en les appliquant sur leurs racines et en observant si des symptômes de certaines maladies apparaissent au bout d'un mois. Dans la deuxième partie de l'expérience, les racines de 100 jeunes plants de *P. radiata* ont été inoculées (à 2 reprises, à 7 jours d'intervalle) par les sept rhizobactéries sélectionnées. Une semaine après cette introduction, les agents pathogènes ont été inoculés aux racines des jeunes plants par contact (*A. mellea*: 35 plants et *H. annosum*: 65 plants). Les plants ont été entretenus dans des conditions idéales de croissance pendant 110 jours. Par la suite, ont été mesurés pour chaque plant: la longueur de la tige et le diamètre du collet. Pour les plants innoculés avec *A. mellea*, les racines ont été séchées afin d'en déterminer le poids sec, et la taille des lésions causées par ce pathogène a été déterminée en mesurant la longueur du mycelium qui a colonisé l'écorce. Pour les plants innoculés avec *H. annosum*, la présence du pathogène a été recherchée par PCR.

Résultats

A partir des 200 rhizobactéries testées in vitro, 7 ont montré un effet antagoniste significatif sur *A. mellea* et *H. annosum*. Après un test in vivo de ces 7 bactéries, 3 ont montré des effets significatifs: *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus simplex* et *Erwinia billingiae* (2 souches). *P. fluorescens* a réduit la présence de *H. annosum* dans les plants de *P.radiata* de 40%. *B. simplex* a réduit la présence de *H. annosum* dans les plants de *P.radiata* de 55%. En ce qui concerne l'effet des bactéries sur *A.mellea*, après l'introduction de



plants de *Pinus radiata*

Les maladies racinaires et polypores du pin (communément appelée la maladie du rond) sont causées, entre autres, par *Heterobasidion annosum* et *Armillaria mellea*. Les symptômes sont la chlorose des feuilles, l'amincissement des branches, le ralentissement de la croissance du tronc et la mort rapide de l'arbre. Le premier symptôme visuel est la mort des plantes contaminées au centre de la zone touchée.

existent contre les pathogènes responsables de ces maladies, mais ils sont parfois limités, voire inefficaces. La meilleure solution pour lutter contre ces maladies reste la prévention.

L'objectif de cette expérience était d'étudier la capacité des bactéries de la rhizosphère de *Pinus radiata* à inhiber la croissance de *A. mellea* et *H. annosum* et de tester leurs capacités à réduire les effets pathogéniques chez les jeunes plants.

P. fluorescens, *B. simplex* et les 2 souches de *E. billingiae*, le taux de mortalité parmi les plants de *P. radiata* était de respectivement 13,1%, 7,1%, 3,6% et 11,6%, tandis que ceux qui n'ont pas été traités avaient un taux de mortalité de 54%.

Les expériences de contrôle *in vitro* avec *E. coli* ne montraient aucun effet, alors que *in vivo*, 73% des plans infectés par *A. mellea* étaient sains (malgré un diamètre de collet et une longueur de tige inférieurs à ceux des plants traités). Cette différence entre *in vitro* et *in vivo* s'explique par les caractéristiques des plantes et de l'environnement. Il a été démontré que les bactéries sélectionnées n'ont pas d'effet pathogène chez *P. radiata*.

Une investigation approfondie a montré qu'il n'y a pas non plus d'effets sur les animaux et les êtres humains.

Discussions

Les bactéries isolées et sélectionnées pour leur effets antagonistes sur les pathogènes *A. mellea* et *H. annosum* *in vitro* ont réduit les effets pathogéniques de *A. mellea* ainsi que la présence de *H. annosum* sur les plants de *P. radiata* lors d'expériences *in vivo*. L'expérience a montré le fort potentiel de l'utilisation de ces bactéries pour diminuer les dégâts causés par ces pathogènes fongiques. Une utilisation précoce, en appliquant ces rhizobactéries

sur les jeunes plantes de *P. radiata* dans les pépinières, est avantageuse pour plusieurs raisons : le volume des bactéries nécessaire pour l'application est réduit et les conditions contrôlées durant l'introduction permettent aux bactéries de coloniser et de s'adapter aux conditions de la rhizosphère. Par conséquent, le plant sera protégé avant d'être exposé aux pathogènes.

Conclusion

Malgré leur uniformité, les forêts artificielles restent des milieux stables et durables. A l'heure actuelle, les méthodes couramment utilisées n'assurent pas une bonne protection des forêts et, malgré de récents progrès, les pulvérisations aériennes ne permettent pas d'éviter de bouleverser cet écosystème. La lutte microbiologique s'avère donc être la méthode la plus respectueuse de l'environnement. Elle est également la plus économique et efficace comparée aux traitements chimiques répétés car elle est effectuée en amont de la plantation (lutte préventive). La lutte curative est également pratiquée à grande échelle mais l'inoculation des plants permet de protéger les arbres tout au long de leur vie. La lutte microbiologique appliquée aux forêts est une forme de lutte incontournable dans le contexte sylvicole suisse qui ne permet

l'emploi de produits de synthèse qu'en dernier recours.

Pierre-Loup de Dietrich

Jérôme Turrian

Or Keren

Nicolas Garnier

Sources

1. Fondation PROTA. Ressources végétales de l'Afrique tropicale. 7, (D. Ioupe, A.A Oteng-Amoako, M. Brink, 2004).
2. Mesanza, N., Iturriza, E. & Patten, C. L. Native rhizobacteria as biocontrol agents of *Heterobasidion annosum* s.s. and *Armillaria mellea* infection of *Pinus radiata*. *Biol. Control* 101, 8–16 (2016).
3. Iturriza, E. et al. A genetically homogenous population of *Fusarium circinatum* causes pitch canker of *Pinus radiata* in the Basque Country, Spain. *Fungal Biol.* 115, 288–295 (2011).
4. Courtesy S. A. Enebak. Stem canker on spruce pine. (2017). Available at: https://www.apsnet.org/publications/imageresources/Pages/april_87-4-3.aspx. (Accessed: 31st January 2017)
5. Oregon State University Department of Horticulture. Christmas tree pests. (2013).
6. Agriculture and Natural Resource. Topics in Subtropics - Agriculture and Natural Resources Blogs. ANR Blogs (2017). Available at: <http://ucanr.edu/blogs/topics/index.cfm?start=136&tagname=citrus>. (Accessed: 17th January 2017)

//

Utilisation de virus contre les Lépidotères : les méthodes disponibles

La lutte contre les lépidoptères est en plein questionnement. Outre les impacts négatifs sur la santé humaine et sur l'environnement, l'utilisation systématique des insecticides, mais aussi de certaines méthodes de lutte biologique, a eu pour conséquence la sélection de nombreuses résistances chez les insectes. L'utilisation des virus, en particulier des Baculovirus, offre cependant une alternative prometteuse d'une lutte durable contre les lépidoptères, pour autant que l'efficacité soit au rendez-vous.

Introduction

Les insectes constituent le groupe le plus diversifié des organismes vivants sur la planète. Avec près de 2 millions d'espèces décrites à ce jour, ils représentent à eux seuls 90% de toutes les espèces animales connues (Erwin 1982). Une minorité d'entre eux causent des dégâts aux cultures et donc des pertes en production alimentaire. Les insecticides chimiques se sont certes révélés efficaces pour contenir ces ravageurs, mais ont des inconvénients importants tels que toxicité pour les humains et les

animaux, développement de résistances et réduction des populations d'auxiliaires (Castro and Ibarra 2011). L'utilisation de microorganismes entomopathogènes tels que les virus est une alternative très prometteuse dans la lutte contre les ravageurs des cultures. De par leur ubiquité dans les différents écosystèmes, leur grande variété, leur spécificité d'action, leur dissémination facile et leur persistance dans l'environnement, ils offrent des spectres d'action spécialisés et une protection phytosanitaire performante (Kouassi 2001).

Les principaux ravageurs de l'ordre des lépidoptères en Suisse (Tableau 1)

La pyrale du buis (*Cydalima perspectalis*) apparaît en Suisse centrale et orientale en 2007. Depuis 2012, l'insecte est couramment observé sur une grande partie du territoire suisse. Il constitue un problème important, puisque la pyrale du buis est capable de dénuder une haie en une saison (Cheikh-Ravat et al. 2012). Le carpocapse de la pomme (*Cydia pomonella*) est un insecte particulièrement destructeur,

Tableau 1 : Les principaux ravageurs de l'ordre des lépidoptères en Suisse

Nom commun	Genre - Espèce	Famille	Image	Source
La Pyrale du buis	<i>Cydalima perspectalis</i>	Crambidae		(Cheikhravat et al, 2012)
La Pyrale du maïs	<i>Ostrinia nubilalis</i>	Crambidae		(Capinera, 2000)
La Tordeuse orientale du pêcher	<i>Grapholita molesta</i>	Tortricidae		(Kehrli, 2014)
Le Carpocapse de la pomme / poire	<i>Cydia pomonella</i>	Tortricidae		(Fleury, 2015)
La Processionnaire du pin	<i>Thaumetopoea pityocampa</i>	Notodontidae		(Cochard et al, 2014)
L'Hibernie défeuillane	<i>Erannis defoliaria</i>	Geometridae		(Meier et al, 2007)
Le Sphinx du tilleul	<i>Mimas tiliae</i>	Sphingidae		(Coutin, 1997)
La Noctuelle peltigère	<i>Heliothis peltigera</i>	Nuctuidae		(Baroffio et al, 2011)

connu depuis longtemps en Suisse. Sa lutte s'est compliquée dans les années 1980 par l'apparition de résistances aux matières actives biologiques et de synthèse (Fleury 2015). La tordeuse orientale du pêcher (*Grapholita molesta*), présente depuis des décennies en Suisse, en recrudescence ces dernières années, est, elle, responsable de pertes économiques considérables en cultures de pêches et poires en Suisse romande (Kehrli et al. 2014). La processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa*), principalement présente dans la vallée du Rhône, au Tessin et dans les vallées grisonnes des Alpes, peut coloniser et défolier la totalité des pins

dans son aire de répartition (Cochard et al. 2014). D'autres lépidoptères ravageurs importants en Suisse sont présentés dans le Tableau 1.

Les principales méthodes de lutte contre les lépidoptères dans le monde

Des résistances aux insecticides chimiques sont apparues ces dernières années. Citons par exemple la résistance de la mineuse de la tomate (*Tuta absoluta*), au thiocarbamate (Siqueira et al., 2000), celle du carpocapse (*Cydia pomonella*), aux néonicotinoïdes (Bass et al. 2015). Plusieurs méthodes à faible empreinte

sur l'environnement ont été développées, comme les mesures culturales (rotation de culture, retrait sélectif ou destruction des plants infestés) (Korycinska, et al. 2009), la lutte biologique recourant aux ennemis naturels (parasitoïdes, prédateurs, d'entomopathogènes et de nématodes) (Desneux et al. 2010) ainsi que le recours à des plants résistants (Oliveira et al. 2012). Les méthodes de contrôle biotechnique telle que la confusion sexuelle se sont particulièrement développées pour contrôler plusieurs lépidoptères ravageurs des cultures tels que l'eudémis de la vigne en Europe et en Israël (*Lobesia botrana*) (Harari et al., 2015) ou le carpocapse

(Knight 2007). L'hyménoptère parasitoïde, *Trichogramma brassicae*, est largement utilisé depuis 30 ans pour lutter, en Europe, contre la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) (Smith 1996). Contre le papillon ravageur des palmiers (*Paysandisia archon*), arrivé en Europe accidentellement depuis l'Amérique latine, un nématode entomopathogène est aussi utilisé (Nardi et al. 2009). Des biopesticides à base de *Bacillus thuringiensis* serotype *kurstaki* (*Btk*) sont utilisés depuis plus de 70 ans contre des lépidoptères comme la pyrale du maïs, la noctuelle de la tomate (*Helicoverpa armigera*) et la teigne des crucifères (*Plutella xylostella*) (Melo et al. 2016). En raison d'une utilisation trop importante de *Btk* des résistances sont apparues chez les lépidoptères cibles : teigne des crucifères, noctuelle du maïs (*Sesamia nonagrioides*), pyrale du maïs dans des champs OGM en Espagne, noctuelle de la tomate en Inde (Melo et al., 2016; Ferré et al., 1991; Farinos et al., 2004).

Utilisation des virus contre les lépidoptères

Les virus sont des organismes pathogènes obligatoires, ultramicroscopiques et intracellulaires. Ils sont constitués d'un seul type d'acide nucléique (Acide Desoxyribonucléique ADN ou Acide Ribonucléique ARN) entouré ou non d'une enveloppe protectrice de nature protéique ou lipoprotéique. Les virus entomopathogènes sont classés selon différents critères tels que le matériel génétique, la morphologie, la taille, la présence ou non d'un corps d'inclusion ou encore l'hôte concerné (Van Regenmortel et al. 2005, Ibarra and Del Rincón-Castro 2008). Treize familles contiennent les 650 virus entomopathogènes isolés à partir d'insectes (Kergunteuil et al. 2016, Hunter-Fujita et al. 1998) :

- Les **Baculoviridae**
- Les **Iridoviridae**
- Les **Reoviridae**
- Les **Entomopoxvirinae**
- Les **Parvoviridae**
- Les **Ascoviridae**
- Les **Birnaviridae**
- Les **Caliciviridae**
- Les **Nodaviridae**
- Les **Picornaviridae**
- Les **Rhabdoviridae**
- Les **Tetraviridae**
- Les **Polydnaviridae**

Une minorité de ces virus sont fréquemment retrouvées dans les populations

d'insectes et ont montré un potentiel d'utilisation contre les lépidoptères (en gras ci-dessus) (Ibarra and Del Rincón-Castro 2008). Ces virus infectent uniquement les insectes et ne présentent donc pas de risques pour les vertébrés (Payne 1982).

Les Baculoviridae

Les Baculoviridae désignent deux groupes de virus : les *Nucleopolyhedrovirus* ou NPVs; et les *Granulo-virus* ou GV (Castro and Ibarra 2011). Ce sont des virus en bâtonnet sans enveloppe dont le génome est constitué d'une molécule d'ADN bicaténaire d'une taille fluctuant entre 80 et 130 Kb (Kouassi 2001; Castro and Ibarra 2011). Il existe plus de 600 isolats appartenant à cette famille, dont environ 90% possèdent un hôte de l'ordre des lépidoptères (Castro and Ibarra 2011).

Parmi les développements récents, le contrôle de la pyrale du buis par 2 souches du *Nucleopolyhedrovirus Anagrapha falcifera* (AnfaNPV) a été efficace (Rose et al. 2013,) démontrant ainsi la sensibilité de *Cydalima perspectalis* aux AnfaNPV.

Par ailleurs, l'activité insecticide de ce virus, formulé sous forme de poudre sèche a été testée sur *Trichoplusia ni* (fausse arpen-teuse du chou), après stockage (Behle et al., 2003). AfMNPV en formulation sèche avec de la lignine a montré une durée de conservation supérieure à 3 mois à 30 °C, supérieure à 30 mois à 4 °C, et a une activité insecticide résiduelle plus longue au champ que le virus non formulé ou formulé avec de la glycérine.

Afin de réduire l'apparition de résistances au *Bacillus thuringiensis* (Bt), Qayyum et al. (2015) se sont penchés sur l'association de la toxine Bt avec le virus de la Polyédrose nucléaire (VPN) pour déterminer l'impact sur la survie des 2^e et 4^e stades larvaires de *Helicoverpa armigera* (noctuelle de la tomate) en conditions de laboratoire. Il ressort de l'expérience une efficacité plus importante de *Bacillus thuringiensis* (Bt) conjointement avec le virus VPN que lorsque ce dernier est utilisé seul.

D'autres études ont aussi récemment prouvé l'efficacité des *Nucleopolyhedrovirus* dans la lutte contre les lépidoptères. Alexandre et al. (2010) ont démontré que le ravageur des cultures de soja *Pseudoplusia includens* (Noctuidae) pouvait être contrôlé par un insecticide viral basé sur certains isolats du PsinSNPV. Au Japon, la souche AdorNPV (isolée à partir de *A. orana*) et la souche AdhoNPV seraient efficaces contre le ravageur des cultures de thé *Adoxophyes honmai*,

respectivement en tant qu'agent inondatif et inoculatif (Takahashi et al. 2015).

L'intérêt agronomique du *Granulovirus PhopGV* contre la teigne de la pomme de terre (Gelechiidae) a été validé par des agences de recherche gouvernementales en Afrique du nord et du sud, en Asie et au Moyen orient (Lacey et al. 2010). PhopGV, isolé à partir de *Phthorimaea operculella*, en application contre cette dernière a montré une forte persistance. Après près de deux mois de conservation, le virus est resté efficace et a causé une mortalité de 82,4% de la population de cet insecte (Mascarin et al. 2010).

Ascoviridae

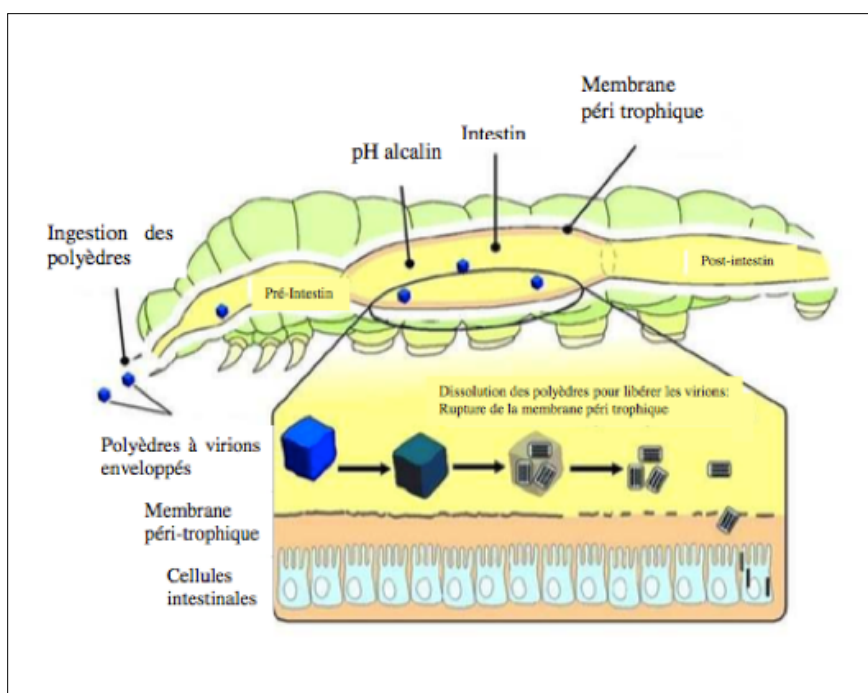
Les Ascovirus (Ascoviridae) regroupe principalement des isolats provenant d'insectes de l'ordre des lépidoptères (Ibarra and Del Rincón-Castro 2008). Il s'agit de virions enveloppés de forme généralement bacilliforme ou réniforme, contenant une molécule bicaténaire d'ADN qui selon les espèces varie de 130 à 186kbp (Federici et al. 2009).

Le *Spodoptera exigua* est un lépidoptère causant d'importants dégâts sur les cultures de coton. En recherche d'un microorganisme pathogène antagoniste, Hu et al. (2016) ont confronté l'insecte au virus *Heliothis virescens* ascovirus 3h (HvAV-3h). S'il en résulte un temps de survie plus long chez les populations infectées, la prise de nourriture a été considérablement réduite chez les larves malades, ce qui se traduit par une diminution de la masse corporelle au 5^e stade larvaire.

Explication du mécanisme d'infection des Baculovirus

La contamination des hôtes par les Baculovirus peut se faire de différentes façons : l'ingestion, les voies ovariennes et par contact direct. La transmission virale débute par l'absorption des corps d'inclusions (OB) par l'insecte hôte.

Ces virus produisent dans le noyau des cellules infectées des corps d'inclusion constitués essentiellement de polyédrons. Ces polyèdres sont décomposés dans l'intestin basique des larves. La libération des virions dans les cellules intestinales se fait par endocytose (fusion membranaire). Ils infectent et se reproduisent dans les hémocytes et les tissus adipeux de l'hôte. La contamination est limitée à l'intestin chez les lépidoptères. Les virus produisent des enzymes spécifiques, appelées



protéases, qui permettent aux chenilles de relâcher les corps d'inclusions (Figure 1). Elles prennent une couleur pâle et deviennent flasques après l'attaque du virus, puis le virus envahit l'ensemble des cellules de la chenille. Les corps d'inclusion, libérés suite à la mort de l'insecte, peuvent évidemment déclencher une autre infection en délivrant leurs particules

virales. Le pathogène peut être transmis d'un insecte à un autre (transmission horizontale)(Canning 1982), ou d'un parent à sa descendance par transmission verticale (Fine 1975). Les Baculovirus utilisent dans la majorité des cas la transmission horizontale (Davidson et al. 1981). Ils entrent essentiellement par voie buccale, par absorption d'aliments ou de déjections

fécales infectées. Ils peuvent se transmettre aussi par les téguments. Les hyménoptères peuvent transmettre le virus à l'aide de leur ovipositeur.

Conclusion

L'utilisation des virus contre les lépidoptères, la gestion intégrée des ravageurs (IPM, Integrated Pest Management), en synergie avec d'autres méthodes de lutte telle que l'application du Bt, ayant peu d'impact sur les insectes non cibles, présentent une stabilité physique et biologique considérable dans l'environnement et sont aisément formulés et appliqués. Un inconvénient est le risque de développement de résistances, si l'utilisation est systématique comme dans le cas du virus de la Granulose (Charmillot et al. 2007) contre le carpocapse. La combinaison des virus d'autres méthodes de lutte est recommandée pour réduire ce risque. De plus il apparaît nécessaire d'étudier l'application au champ de ces virus puisque l'essentiel de la recherche a été réalisée jusqu'à maintenant en laboratoire, pour ces nouveaux virus prometteurs.

**Kevin Piato, Morgan Le Guen
Enis Mathlouthi, Charles Palmen**

Bibliographie

- Alexandre, Talita M., Zilda Maria A. Ribeiro, Saluana R. Craveiro, Fabiane Cunha, Ines Cristina B. Fonseca, Flávio Mos-cardi, and Maria Elita B. Castro. 2010. «Evaluation of Seven Viral Isolates as Potential Biocontrol Agents against *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) Caterpillars.» *Journal of Invertebrate Pathology* 105 (1): 98–104. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201110001345>.
- Baroffio, Catherine. 2011. «Plantes Aromatiques et Médicinales: Lutte Contre Les Chenilles Noctuelles En Cultures de Plantes Aromatiques.» *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture* 43 (4): 216–221. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3718536>.
- Bass, Chris, Ian Denholm, Martin S. Williamson, and Ralf Nauen. 2015. «The Global Status of Insect Resistance to Neon-icotinoid Insecticides.» *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121: 78–87.
- Behle, Robert W., Patricia Tamez-guerra, and Michael R. McGuire. 2003. «Field Activity and Storage Stability of Anagra-pha Falcifera Nucleopolyhedrovirus (AfMNPV) in Spray-Dried Lignin-Based Formulations.» *Journal of Economic Entomology* 96 (4): 1066–1075. <http://jee.oxfordjournals.org/content/96/4/1066.abstract>.
- Canning, Elizabeth U. 1982. "An Evaluation of Protozoal Characteristics in Relation to Biological Control of Pests." *Para-sitology* 84 (04): 119–149.
- Capinera, John L. 2000. European Corn Borer, *Ostrinia Nubilalis* (Hubner)(Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). Citeaser. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.543.3528&rep=rep1&type=pdf>.
- Castro, Ma Cristina Del Rincón, and Jorge E. Ibarra. 2011. Entomopathogenic Viruses. https://www.researchgate.net/publication/263765284_Entomopathogenic_Viruses.
- Charmillot, P. J., D. Pasquier, Ch Salamin, F. Briand, A. Ter-Hovannesian, A. Azizian, H. Kutinkova, P. Peeva, and N. Velcheva. 2007. "Détection de La Résistance Du Carpocapse *Cydia Pomonella*: Tests D'insecticides Sur Des Chenilles Diapausantes de Suisse, d'Arménie et de Bulgarie." *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture* 39 (6): 385–389. <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=19948289>.
- Cheikhravat, P, François Lefort, and Pierre-Yves Bovigny. 2012. "La Pyrale du buis *Cydalima perspectalis*." • Cochard, B, Pierre-Yves Bovigny, and François Lefort. 2014. "Processionnaire du pin." • Coutin, Remi. n.d. "Acariens et Insectes Du Tilleul." *Insectes* n°106.
- Davidson, Elizabeth W., and others. 1981. Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases. Allanheld, Osman & Co. Publishers. <http://www.cabdirect.org/abstracts/19820591548.html>.
- Desneux, Nicolas, Eric Wajnberg, Kris AG Wyckhuys, Giovanni Burgio, Salvatore Arpaia, Consuelo A. Narváez-Vasquez, Joel González-Cabrera, et al. 2010. "Biological Invasion of European Tomato Crops by *Tuta Absoluta*: Ecology, Geographic Expansion and Prospects for Biological Control." *Journal of Pest Science* 83 (3): 197–215.
- Erwin, Terry L. 1982. "Tropical Forests: Their Richness in Coleoptera and Other Arthropod Species." *Coleopterists Bulletin* 36 (1): 74–75. http://people.uncw.edu/rotenbergj/Class%20Documents/430/Tropical%20Forests_Their%20Richness%20in%20Coleoptera%20and%20Other%20Arthropod%20Species.pdf.
- Farinos, Gema P., Marta de la Poza, Pedro Hernandez-Crespo, Felix Ortego, and Pedro Castanera. 2004. "Resistance Monitoring of Field Populations of the Corn Borers *Sesamia Nonagrioides* and *Ostrinia Nubilalis* after 5 Years of Bt Maize Cultivation in Spain." *Entomologia Experimentalis et Applicata* 110 (1): 23–30. doi:10.1111/j.0013-8703.2004.00116.x.
- Federici, B. A., D. K. Bideshi, Y. Tan, T. Spears, and Y. Bigot. 2009. "Ascoviruses: Superb Manipulators of Apoptosis for Viral Replication and Transmission." In *Lesser Known Large dsDNA Viruses*, 171–196. Springer. http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-68618-7_5.
- Ferré, Juan, M. Dolores Real, Jeroen Van Rie, Stefan Jansens, and Marnix Peferoen. 1991. "Resistance to the *Bacillus Thuringiensis* Bioinsecticide in a Field Population of *Plutella Xylostella* Is due to a Change in a Midgut Membrane Receptor." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 88 (12): 5119–5123.
- Fine, Paul E. M. 1975. "Vectors and Vertical Transmission: An Epidemiologic Perspective." *Annals of the New York Acad-emy of Sciences* 266 (1): 173–94. doi:10.1111/j.1749-6632.1975.tb35099.x.
- Fleury, Dominique. 2015. "Tordeuse présente en verger de pom- miers sur l'arc lémanique." • Harari, Ally R., Tirtza Zahavi, and Hadass Steinitz. 2015. "Female Detection of the Synthetic Sex Pheromone Contributes to the Efficacy of Mating Disruption of the European Grapevine Moth, *Lobesia Botrana*." *Pest Management Sci-ence* 71 (2): 316–322.
- Hu, Jue, Xing Wang, Yue Zhang, Yang Zheng, Shuang Zhou, and Guo-Hua Huang. 2016. "Characterization and Growing Development of *Spodoptera Exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae Infected by *Heliiothis Virescens* Ascovirus 3h (HvAV-3h)." *Journal of Economic Entomo-*

logy, tow183. <http://jee.oxfordjournals.org/content/early/2016/08/22/jee.tow183.abstract>. • Hunter-Fujita, Frances R., P. F. Entwistle, H. F. Evans, N. E. Crook, and others. 1998. Insect Viruses and Pest Management. John Wiley & Sons Ltd. <http://www.cabdirect.org/abstracts/19981105344.html>. • Ibarra, Jorge E., and M. Cristina Del Rincón-Castro. 2008. "Insect viruses diversity, biology, and use as bioinsecticides." https://www.researchgate.net/profile/Jorge_Ibarra/publication/266489170_INSECT_VIRUSES_DIVERSITY_BIOLOGY_AND_USE_AS_BIOINSECTICIDES/links/54354d340cf2bf1f287368.pdf. • Kehrl, Patrik, D. Pasquier, Stefan Kuske, and L. Kaiser. 2014. "La Tordeuse Orientale Du Pêcher Resurgit." *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture* 46 (1): 71–73. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4588603>. • Kergunteuil, Alan, Moe Bakhtiari, Ludovico Formenti, Zhenggao Xiao, Emmanuel Defossez, and Sergio Rasmann. 2016. "Biological Control beneath the Feet: A Review of Crop Protection against Insect Root Herbivores." *Insects* 7 (4): 70. <http://www.mdpi.com/2075-4450/7/4/70/htm>. • Knight, A. L. 2007. "Multiple Mating of Male and Female Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae) in Apple Orchards Treated with Sex Pheromone." *Environmental Entomology* 36 (1): 157–164. • Korycinska, A., H. Moran, and others. 2009. "South American Tomato Moth Tuta Absoluta." *South American Tomato Moth Tuta Absoluta*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20117800388>. • Kouassi, Mathias de. 2001. "Les possibilités de la lutte microbiologique." *Vertigo* - la revue électronique en sciences de l'environnement, no. Volume 2 Numéro 2 (October). doi:10.4000/vertigo.4091. • Lacey, Lawrence A., Jürgen Kroschel, Steven P. Arthurs, and Francisco De La Rosa. 2010. "Control Microbiano de La Palomilla de La Papa Phthorimaea Operculella (Lepidoptera: Gelechiidae)." *Revista Colombiana de Entomología* 36 (2): 181–189. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-04882010000200001. • Laleye, Wilfried. 2007. "Interaction de Baculovirus MaviNPV et du Parasitoïde (Apanteles taragamae (Viereck)) (Hymenoptera : Braconidae) pour le contrôle de Maruca vitrata Fabricius (Lepidoptera : Pyralidae)." <http://www.memoireonline.com/08/09/2503/m-Interaction-de-Baculovirus-MaviNPV-et-du-Parasitoïde-Apanteles-taragamae-Viereck-Hymenoptera-4.html>. • Mascarin, Gabriel Moura, Sérgio Batista Alves, Fátima Teresinha Rampelotti-Ferreira, Mariana Ragassi Urbano, Clarice Garcia Borges Demétrio, and Italo Delalibera Jr. 2010. "Potential of a Granulovirus Isolate to Control Phthorimaea Operculella (Lepidoptera: Gelechiidae)." *BioControl* 55 (5): 657–671. <http://link.springer.com/article/10.1007/s10526-010-9277-y>. • Meier, Franz, Roland Engesser, Beat Forster, Oswald Odermatt, Alexander Angst, and Doris Hölling. 2013. "Protection Des forêts-Vue D'ensemble 2012." Institut Fédéral de Recherches Sur La Forêt, La Neige et Le Paysage WSL, Birmensdorf. http://www.chery.ch/public/images/www.wsl.ch_fe_walddynamik_waldschutz_wsinfo_fsueb_fsub11f.pdf. • Melo, André Luiz de Almeida, Vanete Thomaz Soccol, and Carlos Ricardo Soccol. 2016. "Bacillus Thuringiensis: Mechanism of Action, Resistance, and New Applications: A Review." *Critical Reviews in Biotechnology* 36 (2): 317–326. • Nardi, Sandro, Emanuela Ricci, Roberto Lozzi, Francesco Marozzi, Edith Ladurner, Federico Chiabrando, Nunzio Isidoro, Paola Riolo, and others. 2009. "Use of Entomopathogenic Nematodes for the Control of Paysandisia Archon Burmeister." *IOBC/Wprs Bull* 45: 375–378. • Oliveira, Celso Mattes de, Valter Carvalho de Andrade Júnior, Wilson Roberto Maluf, Irá Pinheiro Neiva, and Gabriel Mascarenhas Maciel. 2012. "Resistance of Tomato Strains to the Moth Tuta Absoluta Imparted by Allelochemicals and Trichome Density." *Ciência E Agrotecnologia* 36 (1): 45–52. • Payne, C. C. 1982. "Insect Viruses as Control Agents." *Parasitology* 84 (04): 35–77. http://journals.cambridge.org/abstract_S0031182000053609. • Qayyum, Mirza Abdul, Waqas Wakil, Muhammad Jalal Arif, Shahbaz Talib Sahi, and others. 2015. "Bacillus Thuringiensis and Nuclear Polyhedrosis Virus for the Enhanced Bio-Control of Helicoverpa Armigera." *International Journal of Agriculture and Biology* 17 (5): 1043–1048. https://www.researchgate.net/profile/Mirza_Qayyum2/publication/282239380_Bacillus_thuringiensis_and_Nuclear_Polyhedrosis_Virus_for_the_Enhanced_Bio-control_of_Helicoverpa_armigera/links/56eba1d108ae9dcd82ae46b.pdf. • Rose, Jana, Regina G. Kleespies, Yongjie Wang, Jörg T. Wennmann, and Johannes A. Jehle. 2013. "On the Susceptibility of the Box Tree Moth Cydalima perspectalis to Anagrapha falcifer Nucleopolyhedrovirus (AnfaNPV)." *Journal of Invertebrate Pathology* 113 (3): 191–197. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201113000505>. • Siqueira, H. A. A., R. N. C. Guedes, and M. C. Picanco. 2000. "Cartap Resistance and Synergism in Populations of Tuta Absoluta (Lep., Gelechiidae)." *Journal of Applied Entomology* 124 (5–6): 233–238. • Smith, S. M. 1996. "Biological Control with Trichogramma: Advances, Successes, and Potential of Their Use." *Annual Review of Entomology* 41: 375–406. doi:10.1146/annurev.en.41.010196.002111. • Takahashi, Maho, Madoka Nakai, Yasumasa Saito, Yasushi Sato, Chikara Ishijima, and Yasuhisa Kunimi. 2015. "Field Efficacy and Transmission of Fast-and Slow-Killing Nucleopolyhedroviruses That Are Infectious to Adoxophyes Honmai (Lepidoptera: Tortricidae)." *Viruses* 7 (3): 1271–1283. <http://www.mdpi.com/1999-4915/7/3/1271/htm>. • Van Regenmortel, Marc HV, C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, E. B. Carstens, M. K. Estes, S. M. Lemon, J. Maniloff, et al. 2005. *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*. 8th Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press. <ftp://124.16.170.34/Virus%20taxonomy%20%20classification%20and%20nomenclature%20of%20viruses%20%20eighth%20report%20of%20the%20International%20Committee%20on%20the%20Taxonomy%20of%20Viruses.pdf>.

III

Mildiou de la vigne, une nouvelle bactérie pour moins de cuivre

Pour les vignerons suisses, le millésime 2006 risque de rester dans les mémoires pour son arrière-goût de... mildiou ! Les pluies abondantes jusqu'au mois de juillet ont créé les conditions de chaleur et d'humidité propices au développement du micro-organisme responsable du mildiou de la vigne : *Plasmopara viticola*. Derrière ce nom savant se cache un oomycète* importé des États-Unis au 19^e siècle qui hiverne dans le sol et pénètre dans la vigne au printemps. Il se développe alors dans les tissus verts comme les feuilles et les inflorescences. S'il n'est pas contrôlé, *Plasmopara viticola* entraîne alors un dessèchement complet des grappes pouvant engendrer des pertes de rendement considérables.

* Les oomycètes sont des microorganismes pluricellulaires filamenteux longtemps assimilés à des champignons en raison de leur morphologie mais sont en fait apparentés aux algues brunes dont ils seraient issus. Ils comprennent de redoutables pathogènes des plantes, essentiellement dans les genres *Phytophthora*, *Peronospora* et *Pythium*. *Phytophthora infestans* (mildiou de la pomme de terre) et *Plasmopara viticola* (mildiou de la vigne) sont par exemple la cause de pertes importantes en culture en absence de protection phytosanitaire.

Dès son introduction accidentelle en Europe au XIX^e siècle, *Plasmopara viticola* causa de sérieux dommages aux vignobles du continent. Dès lors, le contrôle de ce pathogène a été un enjeu économique très important, en

particulier pour des pays comme l'Italie, l'Espagne ou la France, les trois premiers producteurs mondiaux de vin¹. En Suisse, le vignoble s'étend sur environ 15'000 hectares et la production de vin représente 5% des revenus agricoles²,

soit plus que le maraîchage ou la pomme de terre. Les ravageurs de la vigne, insectes, acariens, champignons et autres pathogènes, préoccupent donc plus d'un(e) agronome.



source : switzerland-family-office.com

Face aux insectes ravageurs, le contrôle biologique est un succès depuis les années 90 grâce à la confusion sexuelle utilisée sur 60% du vignoble suisse³. En revanche, la lutte contre les maladies fongiques n'a pour l'instant pas bénéficié d'alternative à l'utilisation de produits phytosanitaires dont les conséquences sur la santé et l'environnement restent préoccupantes. Près de dix traitements par an sont nécessaires pour protéger la vigne des maladies fongiques⁴, dont l'une des plus problématiques est le mildiou causé par *Plasmopara viticola*. Cette maladie diminue non seulement la quantité et la qualité de la production mais peut aussi avoir un impact sur la récolte de l'année suivante si la défoliation a été trop violente.

La lutte contre cette maladie fongique est inévitable pour obtenir une récolte et les alternatives aux produits chimiques sont rares. La réduction des doses appliquées peut parfois être périlleuse tant le développement de la maladie est sensible aux conditions climatiques. Ce fut le cas au printemps 2016, durant lequel, pour la première fois, un grand nombre de viticulteurs du Lavaux (VD) n'ont pas répandu les traitements chimiques habituellement utilisés sur la vigne mais les ont remplacés par des produits tels que le soufre et des extraits d'algues. Malheureusement ces traitements alternatifs n'ont pas réussi à faire face à un printemps très humide. Cette année là, les vigneron·nes ont enregistré les plus gros dégâts dus au mildiou depuis 20 ans⁵. Certains domaines ont subi jusqu'à 95% de pertes, avec des pertes économiques pour les viticulteurs de 100 à 150'000 francs.

Le cycle de développement infectieux du pathogène est grandement favorisé par les conditions chaudes et humides. *Plasmopara viticola* passe l'hiver sous forme d'oospores au sol dans les feuilles mortes. Ces spores arrivent à maturité au printemps en fonction de la quantité de pluies hivernales.

Dès que les températures atteignent 11°C et si l'humidité est toujours suffisante, les oospores germent et forment des zoospores flagellées capables de se déplacer dans l'eau libre. Ces zoospores effectuent la contamination primaire des feuilles de la vigne. Elles germent par les stomates et développent leur mycélium à l'intérieur de la plante. À ce moment apparaissent les premiers symptômes comme les fameuses «taches d'huile». Une fois le substrat épuisé, le mycélium forme des conidiophores (fig.1) qui produiront d'autres zoospores.

Ces nouvelles zoospores vont induire une seconde contamination en se disséminant par l'eau de pluie et en infectant de nouveaux organes de la plante.

Une lutte intense qui montre de plus en plus ses limites

Pour protéger les précieuses grappes, les fongicides de synthèse sont employés préventivement selon les prévisions du développement du mildiou en fonction des conditions climatiques. Les produits sont appliqués en pulvérisation foliaire durant les stades sensibles autour de la floraison de la vigne⁶. Les viticulteurs

bénéficient désormais d'outils d'aide à la décision tels que VitiMeteo Plasmopara⁷, un modèle prévisionnel permettant de cibler les étapes clé du cycle biologique du mildiou et de réduire ainsi le nombre de traitements.

La matière active la plus utilisée en Suisse est le folpet, un fongicide de contact organochloré et organosulfuré, agissant sur la respiration et inhibant la germination des spores. La lutte indirecte, par l'aération du feuillage et l'élimination des parties contaminées a également son importance.

En agriculture biologique les moyens de lutte se résument à peu de choses pour l'instant: le cuivre et quelques décoctions de plantes. Le cuivre, employé depuis la fin du XIXe siècle sous diverses formes, telles que la célèbre bouillie bordelaise (sulfate de cuivre neutralisé) est efficace contre une large gamme de champignons et est très utilisé, même en viticulture conventionnelle.

La lutte est intense, mais tout produit de traitement a ses limites: on ne sera pas surpris de découvrir des souches de mildiou résistantes aux fongicides de la famille des strobilurines dans le vignoble suisse⁸. Pas d'étonnement non plus devant



© DELMOTTE J. (INRA)

Figure 1 – sporulation de *Plasmopara viticola* sur jeune fruits de vigne

les symboles de toxicité pour l'environnement et la santé humaine retrouvés sur les produits du commerce. Même le cuivre n'échappe pas à la mention «dangereux pour l'environnement, nocif».

La teneur en cuivre de certains sols viticoles dépasse d'ailleurs le seuil de toxicité. La réglementation suisse impose de ne pas dépasser 4 kg de cuivre/ha/an alors que sous la pression parasitaire, certains vigneron·ne·s ne parviennent pas à respecter cette dose⁹. L'accès restreint et contesté aux ressources en cuivre vient ajouter une ombre supplémentaire au tableau.

Désormais, avec plus de 1200 CHF par hectare dépensés en fongicides en 2013¹⁰, la santé de la vigne s'achète à prix d'or.

Les moyens de lutte microbiologique: une alternative en plein essor

Les désavantages liés à l'utilisation du cuivre comme fongicide incitent au développement de fongicides non toxiques. Depuis les années 1960, le secteur de la lutte biologique connaît une forte expansion qui s'explique par les dégâts environnementaux et autres problèmes de santé publique causés par les pesticides chimiques. On estime que le chiffre d'affaires du secteur de la lutte biologique va atteindre près de 9 milliards de dollars d'ici à 2022¹¹, soit 10% du marché phytosanitaire mondial.

Une initiative européenne, «Replacement of Copper Fungicides in Organic Production of Grapevine and Apple in Europe (REPCO)», développée entre 2013 et 2007, a visé à encourager la recherche et la commercialisation de nouvelles mesures de contrôle du mildiou en agriculture biologique afin de diminuer l'utilisation de produits phytosanitaires à base de cuivre. Malgré quelques résultats encourageants avec certains produits, aucune alternative au cuivre suffisamment efficace n'a été découverte pour l'instant. En Suisse, un programme de recherche d'Agroscope sur la biodiversité microbienne a été lancé et encourage la découverte de bactéries et champignons qui pourraient être utiles pour les filières agricoles et alimentaires¹². L'utilisation de bactéries entomopathogènes, telles que *Bacillus thuringiensis*, en lutte microbiologique contre les insectes ravageurs est l'usage le plus répandu de bactéries en lutte biologique. D'autres bactéries possèdent des propriétés anti-fongiques et peuvent être alternatives ou complémentaires à la lutte chimique contre certains champignons¹³.

Les modes d'action des bactéries contre les champignons sont variés et se complètent entre eux. L'antagonisme, la compétition pour les ressources ou encore l'émission de toxines, de substances antifongiques et de Stimulateurs des Défenses Naturelles (SDN) permettent d'inhiber le développement et l'agressivité du mycélium et induit parfois une résistance de la plante contre l'attaque des champignons pathogènes. Actuellement en Suisse, quelques produits contenant des bactéries sont homologués contre des infections fongiques en agriculture. Par exemple, le produit Amylo-X contenant la bactérie *Bacillus amyloliquefaciens*, comme matière active, est particulièrement efficace contre le champignon responsable de la pourriture grise, *Botrytis cinerea*, en raison de son antagonisme.

Malgré ces exemples intéressants de bactéries comme agents de lutte biologique contre certains champignons pathogènes, à ce jour aucune bactérie n'est commercialisée contre *Plasmopara viticola* en Suisse¹⁴.

Une bactérie prometteuse résistante au cuivre

En 2011, Géraudo Puopolo, phytopathologiste de la fondation italienne Edmund Mach, a isolé une nouvelle souche, nommée AZ78, de l'espèce *Lysobacter capsici*, à partir de la rhizosphère d'un plant de tabac. Cette espèce est connue pour son activité antibiotique contre plusieurs bactéries et champignons du sol¹⁵.

Dès les premiers essais de caractérisation, la souche AZ78 démontre une forte action antifongique ainsi qu'une résistance à de nombreux facteurs de stress environnementaux¹⁶, ce qui amène à préciser son mode d'action dans le cadre de plusieurs travaux. Les essais réalisés en laboratoire ainsi que sur des vignes en serre démontrent que *L. capsici* AZ78 réduit la sévérité du mildiou de la vigne sous le seuil des 10% soit une efficacité comparable aux traitements au cuivre utilisés en agriculture biologique¹⁷. Cette souche démontre également une excellente capacité de survie en milieu humide (les conditions les plus propices au développement du champignon), aux conditions de sécheresse, de gel ainsi qu'une résistance complète au cuivre.

Cette résistance au cuivre est particulièrement intéressante, et s'explique par la présence d'un gène codant pour une enzyme Cuivre Oxydase, capable, d'oxyder le cuivre c'est à dire de lui arracher un

électron, neutralisant par là même une grande partie de sa toxicité¹⁸.

Le séquençage du génome de cette bactérie a aussi révélé la présence d'un gène codant pour la production d'une molécule cyclique antifongique¹⁹ ainsi que de gènes codant pour la production de protéases en grande quantité²⁰. Les protéases sont des enzymes capables de digérer les protéines et sont probablement impliquées dans le contrôle de *Plasmopara viticola*.

Cette bactérie est aussi équipée de gènes de résistance aux métaux lourds comme le cadmium, le cobalt, le zinc en sus du cuivre. Les recherches s'orientent aujourd'hui vers une commercialisation de la bactérie. Les premiers essais de production à grande échelle ont abouti à une formulation efficace et stable dans le temps: après un an de stockage à 4°C, la bactérie et sa formulation permettaient toujours de réduire de 71% les attaques de *Plasmopara viticola*²¹. La question de la formulation est cependant encore à l'étude car il reste une trop grande variabilité dans la survie d'AZ78 sur le feuillage face aux conditions environnementales en plein champ²².

Les derniers écueils avant la commercialisation

Un biofongicide formulé à base de *Lysobacter capsici* AZ78 permettrait donc de lutter plus efficacement contre *Plasmopara viticola* tout en réduisant considérablement les doses de cuivre. Si la perspective d'une meilleure production plus respectueuse de l'environnement est enthousiasmante, il reste encore plusieurs écueils scientifiques et financiers avant la commercialisation d'un tel produit. N'oublions pas en effet que tout nouveau produit phyto-sanitaire, biologique ou non, nécessite avant sa mise sur le marché une procédure d'homologation dont le coût est important²³.

Annabelle Berthet

Xavier Dupla

Mathilde Haenni

Isaline Quarta

Bibliographie

- ¹. « FAOSTAT », consulté le 29 septembre 2016, <http://faostat3.fao.org/home/E>. ². « Viticulture - VD.CH », consulté le 24 janvier 2017, <http://www.vd.ch/themes/economie/agriculture/lagriculture-pour-les-profanes/les-differentes-productions-agricoles/production-vegetale/viticulture/>. ³. Confédération Suisse, « Communiqué de presse: 25 ans de confusion sexuelle en Suisse », s. d. ⁴. Pierre-Henri DUBUIS, « Lutte contre le mildiou de la vigne avec le modèle VitiMeteoPlasmopara », Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture, s. d. ⁵. « Le mildiou attaque le plus grand domaine de Cornalin du monde », consulté le 24 janvier 2017, <https://www.letemps.ch/suisse/2016/10/04/mildiou-attaque-plus-grand-domaine-cornalin-monde>. ⁶. Christian Bohren et al., « Index phytosanitaire pour la viticulture 2015 », Revue suisse de viticulture, arboriculture et horticulture 47, no 1 (2015): 1001-1016. ⁷. DUBUIS, « Lutte contre le mildiou de la vigne avec le modèle VitiMeteoPlasmopara ». ⁸. Bohren et al., « Index phytosanitaire pour la viticulture 2015 ». ⁹. Monique Jonis, « Enquête sur les pratiques des vignerons biologiques », juin 2002, Alter Agri édition, sect. Viticulture. ¹⁰. Bohren et al., « Index phytosanitaire pour la viticulture 2015 ». ¹¹. Rohan Mickael, « Biopesticides Market worth 8.82 Billion USD by 2022 », consulté le 31 janvier 2017, <http://www.marketsandmarkets.com/PressReleases/biopesticide.asp>. ¹². « European Commission : CORDIS : Projects & Results Service : Novel measures for organic crop production », consulté le 31 janvier 2017, http://cordis.europa.eu/result/rcn/87922_en.html. ¹³. Mathias de Kouassi, « Les possibilités de la lutte microbiologique », Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement, no Volume 2 Numéro 2 (1 octobre 2001), doi:10.4000/vertigo.4091. ¹⁴. « Index des produits phytosanitaires: Substances actives », consulté le 31 janvier 2017, <http://www.psm.admin.ch/psm/wirkstoffe/index.html?lang=fr>. ¹⁵. Joo Hwang Park et al., « *Lysobacter Capsici* Sp. Nov., with Antimicrobial Activity, Isolated from the Rhizosphere of Pepper, and Emended Description of the Genus *Lysobacter* », International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 58, no Pt 2 (février 2008): 387-92, doi:10.1099/ijs.0.65290-0. ¹⁶. Puopolo et al., « First evidence of a *Lysobacter* member as a biological control agent of *Plasmopara viticola* ». ¹⁷. Gerardo Puopolo, Oscar Giovannini, et Ilaria Pertot, « *Lysobacter capsici* AZ78 can be combined with copper to effectively control *Plasmopara viticola* on grapevine », Microbiological Research 169, no 7-8 (juillet 2014): 633-42, doi:10.1016/j.micres.2013.09.013. ¹⁸. Erik Ladomersky et Michael J. Petris, « Copper tolerance and virulence in bacteria », Metallomics : integrated biometal science 7, no 6 (10 juin 2015): 957-64, doi:10.1039/c4mt00327f. ¹⁹. G. Puopolo et al., « *Lysobacter Capsici* AZ78 Produces Cyclo(-Pro-L-Tyr), a 2,5-Diketopiperazine with Toxic Activity against Sporangia of *Phytophthora Infestans* and *Plasmopara Viticola* », Journal of Applied Microbiology 117, no 4 (1 octobre 2014): 1168-80, doi:10.1111/jam.12611. ²⁰. Gerardo Puopolo et al., « The *Lysobacter capsici* AZ78 Genome Has a Gene Pool Enabling it to Interact Successfully with Phytopathogenic Microorganisms and Environmental Factors », Frontiers in Microbiology 7 (5 février 2016), doi:10.3389/fmicb.2016.00096. ²¹. Guillem Segarra et al., « Stepwise flow diagram for the development of formulations of non spore-forming bacteria against foliar pathogens: The case of *Lysobacter capsici* AZ78 », Journal of Biotechnology 216 (20 décembre 2015): 56-64, doi:10.1016/j.jbiotec.2015.10.004. ²². Guillem Segarra et al., « Monitoring *Lysobacter Capsici* AZ78 Using Strain Specific qPCR Reveals the Importance of the Formulation for Its Survival in Vineyards », FEMS Microbiology Letters 363, no 3 (1 février 2016): fnv243, doi:10.1093/femsle/fnv243. ²³. Mr. Rohan, « Biopesticides Market worth 8.82 Billion USD by 2022 ».

IV

Les organismes endophytes en lutte phytosanitaire biologique

Les microorganismes endophytes des végétaux commencent à peine à être connus mais pourraient représenter une forme de lutte biologique. La recherche sur ce sujet n'en est qu'à ses débuts.

Il devient courant d'entendre parler de flores microbiennes associées à l'épiderme, de flores digestives ou intestinales, de microbiotes chez l'humain. Mais les végétaux, aussi, cohabitent avec une multitude d'organismes endophytes, bactéries ou champignons présents dans les tissus végétaux des différents organes aériens ou souterrains des plantes.

Ces colocataires des plantes ont développé des stratégies diverses pour pénétrer à l'intérieur de leurs hôtes et y trouver nourriture et protection.

Qu'est-ce qu'un organisme endophyte ? Selon certains auteurs, on peut considérer n'importe quelle bactérie ou champignon comme un endophyte, s'il peut être isolé d'une surface saine d'un tissu d'une plante, ou extrait de l'intérieur de la plante et ne présente pas d'effets néfastes sur la plante. Ces organismes ne sont à priori pas néfastes. Certains d'entre eux ont même une capacité prouvée à devenir un agent de lutte complémentaire, à utiliser en combinaison avec d'autres méthodes et techniques, préventives (et non pas curatives) pour le développement de la lutte phytosanitaire microbiologique. Ce sujet d'étude récent et complexe est d'une

importance primordiale du point de vue agronomique, écologique et économique pour les défis futurs à relever.

Les recherches les plus récentes sur le sujet proposent l'hypothèse que les bactéries de types *Rhizobium spp.*, c'est-à-dire les bactéries à l'origine des nodules sur les légumineuses, dont l'existence et le fonctionnement sont connus depuis longtemps, seraient une sous-population de bactéries endophytes, qui, en co-évoluant avec les végétaux, se serait spécialisée pour devenir ces bactéries symbiotiques des racines qui rendent tant de services aux végétaux pour la mise à disposition et l'assimilation de l'azote.

Principe et méthodes d'inoculations

Avant de procéder à l'inoculation il est primordial d'isoler et d'identifier les endophytes bénéfiques au végétal étudié, pour pouvoir ensuite envisager de les multiplier en grand nombre en laboratoire pour ensuite les tester comme agent de protection phytosanitaire microbiologique.

En règle générale, l'inoculation d'un endophyte vise à faire pénétrer cet organisme (champignon ou bactérie) à

l'intérieur d'un végétal ou à l'appliquer sur les parties aériennes, avec le but d'améliorer sa résistance à divers facteurs biotiques ou abiotiques. Les endophytes peuvent fournir de nombreux avantages aux plantes: réduction des attaques par d'autres microorganismes pathogènes, augmentation de la résistance au stress hydrique, aide à l'assimilation des microéléments par les racines.

Les endophytes peuvent être généralistes ou spécialistes en termes de fonction et de plantes hôtes. Ils peuvent agir seuls ou en communauté dans des interactions extrêmement complexes entre eux. Ces communautés évoluent dans le temps, en fonction du stade phénologique de la plante et de son état sanitaire, en modifiant la proportion de leurs diverses composantes endophytes.

Les endophytes ont la capacité de pénétrer à l'intérieur des plantes par de nombreuses voies d'entrées telles que les radicelles, les stomates et les blessures d'origine anthropique ou résultantes de l'attaque de ravageurs phytophages. Ce sont les mêmes voies empruntées par les microorganismes pathogènes. La lutte microbiologique par les endophytes

ne peut être envisagée que de façon préventive. Les endophytes bénéfiques au végétal ne possédant pas de capacités curatives mais seulement la capacité d'inhiber ou de limiter les attaques et les mécanismes de reproduction et de développement des autres pathogènes par la concurrence pour le milieu, la synthèse de métabolites potentiellement toxiques ou inhibiteur du développement des microorganismes pathogènes.

Il est donc indispensable d'inoculer les endophytes au plus tôt lors du développement de la plante-hôte afin d'éviter l'installation d'autres agents pathogènes.

Dans l'hypothèse, où les pathogènes seraient plus compétitifs que les endophytes, les inoculations doivent apporter un nombre très élevé d'endophytes pour que leur population puisse se multiplier et occuper les organes internes des végétaux. De nombreuses méthodes d'inoculation sont possibles en fonction des organismes endophytes. Certains endophytes ont plus d'affinité pour les organes souterrains d'autres pour les organes aériens de la plante.

L'inoculation peut être réalisée par le traitement des semences, stérilisées au préalable afin de limiter la présence d'autres organismes potentiellement nuisibles pour le végétal, ou réduire la concurrence directe par d'autres endophytes. Les graines sont incubées dans une solution aqueuse contenant des endophytes en concentration élevée afin d'assurer le succès de l'inoculation¹. L'inoculation des racines ou l'humectation du substrat sont également possible afin d'obtenir une protection au niveau des organes végétaux souterrains².

Durant la période végétative, une inoculation sur le feuillage peut être pratiquée par pulvérisation dès l'apparition des premières feuilles.

Enfin, l'inoculation par arrosage localisé, en goutte-à-goutte, permet de conserver en permanence les populations d'endophytes préalablement installées afin de maintenir leur nombre et assurer leur survie sur une longue durée³.

La diversité des techniques d'inoculation d'endophytes permet de s'adapter aux spécificités de l'endophyte de la culture traitée. Ces techniques d'inoculation, principalement testées en laboratoire ou sur de petites parcelles, devraient être évaluées maintenant au champ. Les recherches sur les méthodes d'inoculation sont primordiales pour développer des méthodes applicables en agriculture.

Action directe et indirecte sur la santé des végétaux

Les organismes endophytes agissent de façon directes ou indirectes sur la santé des végétaux. L'endophyte obtient protection et nourriture de la part de l'hôte, sans mutualisme, car l'endophyte peut n'apporter aucun aspect positif au végétal inoculé en échange des nutriments. Cependant, l'occupation de l'espace dans les tissus végétaux, dans les espaces intercellulaires, offre une protection à la plante par compétition vis-à-vis des microorganismes pathogènes. Les actions indirectes moins connues sont attribuables au fait que ces organismes endophytes synthétisent des molécules, soit toxiques sur les pathogènes, soit inhibitrices de leur reproduction et leur développement.

Etat de la recherche actuelle

Le champignon endophyte *Fusarium oxysporum* (Fo 162) et la bactérie endophyte *Rhizobium* (G12) améliorent la résistance des plantes envers les nématodes racinaires *Meloidogyne incognita*⁴. Une inoculation de ces deux endophytes a été réalisée sur des plants de tomate. Ces nématodes racinaires à galles posent de graves problèmes⁵ et affectent des milliers d'hectares dans le monde, notamment en culture de tomate. L'interdiction du bromure de méthyle et l'absence de méthodes alternatives véritablement performantes conduisent à l'aggravation des maladies à nématodes sur les cultures légumières, d'où la nécessité de trouver de nouvelles méthodes de lutte. Les résultats de cette étude montrent que 14 jours et 21 jours après l'inoculation des nématodes, le développement du troisième stade juvénile et du stade adulte est significativement plus bas chez les plantes traitées par les deux endophytes par rapport au contrôle. On constate aussi une diminution significative du nombre d'œufs produits par femelle 35 jours après l'inoculation. Ces deux endophytes ont donc réduit la pénétration racinaire du nématode, son développement et sa reproduction. Dans une autre étude, des endophytes ont été isolés sur culture de blé et utilisés comme agents de biocontrôle contre *Pyrenophora tritici-repensis*, l'agent responsable de la tâche du blé⁶. La croissance, l'activité fongique et la sporulation de ce champignon pathogène du blé ont été suivies dans des cultures sous serre. La plupart des endophytes testés ont réduit significativement la croissance de

Pyrenophora tritici-repensis, de 11 à 15 jours après inoculation. *Bacillus* sp en essai in vitro et *Trichoderma hamatum* en serre ont montré les meilleurs résultats quant à la réduction du diamètre des colonies de pathogènes. De plus, la plupart des endophytes évalués dans cette étude ont entraîné des changements morphologiques des conidies et du mycélium du champignon pathogène.

Conclusion

De nombreuses recherches sont encore nécessaires dans le domaine de la lutte microbiologique par endophytes en particulier sur les méthodes d'inoculation et sur les interactions complexes entre plante et endophytes. C'est cependant un domaine prometteur pour une lutte microbiologique préventive et efficace, permettant de remplacer les produits chimiques.

Gabriel Marty
Yannick Barth
Flavien Merz
Madjid Zare

Sources

1. J. Hallmann et al., "Bacterial Endophytes in Agricultural Crops," *Canadian Journal of Microbiology* 43, no. 10 (October 1, 1997): 895–914, doi:10.1139/m97-131.
2. Jane Wairimu Gathage et al., "Prospects of Fungal Endophytes in the Control of Liriomyza Leafminer Flies in Common Bean Phaseolus Vulgaris under Field Conditions," *BioControl* 61, no. 6 (December 1, 2016): 741–53, doi:10.1007/s10526-016-9761-0.
3. "InfoMusa Vol 9 N 1 - Infomusa__La_revue_internationale_sur_bananiers_et_plantains_965.pdf," accessed February 1, 2017, https://www.bioversityinternational.org/fileadmin/_migrated/uploads/tx_news/Infomusa__La_revue_internationale_sur_bananiers_et_plantains_965.pdf.
4. "Effect of Inoculation of Bacillus Licheniformis on Tomato and Pepper - Document," accessed February 1, 2017, <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00886016/document>.
5. "Post-Infection Development and Histopathology of Meloidogyne Arenaria Race 1 on Arachis Spp. - Proite - 2008 - Plant Pathology - Wiley Online Library," accessed February 1, 2017, <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3059.2008.01861.x/abstract>.
6. "Tomate - Meloidogyne Spp. (Galles Racinaires)," accessed February 1, 2017, <http://ephytia.inra.fr/fr/C/4979/Tomate-Meloidogyne-spp-galles-racinaires>.
7. "Endophytes from Wheat as Biocontrol Agents against Tan Spot Disease," accessed February 1, 2017, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964415300244>.

Lutte microbiologique contre le feu bactérien, *Erwinia amylovora*

Le Feu bactérien, provoqué par la bactérie pathogène *Erwinia amylovora*, est une des maladies les plus destructrices, pour les cultures de fruits à pépin. En Suisse, diverses formes de lutte ont été utilisées depuis sa première apparition en 1989. Parmi elles, existent des traitements microbiologiques homologués peu connus mais efficaces, ouvrant la voie à de nouvelles pistes.

Cycle de développement

Les principaux vecteurs de cette bactérie sont le vent, la pluie, les oiseaux, les insectes et l'homme. L'infection a lieu au printemps, au niveau des fleurs ou des jeunes feuilles, puis se propage dans les tiges. À la fin de l'été ou à l'automne, ces infections donnent souvent lieu à des chancres qui se développent sur les branches et permettent la survie hivernale du pathogène. Au printemps suivant, les chancres continuent de s'étendre, et exsudent la bactérie¹.

Plantes hôtes

Cette bactérie affecte environ 200 espèces appartenant à 40 genres de la famille des Rosacées. Les plantes hôtes qui posent de sérieux problèmes économiques sont le pommier (*Malus x domestica*), le poirier (*Pyrus communis*) et dans une moindre mesure le cognassier. Certaines plantes ornementales et sauvages sont aussi susceptibles d'être contaminées et donc de participer à la dissémination du pathogène. En général, les souches d'*Erwinia amylovora* n'ont pas d'hôte spécifique, une souche présente sur pommier sera aussi pathogène pour un poirier ou un prunier².

Symptômes et dégâts

Les bouquets floraux sont généralement les points initiaux de l'infection. Puis les feuilles brunissent depuis le pétiole en formant un triangle brun typique. Les jeunes fruits touchés deviennent brun à noir, légèrement ridés et les jeunes pousses et les branches peuvent être rapidement touchées par l'infection. Sous l'écorce, le bois se colore de rouge-brun à brun foncé. Il est possible d'observer des gouttelettes jaunâtres d'exsudat bactérien sur les organes malades. La maladie peut aussi se déclarer sur les porte-greffes en automne, et cela se traduit par un dépérissement de l'arbre sans symptômes préalables³.

Législation Suisse

En 1996, une interdiction de déplacer les ruches a été mise en vigueur, et en 1999, des zones de contamination ont été définies afin de confiner le pathogène. Des

zones protégées ont aussi été définies pour la commercialisation de matériel de pépinière. Dans ces régions, seul le matériel végétal satisfaisant aux plus hauts standards de sécurité peut être utilisé. Les stratégies de protection pour toute la Suisse ont été introduites dans la Directive fédérale sur la lutte contre le feu bactérien de juin 2006. D'autre part, une ordonnance fédérale interdit la production et l'importation de cotonéaster et de *Photinia davidiana* depuis 2002. Certains cantons ont étendu cette interdiction à d'autres plantes-hôtes du feu bactérien⁴.

Etat des lieux en Suisse

Depuis l'apparition et les dégâts causés par *E. amylovora*, la Suisse a tenté de se pourvoir de différentes stratégies de lutte. Différentes en productions biologiques et conventionnelles, elles suivent toutefois la même ligne directrice. Elles consistent à utiliser divers pesticides et des variétés résistantes ou tolérantes, ou de développer des variétés résistantes porteuses de gènes de résistance issus d'espèces sauvages. L'amélioration pour des plantes résistantes s'est effectuée par rétrocroisement classique, avec deux parents dont les caractéristiques ont été sélectionnées préalablement. C'est une méthode longue et une alternative consiste à utiliser la cisgénèse. Mais les plants issus de cisgénèse sont considérés comme étant des OGM et le territoire Suisse n'en n'autorise pas la production. Enfin, une mesure exceptionnelle, soumise à autorisation est l'utilisation d'un antibiotique, la streptomycine, les années d'attaques particulièrement virulentes.

Par ailleurs, les mesures préventives recommandées sont les suivantes: 1/ gérer les populations de plantes hôtes du feu bactérien, 2/ élimination systématique des plants malades, 4/ utilisation de filets de protection, 5/ prohibition des apiculteurs nomades en période de floraison, 6/ utilisation de cultivars résistants ou tolérants, 7/ même mesure pour les porte-greffes. Une étude⁵ a fait l'état des lieux en Suisse, et montre que les méthodes utilisées pour la prévention et le traitement, sont efficaces, mais présentent plusieurs

problèmes à moyen, voir à court terme. En particulier, une baisse de la diversité en verger pourrait découler de l'utilisation d'un groupe restreint de variétés.

Aureobasidium pullulans – (Blossom-Protect / BPASc)

Publiée en 2006, une étude⁶ relate des essais d'évaluation de l'efficacité de deux préparations à base de *A. pullulans* (Blossom-Protect et BPASc). Ces essais ont montré de bons résultats in vitro et la meilleure efficacité sur 8 ans d'expérimentation en vergers de pommiers (de 1997 à 2004). Ils se rapprochent ainsi des résultats obtenus avec l'utilisation de Plantomycin, une préparation combinant plusieurs antibiotiques⁷.

Blossom-Protect est une préparation homologuée en agriculture biologique, composée de deux souches de *Aureobasidium pullulans* (DSM 14940 et DSM 14941). Son application associée avec une solution d'acide citrique permet d'abaisser le pH à 4 autour de l'hypanthe ce qui nuit à *E. amylovora* qui préfère un pH supérieur à 5. *A. pullulans* entre alors en compétition pour l'espace et les nutriments avec *Erwinia amylovora* et réduit son développement. Un essai sur des fleurs de pommier de la variété Gala cultivées in vitro démontre une réduction des symptômes de 88% à 93% suivant la souche. Cela indique une efficacité préventive égale à supérieure à une application antibiotique⁸.

Pantoea agglomerans – (BlightBan C9-1 / Blossom Bless)

La bactérie *Pantoea agglomerans* est reconnue efficace contre le feu bactérien, trois souches différentes sont commercialisées (P10c / C9-1 et E325). Suivant la souche utilisée, *P. agglomerans* agit par acidification du milieu, par antibiose (souche E325)⁹, ou par compétition pour l'espace et les ressources. Ces traitements montrent une bonne efficacité, néanmoins l'application doit être préventive car la bactérie doit pouvoir se développer avant *E. amylovora*¹⁰.

Pseudomonas fluorescens **(BlightBan A506)**

La souche A506 de *Pseudomonas fluorescens* a été isolée en Californie¹¹. Elle réduit les dommages causés par *E. amylovora*¹². La souche A506 entre en concurrence avec la bactérie du feu bactérien pour l'espace et les nutriments. Cette compétition contient le nombre de bactéries *E. amylovora* à bas niveau et permet d'éviter l'infection¹³. En 1996, *P. fluorescens* est commercialisée pour la lutte contre le feu bactérien. Elle intervient dans la préparation BlightBan A506, (traitement préventif). Ses modes d'action sont non seulement l'antagonisme concurrentiel, mais aussi l'exclusion préventive: *P. fluorescens* doit avoir colonisé les fleurs avant que l'infection ne se produise¹⁴.

Bacillus subtilis **(Serenade MAX)**

Bacillus subtilis est une bactérie antagoniste de nombreuses maladies et pathogènes des plantes¹⁵. La souche QST 713 de *B. subtilis* entre dans la composition de la préparation Serenade MAX. Cette bactérie agit selon des modes d'action préventifs: concurrence spatiale, empêchement de la fixation du pathogène sur la plante grâce à des sécrétions qui vont produire une zone d'inhibition. Elle induit également des mécanismes de résistance physiologique chez la plante hôte. L'application du produit se fait surtout en début de saison florale, lorsque les conditions sont les plus favorables au pathogène¹⁶.

Recherche actuelles en lutte microbiologique

Bactériophages

Une étude a été menée sur l'introduction et la transmission de bactériophages, c'est-à-dire de virus, spécifiques à *E. amylovora* sur pommier¹⁷. Cette recherche visait à évaluer la capacité des bactériophages

à s'implanter, évaluer leur persistance et leur potentiel de réduction d'*E. amylovora*. Deux souches différentes de virus, H5K et ϕ Ea104, originaires des USA et de Hongrie ont été testées. L'utilisation de bactériophages agissant sur des bactéries pathogènes est étudiée depuis longtemps, y compris chez l'Humain. Cependant, l'utilisation des virus est délicate car ils sont très sensibles aux conditions environnementales. Les essais menés ont montré une réduction importante des symptômes, bien que statistiquement non significative. Les bactériophages [...] peuvent pénétrer dans la plante et induire une diminution importante de la gravité des symptômes provoqués par *E. amylovora*. Ces résultats prometteurs devraient être approfondis par de nouvelles recherches concernant l'utilisation de bactériophages dans le contrôle du feu bactérien »¹⁸.

Levures

Aux Etats-Unis, une étude¹⁹ a mené des investigations sur la microflore indigène présente en verger, afin d'en identifier des antagonistes potentiels de *E. amylovora*. Parmi les microorganismes isolés, certaines levures du genre *Cryptococcus* s'avéraient efficaces. Ces organismes pourraient offrir une nouvelle voie de lutte.

Pseudomonas graminis

Décrite en 1999²⁰, *Pseudomonas graminis* est une bactérie Gram négative. La souche 49M formant des colonies pigmentées jaune a montré une activité protectrice contre le feu bactérien. Elle produit des composés métaboliques secondaires toxiques et entre en compétition pour les nutriments et l'espace avec *E. amylovora*²¹. En 1990 déjà, une étude²² avait constaté que de telles bactéries colonisaient fortement les fleurs et feuilles de poirier. Celles-ci étaient plus souvent détectées que *P. agglomerans* et *P. fluorescens*. La souche 49M a été testée en condition

de laboratoire et sous serre (Mikicinski et al. 2016)²³. La protection des fleurs de pommier ainsi que des bourgeons terminaux s'est montrée tout aussi, voire plus efficace qu'avec les souches de références A506 de *P. fluorescens* et C9-1 de *P. vagans*. Une efficacité supérieure a également été démontrée face aux produits BlightBan A506, Blossom Protect et Hortocyna 18 SP. Durant l'expérience, l'efficacité des traitements déclinait légèrement, le plus grand nombre de fleurs saines a été observé avec la souche 49M. Sur poires cependant, l'activité de la souche s'est montrée moins efficace mais nettement supérieure à celle du BlightBan A506 (plus de 10%). Aucune pathogénicité vis-à-vis des tissus végétaux n'a été montrée ce qui fait de *P. graminis* un candidat potentiel pour le développement d'un nouveau biopesticide contre *E. amylovora*. Une autre souche, UASWS1507, a été récemment isolée sur le tronc d'un *Malus pumila*²⁴. C'est le premier génome enregistré pour cette espèce et l'absence de toxines, de gènes de virulence et de maladies chez cette bactérie encourage l'utilisation à des fins agricoles et environnementales. De plus, la bactérie présente également des gènes de résistances contre les métaux ainsi qu'à quelques antibiotiques et possède des propriétés rhizobactériennes favorisant la croissance des plantes et un matériel génétique pouvant favoriser la minéralisation des phosphates organiques et la solubilisation des phosphates. *P. graminis* montre donc en plus de son activité protectrice contre *E. amylovora*, de nombreuses caractéristiques souhaitées dans la promotion de la croissance et du développement des plantes²⁵.

Gaëlle Balestra,
Hali Sakho et
Pablo Calderon

Sources

1. Arnaud Betty, « Etude des populations naturelles de la bactérie *Erwinia amylovora* et incidence au sein des vergers Québécois ». 2. Momol et Aldwinckle, « Genetic Diversity and Host Range of *Erwinia Amylovora* ». 3. Holliger, E., « Feu bactérien en Suisse ». 4. Ibid. 5. Gusberti et al., « Fire Blight Control ». 6. Kunz, S. et Haug, P., « Development of a strategy for fire blight control in organic fruit growing Entwicklung einer Strategie zur Feurebrandkämpfung in ökologischen Obstbau ». 7. Ibid. 8. Kunz, S., « Development of « Blossom-Protect » - a Yeast Preparation for the Reduction of Blossom Infections by Fire Blight ». 9. Pusey, Stockwell, et Mazzola, « Epiphytic Bacteria and Yeasts on Apple Blossoms and Their Potential as Antagonists of *Erwinia Amylovora* ». 10. Ait, Oujja, et Tahiri, « Evaluation of biological control agent *Pantoea agglomerans* P10c against fire blight in Morocco ». 11. Lindow, S.E. (University of California, Berkeley, CA), McGourty, G., et Elkins, R., « Interactions of Antibiotics with *Pseudomonas Fluorescens* Strain A506 in the Control of Fire Blight and Frost Injury to Pear ». 12. Wilson, M. (University of California, Berkeley, CA) et Lindow, S.E., « Interactions between the Biological Control Agent *Pseudomonas Fluorescens* A506 and *Erwinia Amylovora* in Pear Blossom ». 13. NuFarm ®, « BlightBan ® A506 and Agri-Mycin ® 17 Promote Better Control and Less Likelihood of Resistance (Fiche Technique) ». 14. Ibid. 15. Hutton, P. et al., « Biopesticide Registration Action Document *Bacillus Subtilis* Strains QST 713 (PC Code 006479) ». 16. Bayer, « Serenade® Max - fiche technique ». 17. Kolozsváriné Nagy et al., « Penetration and Translocation of *Erwinia Amylovora*-Specific Bacteriophages in Apple - a Possibility of Enhanced Control of Fire Blight ». 18. Ibid. 19. Pusey et al., « Antibiosis Activity of *Pantoea Agglomerans* Biocontrol Strain E325 Against *Erwinia Amylovora* on Apple Flower Stigmas ». 20. Behrendt et al., « A Taxonomic Study of Bacteria Isolated from Grasses ». 21. Mikicinski et al., « Antagonistic Potential of *Pseudomonas Graminis* 49M against *Erwinia Amylovora*, the Causal Agent of Fire Blight ». 22. Manceau et al., « BACTERIAL COLONIZATION OF FLOWERS AND LEAF SURFACE OF PEAR TREES ». 23. Julien Crovadore et al., « Whole-Genome Sequence of *Pseudomonas Graminis* Strain UASWS1507, a Potential Biological Control Agent and Biofertilizer Isolated in Switzerland », *Genome Announcements* 4, no 5 (27 octobre 2016): e01096-16, doi:10.1128/genomeA.01096-16. 24. Crovadore et al., « Whole-Genome Sequence of *Pseudomonas Graminis* Strain UASWS1507, a Potential Biological Control Agent and Biofertilizer Isolated in Switzerland ». 25. Ibid.

***Piriformospora indica*, un champignon endophyte multifonction**

***Piriformospora indica*, un champignon endophyte à fort potentiel agronomique, pour une agriculture moderne soucieuse de la protection des plantes.**

Piriformospora indica (*P. indica*) est un basidiomycète de la famille des Sebacinaceae découvert dans le désert de Thar en Inde en 1998¹. Son nom se réfère à ses spores en forme particulière de poire. *P. indica* colonise naturellement les angiospermes, notamment les orchidées et les gymnospermes, en tant qu'endophyte (Fig. 1). Il favoriserait la croissance des plantes, ainsi que leur résistance à la sécheresse et à la salinité et augmenterait l'absorption du phosphate du sol, tout en protégeant les plantes contre les champignons pathogènes. Dans un contexte de réchauffement climatique, d'appauvrissement et salinisation des sols et de besoins alimentaires grandissants, ce champignon et ses possibles associations avec des plantes cultivées pourrait s'avérer très intéressant.

Les essais conduits sur tabac, orge et haricot mungo, ont démontré que *P. indica* peut dissoudre et rendre disponible, pour les plantes, le phosphore contenu dans le phosphate de calcium et les roches, favorisant ainsi la croissance de végétaux associés. Comme aucune augmentation de l'activité enzymatique du champignon n'est observée, il est postulé qu'il solubiliserait le phosphore inorganique en acidifiant le milieu par libération d'acides organiques, sans agir sur le phosphore organique⁴. Si les mécanismes utilisés par le champignon pour solubiliser le phosphore inorganique sont les mêmes que ceux développés par les plantes vivant dans des milieux à faible disponibilité en phosphore, on peut s'attendre à ce que *P. indica* exsude des carboxylates tels

formant pas des groupes de radicelles denses à capacité exsudative, dans des sols pauvres en phosphore tels que les sols anciens de l'Australie et du Brésil ou les sols nouveaux à faible disponibilité en phosphore tels ceux du Chili et d'Argentine, où les plantes ont développé des racines spécialisées pour absorber plus de phosphore⁵. L'inoculation par *P. indica* de plantes cultivées pourrait permettre des gains de rendement, mais aussi une réduction en intrants phosphorés et par conséquent une diminution de l'eutrophication des milieux aquatiques en raison de la pollution par les engrais.

La salinité

La salinisation, d'origine naturelle ou anthropique, est l'une des causes majeures de dégradation des sols et touche aujourd'hui environ 20% des surfaces irriguées⁸. Trop de sel dans le sol provoque une augmentation de la pression osmotique et un stress oxydatif, des effets et des dommages dans les tissus comparables à ceux d'un stress hydrique, c'est-à-dire la sécheresse. Sur l'orge par exemple, une irrigation avec de l'eau salée montre une croissance différée et un déclin précoce de la culture. Plusieurs techniques permettent de garder un sol utilisable et cultivable en évitant l'excès de sel : limiter l'évaporation ou éviter une remontée de la nappe par capillarité, par exemple. *Piriformospora indica* pourrait protéger les plantes contre le stress salin. Cet endophyte, facilement cultivable sur des milieux artificiels, colonise les racines, aussi bien de monocotylédones comme le riz, l'orge et le blé, que des dicotylédones². Cela lui confère un avantage important par rapport à d'autres champignons symbiotiques. L'étude de l'influence de ce champignon en conditions de salinité, a montré que des plantes inoculées par *P. indica*, ont produit en conditions salines (300 mM NaCl), une quantité de biomasse égale à celle de plantes non inoculées et cultivées en conditions non salines⁹. Dans des conditions d'arrosage salin similaires (300 mM), le riz inoculé par *P. indica* a également montré une croissance supérieure aux plantes non inoculées et sous conditions de stress. Par ailleurs, il a été

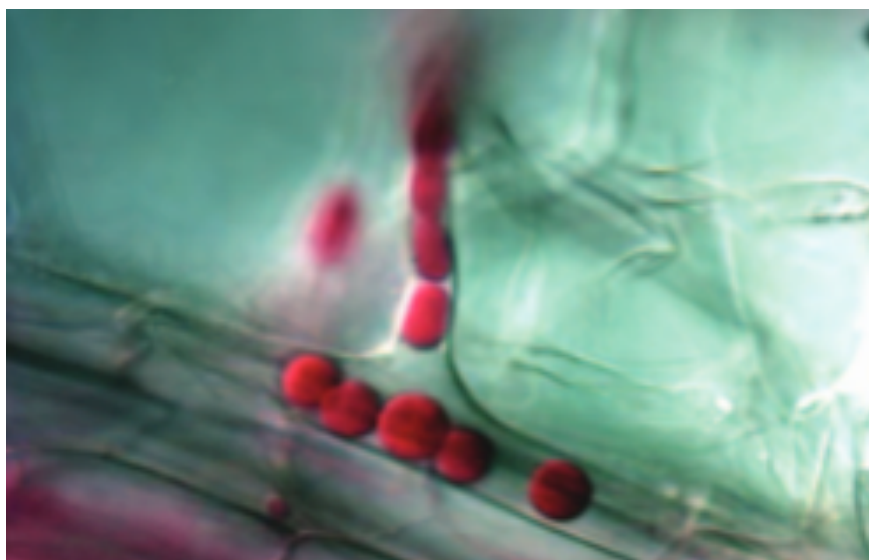


Fig. 1 : Les hyphes de champignons entrent par les poils racinaires des plantes. Le champignon forme des chlamydospores à l'intérieur des poils racinaires et rentre dans les cellules du rhizoderme².

Le phosphore

Le phosphore joue un rôle dans de nombreuses fonctions du métabolisme végétal. Il est l'un des éléments nutritifs essentiels nécessaires à la croissance et au développement des végétaux. Il participe aux structures de macromolécules comme les acides nucléiques et est essentiel aux fonctions de transfert d'énergie aussi bien dans les voies métaboliques de biosynthèse que de dégradation (ATP)³.

que le citrate⁵. D'après Gill et al. (2016), l'influence de *P. indica* sur l'absorption du phosphore par les plantes serait fonction de l'espèce concernée, induisant une augmentation jusqu'à dix fois du phosphore chez certaines espèces. Dans le cas du maïs, le champignon augmenterait l'absorption du phosphore et induirait un doublement de la biomasse produite dans des conditions de faible disponibilité en phosphore⁶. Cette meilleure assimilation est très probablement corrélée à l'augmentation du volume racinaire développé par la plante⁷.

Les effets de ce champignon devraient être aussi évalués sur des plantes à racines non protéoïdes, c'est-à-dire ne

démontré sous stress salin, une augmentation de la quantité d'antioxydants dans les plantes colonisées par le champignon. Ces antioxydants sont nécessaires pour limiter l'oxydation des lipides insaturés, qui cause des dommages irréversibles aux membranes cellulaires¹⁰.

La chaleur métabolique, ou thermogénèse, permet de prévenir du gel mais également d'attirer les insectes pollinisateurs en dispersant les odeurs qui leur sont destinées. Chez des plantes cultivées en milieu salin et colonisées par l'endophyte, la chaleur métabolique mesurée est plus importante que chez des plantes non inoculées⁹.

Les plantes colonisées par le champignon *Piriformospora indica* supportent des stress salins plus importants que des plantes non inoculées. Ces conditions salines ne sont pas rares sur la planète; les capacités de ce champignon promettent des cultures possibles sur des sols salinisés impropres aujourd'hui à l'agriculture.

Lutte microbiologique

La lutte contre les ravageurs et pathogènes des cultures par des microorganismes tels que bactéries et champignons est en plein développement. Certains comme *Bacillus thuringiensis* ou *Beauveria bassiana* ont déjà fait leurs preuves sur différentes cultures. *Piriformospora indica*, outre ses capacités de protection contre les facteurs abiotiques, possède des propriétés démontrées de protection des plantes contre des ravageurs, tels que *Heterodera glycines*, le nématode à kyste du soja¹¹, ou des champignons pathogènes comme *Fusarium culmorum* sur l'orge² (Fig. 2) *Alternaria solani*, agent de l'alternariose de la tomate¹².

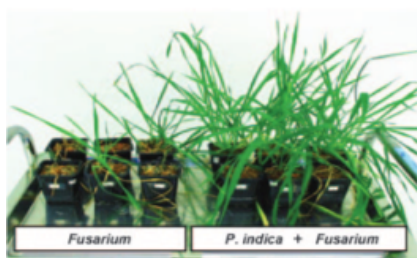


Fig. 2: Comparaison de deux traitements sur l'orge: *Fusarium culmorum* à gauche, *Fusarium culmorum* + *P. indica* à droite².

Chez la tomate, il a été observé que *P. indica* permet de diminuer la sévérité de la verticilliose de la tomate provoquée par le champignon *Verticillium dahliae*. Cette maladie se caractérise par l'apparition de jaunissement, de brunissement des tissus

vasculaires, la perte de turgescence et la mort de la plante. Elle cause de lourdes pertes économiques dans les cultures de tomates sous serre dans un grand nombre de pays. Les méthodes de lutte contre ce pathogène comprennent la fumigation, la rotation de cultures et l'utilisation de cultivars résistants. La lutte est difficile à cause de la persistance de *V. dahliae* dans le sol. De plus, l'apparition de souches capables de se développer même sur les cultivars résistants et les coûts économiques importants des longs cycles de rotation limitent l'efficacité de ces méthodes. L'inoculation de plantes par *P. indica* a montré une diminution de plus de 30% des dégâts de verticilliose chez les plantes infectées par *V. dahliae*. Cette protection serait liée aux taux d'antioxydants plus élevés en présence de *P. indica*, ainsi qu'à l'expression d'un gène de résistance aux situations de stress biotique qui est induit lors de l'inoculation par *P. indica*.

En cultures de tomates hydroponiques en Europe centrale, il a été démontré que *P. indica* permet une diminution de la concentration du « pepino mosaic virus » de 20% dans les tiges, avec pour conséquence une augmentation de rendement, ce ouvre une perspective intéressante son utilisation de en cultures hors sol¹³.

Environnement et toxicité

Le champignon étant originaire d'un climat chaud et sec¹, on peut se demander s'il peut survivre dans les conditions plus humides et fraîches du climat tempéré. Pour répondre à cette question, des chercheurs britanniques ont effectué un suivi de la présence du champignon dans le sol en fonction du temps et ont montré que le champignon peut survivre jusqu'à 15 mois dans le sol. L'introduction d'un organisme étranger dans un écosystème doit se faire avec beaucoup de précaution. Il est important de s'assurer de ne pas introduire un organisme potentiellement pathogène ou invasif. Selon ces chercheurs, il est probable que le champignon provoque une altération de la composition de la microfaune du sol et influence les interactions entre plantes, question qui devrait donc être approfondie afin de certifier le caractère inoffensif de cet organisme¹⁴. Par contre ce champignon est tout à fait inoffensif pour l'Homme et l'animal et le décryptage de son génome a prouvé qu'il ne possédait pas de gènes codant pour des toxines dangereuses pour l'Homme¹⁵.

Conclusion

Le champignon endophyte *Piriformospora indica* est porteur de promesses en tant qu'organisme de lutte microbiologique et promoteur de croissance des plantes cultivées. Il améliore l'absorption du phosphore, aide à la croissance en situation de stress salin et peut protéger les plantes contre les organismes pathogènes.

Piriformospora indica pourrait donc être un bon candidat pour une utilisation à large échelle en climat tempéré.

Dimitri Nicolaidis, Katrina Price,
Marie Terrettaz

Références

1. Verma, S. et al. *Piriformospora indica*, gen. et sp. nov., a New Root-Colonizing Fungus. *Mycol. Soc. Am.* 90, 896–903 (1998).
2. Waller, F. et al. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 13386–13391 (2005).
3. Johri, A. K. et al. Fungal association and utilization of phosphate by plants: success, limitations, and future prospects. *Front. Microbiol.* 6, (2015).
4. Ngwene, B., Boukail, S., Söllner, L., Franken, P. & Andrade-Linares, D. R. Phosphate utilization by the fungal root endophyte *Piriformospora indica*. *Plant Soil* 405, 231–241 (2016).
5. Lambers, H., Martinoia, E. & Renton, M. Plant adaptations to severely phosphorus-impoveryished soils. *Curr. Opin. Plant Biol.* 25, 23–31 (2015).
6. Gill, S. S. et al. *Piriformospora indica*: Potential and Significance in Plant Stress Tolerance. *Front. Microbiol.* 7, (2016).
7. Ghabooli, M. et al. Proteomics study reveals the molecular mechanisms underlying water stress tolerance induced by *Piriformospora indica* in barley. *J. Proteomics* 94, 289–301 (2013).
8. Boivin, P. Les sols salés, caractéristiques et fonctionnement. (2016).
9. Baltruschat, H. et al. Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants. *New Phytol.* 180, 501–510 (2008).
10. Jogawat, A. et al. *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedlings during high salt stress. *Plant Signal. Behav.* 8, e26891 (2013).
11. Bajaj, R. et al. The beneficial root endophyte *Piriformospora indica* reduces egg density of the soybean cyst nematode. *Biol. Control* 90, 193–199 (2015).
12. Roylewar, P., Panda, S. & Kamble, A. Comparative analysis of BABA and *Piriformospora indica* mediated priming of defence-related genes in tomato against early blight. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 91, 88–95 (2015).
13. Fakhro, A. et al. Impact of *Piriformospora indica* on tomato growth and on interaction with fungal and viral pathogens. *Mycorrhiza* 20, 191–200 (2010).
14. Rabiye, M., Ullah, I., Shaw, L. J. & Shaw, M. W. Potential ecological effects of *Piriformospora indica*, a possible biocontrol agent, in UK agricultural systems. *Biol. Control* 104, 1–9 (2017).
15. Zuccaro, A. et al. *Serendipita indica* DSM 11827, whole genome shotgun sequencing project. NCBI (2011). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/CAFZ000000000.1>. (Accessed: 18th January 2017)

Tentative d'inventaire des champignons entomophages homologués, pourquoi et comment ce secteur se développe ?

En raison de la lutte chimique, le monde agricole s'expose à des problématiques de résistances des ravageurs, de destruction de leurs ennemis naturels et de pollutions diverses qui affectent négativement l'environnement et la santé des hommes.

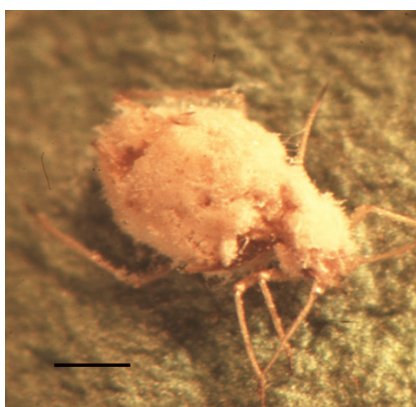
La lutte biologique contre les ravageurs s'est fixé l'objectif de prévenir ou d'en réduire les dégâts par le biais d'organismes vivants. Le contrôle biologique peut être effectué de plusieurs manières : par lutte biologique augmentative, qui peut être soit inoculative, en introduisant un organisme qui va se développer dans la culture et qui va contrôler le prochain pic de population de ravageurs ou inondative, en introduisant massivement un organisme dans le but de réprimer un pic de population de ravageurs observés. Enfin, la lutte biologique par conservation consiste à modifier l'environnement pour assurer l'efficacité des ennemis naturels des cultures déjà présents¹.

Les champignons font partie de ces organismes de lutte biologique et bien que 750 espèces soient pathogènes d'insectes, seuls 20 ont été étudiés comme agent de contrôle biologique. Ils ont l'avantage de préserver les autres ennemis naturels des ravageurs sans émettre de résidus toxiques pour l'environnement, sans phytotoxicité et sans conséquence sur la santé humaine. Ils offrent un contrôle persistant et chaque espèce de champignon s'attaque à des cibles spécifiques, ce qui couvre un large éventail d'insectes. Néanmoins, ils sont plus chers, à court terme, que les produits chimiques. Ils peuvent être affectés négativement par certaines conditions environnementales, ne pas avoir la même efficacité que les insecticides chimiques surtout dans un environnement extérieur et présenter un coût d'homologation élevé par rapport à la demande sur le marché puisque ce sont des produits de niche².

Mode d'action

Les champignons produisent des spores qui, après infection de l'hôte, germent à la surface de l'insecte et infectent le corps de celui-ci. La plupart des champignons entomopathogènes envahissent leurs hôtes en perçant la cuticule. L'infection par les spores ingérées est rare. Les épidémies provoquées par ces champignons peuvent réduire les populations de pucerons d'environ 80% en 4 à 10 jours et peuvent être prédites jusqu'à dix jours à l'avance. Une

fois l'insecte mort, le champignon sporule sur le cadavre de l'hôte provoquant la dispersion de l'agent entomopathogène et assurant la continuité de son cycle par l'infection d'autres ravageurs. L'application initiale sur la culture se fait généralement sous forme de mycélium².



Puceron vert du pêcher (Myzus persicae) tué par un Entomophthorales
Échelle, trait = 0,3 mm.

Production et commercialisation

Pour être commercialement avantageuses, les espèces sélectionnées pour le contrôle biologique ne doivent pas avoir une spécificité trop étroite. Le principal problème de la lutte biologique augmentative à l'aide de champignon entomopathogènes semble être la production de biopréparations infectieuses et stables et des efforts supplémentaires doivent être consacrés à la recherche et au développement de produits commerciaux³.

Différentes méthodes sont utilisées pour produire des champignons entomophages en masse. La fermentation en milieu liquide est la méthode la plus économique et elle permet grâce à un contrôle complet du milieu d'assurer un environnement idéal pour les champignons. Cette méthode n'est cependant pas adaptée à toutes les espèces de champignons, certaines espèces ayant du mal à sporuler dans ces conditions. Un autre type de production est la fermentation sur milieux solide ou semi solide, le substrat

peut être composé de riz, de graines stériles ou d'autres produits comme des résidus de récolte (son, paille, pulpe de betterave...) ⁴. Cette méthode permet un rendement plus important en spores mais présente de nombreuses contraintes techniques et économiques (stérilisation des substrats, température, quantité de substrat, récupération du produit sur le substrat...) ⁵.

Stratégie de lutte et application

Les traitements inondatifs, presque semblables à ceux utilisés pour les insecticides chimiques, sont les plus communs. Par contre, les traitements inoculatifs ne sont pas ou très peu utilisés en raison du faible pouvoir d'acclimatation de la plupart des champignons entomophages.

Les traitements sont relativement faciles à réaliser puisque les champignons peuvent être pulvérisés, en revanche, ils ne persistent que très peu de temps à la surface des feuilles (environ 2 jours selon les conditions climatiques) ce qui réduit beaucoup leur efficacité⁵.

Homologation et évaluation des risques

Les champignons entomopathogènes doivent répondre à de nombreux critères avant de pouvoir être homologués. Ils ne doivent pas présenter de risques pour les animaux, les hommes et la vie du sol. Beaucoup de champignons ont des pouvoirs pathogènes pour les plantes cultivées, il est donc important d'utiliser des souches ne représentant aucun danger pour les cultures et n'ayant aucun risque de devenir dangereuses⁶. Ces risques expliquent pourquoi, aujourd'hui encore, très peu de produits à base de champignons entomophages sont homologués.

Situation en Suisse et en Europe

La liste des champignons entomophages actuellement homologués en Suisse n'est pas longue. Il existe 15 produits dont voici les champignons actifs : *Beauveria bassiana* contre les aleurodes et la mouche

de la cerise et de l'olive, *Beauveria brongniartii* contre les larves de hanneton, *Paecilomyces fumosoroseus* contre les aleurodes, *Paecilomyces lilacinus* contre les nématodes cécidogènes des racines, *Metarhizium anisopliae* contre l'otiorhynque de la vigne et les hannetons, *Verticillium lecanii* contre la mouche blanche et les thrips de l'oignon et de Californie⁷.

Ce sont les mêmes champignons qui homologués dans la liste des pays membres de l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques) qui regroupe 35 pays dont 26 pays européens, Cependant, le Vertalec, un produit issu du champignon *Lecanicillium longisporum*, produit par Koppert, ayant un effet sur les pucerons en serre, est homologué dans certains pays d'Europe, mais pas en Suisse.

Il y a donc peu de champignons homologués contre les insectes, et encore moins pour lutter contre les pucerons sur les cultures extérieures.

Champignons entomopathogènes et pucerons

Les pucerons sont un calvaire pour l'agriculture. Plus de 4000 espèces ont été répertoriées dans le monde, dont environ une cinquantaine qui ont une importance économique car ils sont ravageurs des cultures. En zone tempérée, ce sont presque toutes les plantes d'intérêt agricole qui peuvent être atteintes par les pucerons. Ce sont des insectes piqueurs-suceurs, de l'ordre des hémiptères, qui se nourrissent en prélevant la sève des plantes. Ils peuvent aussi transmettre des maladies virales. Leurs dégâts (directs et/ou indirects) peuvent être conséquents et mettre à mal la situation économique du paysan, voir pire, diminuer fortement la production de denrées alimentaires à l'échelle mondiale. La lutte chimique existe mais de plus en plus d'insecticides sont interdits et des résistances à ces molécules actives commencent à apparaître chez les pucerons⁸.

Pour faire face à ces problèmes, la lutte biologique contre les pucerons serait une solution. Les champignons sont les seuls pathogènes pouvant affecter régulièrement et efficacement les pucerons dans les écosystèmes naturels et dans les agro-écosystèmes. A ce jour, peu de produits à base de champignons entomopathogènes des pucerons existent. Tout reste encore à découvrir. La recherche dans

le domaine des champignons de l'ordre Entomophthorales (division Zygomycota) est très intéressante, les champignons de cet ordre étant considérés comme des pathogènes majeurs des pucerons dans la nature. Jusqu'à présent, 33 espèces d'entomophthorales réparties en 9 genres ont été recensées chez des pucerons. Celles-ci font partie de trois familles, les Ancylistaceae, les Entomophthoraceae et les Neozygitaceae. La recherche dans ces familles de champignons permettrait peut-être de créer de nouveaux produits qui nous permettront de lutter efficacement et durablement contre ce ravageur³.

Conclusion

A l'heure où de sérieux problèmes de pollutions chimiques menacent l'environnement et que l'on manque de méthodes de luttés alternatives biologiques contre certains ravageurs de cultures comme le puceron, l'utilisation de champignons entomopathogènes semble être une solution d'avenir méritant d'approfondir les recherches. La tentative d'inventaire que nous avons réalisée montre qu'il existe des organismes utiles mais leur nombre est actuellement moindre comparativement aux traitements chimiques existants.

Certaines contraintes freinent la recherche, notamment les difficultés de productions et d'homologations de ces organismes vivants. Un autre inconvénient est le temps de latence avant efficacité, c'est à dire la réduction de la population du ravageur ciblé. Pour renforcer cette efficacité, une méthode de lutte envisageable serait l'intégration de plusieurs organismes en une seule formulation, par exemple des bactéries et des champignons. Ce sujet est très peu documenté, tout comme celui de l'adjonction de molécules chimiques.

Il reste encore beaucoup à étudier sur les organismes fongiques pathogènes de ravageurs. Les facteurs qui contrôlent leur développement, leur processus de sporulation et d'infection sont documentés, mais on sait peu de choses sur leur survie et leur activation au printemps. Cette période représente pourtant un moment clé de leur cycle de vie in situ et il est donc intéressant de l'étudier plus en détails, surtout dans l'optique d'une stratégie de lutte augmentative (inoculation et conservation).

Pour conclure, il nous paraît nécessaire de continuer et d'intensifier la recherche concernant les organismes entomopathogènes sous tous ces aspects. De la

microbiologie à la génétique, en passant par la découverte d'organismes utiles inconnus à ce jour. Le potentiel des champignons entomophages pour la régulation des ravageurs des cultures pourrait être plus grand qu'on ne l'imagine et l'étude de ces organismes apparaît comme une perspective d'avenir intéressante dans la recherche agronomique.

Noémie Coosemans, Nouria Gawarian
Léo Mérat, Simon Russi

Sources

¹ J.C. Van Lenteren, 2012. IOBC Internet Book of Biological Control, version 6, IOBC. http://www.iobc-glob-al.org/download/IOBC_InternetBookBiCoVersion6Spring2012.pdf

² Anonyme, Entomopathogens and biological control. The university of Warwick. http://www2.warwick.ac.uk/fac/sci/lifesci/research/entomopathogenicfungi/entomopathogens_and_biological_control.pdf

³ Marek Barta & Ludovit Cagál, 2006. Aphid-pathogenic Entomophthorales (their taxonomy, biology and ecology), Versita. <https://www.degruyter.com/downloadpdf/j/biolog.2006.61.issue-21/s11756-007-0100-x/s11756-007-0100-x.xml>

⁴ François Lefort, 2016. Agents fongiques pour le contrôle des insectes ravageurs. Cours d'agronomie, HEPIA

⁵ Christine Silvy & Guy Riba, Biopesticides contre maladies, insectes, mauvaises herbes. <http://www7.inra.fr/dperv/sribad19.htm>

⁶ François Lefort, 2016. Agents fongiques contre des bactéries et champignons pathogènes. Cours d'agronomie, HEPIA

⁷ Office fédéral de l'agriculture, 2017. Index des produits phytosanitaires. Site de l'OFAG-admin.ch. <http://www.psm.admin.ch/psm/kategorien/index.html?lang=fr&item=7285>.

⁸ Evelyne Turpeau, Maurice Hullé et Bernard Chaubet, 2010. L'incidence agronomique des pucerons. Encyclop'Aphid-Inra. <https://www6.inra.fr/encyclopedie-pucerons/Pucerons-et-agriculture>

Quelles perspectives face à la résistance au virus de la granulose chez *C. pomonella* ?

Le carpocapse des pommes et des poires (*Cydia pomonella*) est responsable de plus de 50% des dommages dans les vergers suisses non traités. Face à ce ravageur, plusieurs arboriculteurs luttent avec des produits insecticides à base de baculovirus. Cependant, des résistances sont d'ores et déjà apparues dans les populations de ce lépidoptère. Comment maintenir une bonne efficacité de ces traitements à base de virus ?

Le carpocapse des pommes, *C. pomonella* s'attaque aussi à d'autres fruits tels que les poires, les abricots ou encore les noix, entraînant des pertes de récoltes substantielles. Les larves creusent des galeries dans les fruits, les rendant ainsi non commercialisables.

Il existe de nombreux moyens de lutte tant chimiques que biotechniques homologués en Suisse. Du côté des produits chimiques, on peut citer les inhibiteurs et régulateurs de croissance, les néonicotinoïdes ou les préparations à base d'entomotoxines bactériennes comme le spinosad. La confusion sexuelle est aussi largement utilisée parmi les arboriculteurs. Enfin, le lâcher d'auxiliaires est aussi pratiqué bien que moins efficace.

L'utilisation de virus est aussi possible. On utilise depuis 1963 une souche mexicaine du virus pathogène du carpocapse, le *Cydia pomonella granulovirus* (CpGV). Le premier produit homologué en Suisse date de la fin des années 80, et depuis, plusieurs produits à base de CpGV ont été développés (Carpovirusine, Madex). Ces produits sont aujourd'hui massivement utilisés en production biologique et intégrée.

Apparition de résistances au virus

En 2004, un premier cas de résistance est apparu au sud-ouest de l'Allemagne puis au sud-est de la France. En 2010, des populations d'insectes présentant un facteur de résistance plus de 10'000 fois plus élevé par rapport aux populations sensibles ont été rapportées en Allemagne et en Tchéquie¹. Tous les cas sont liés à l'application répétée pendant plusieurs années de la seule souche connue de ce granulovirus. La répartition spatiale de la résistance n'est pas issue d'une expansion à partir d'un foyer unique. Elle a émergé depuis plusieurs foyers primaires distincts². La résistance se trouverait dans toutes les populations à un faible niveau et le traitement sélectionnerait les individus à l'origine des populations résistantes. Une

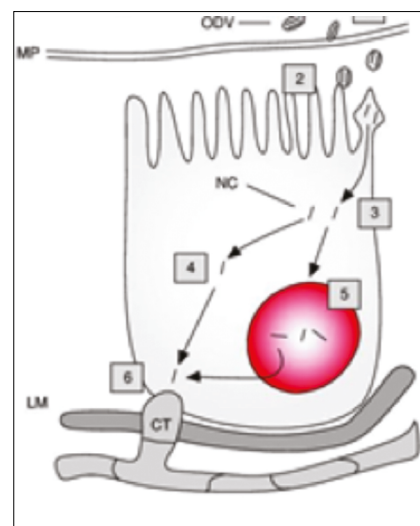
autre étude mentionne une propagation de la résistance depuis le foyer du sud-est de la France à travers le reste du pays. Pour lutter contre cette dernière, deux produits ont été développés : le *Carpovirusine Evo2* (CpGV-R5) et le *Madex Pro CpGV* (V15). Fabriqués respectivement en France et en Allemagne, la différence génétique entre les souches virales contenues dans les deux produits reste faible. Pour évaluer l'efficacité de ces deux nouveaux isolats, des tests ont été effectués sur des papillons résistants, issus de populations génétiquement assez homogènes.

Mode d'action du virus

L'insecte ingère par voie orale les corps d'occlusion viraux qui sont véhiculés jusqu'à l'intestin moyen, et se dissolvent sous l'effet du pH basique. Les virions sont alors relâchés et traversent la barrière intestinale constituée de chitine et de mucine pour gagner le cytoplasme des cellules de l'épithélium intestinal (couche de cellules entre l'intérieur de l'intestin et le reste de l'organisme). Ils provoquent alors l'infection primaire. A noter que chez *C. pomonella*, la membrane péritrophique de l'intestin est très fine et ne constitue pas une barrière physique particulièrement efficace.

Une des particularités des baculovirus est d'avoir deux types de virions. Les premiers, les virions occlus, sont nécessaires à l'infection primaire. Ils sont peu infectieux pour les autres cellules de l'organisme. Les seconds, les virions dits bourgeonnants, sont produits dans les cellules épithéliales après que les premiers aient investis le noyau et que la production des protéines virales ait commencé.

Ces nouveaux virions sont eux plus infectieux pour le reste de l'organisme. Ils vont alors sortir des cellules de l'épithélium intestinal et traverser les cellules de la lame basale avant d'arriver aux trachées et de coloniser le reste de l'individu via l'hémocèle. On parle alors d'infection secondaire



ou systémique⁴.

Figure 1: Franchissement de l'intestin par un baculovirus. ODV: virions occlus (occlusion derived virions); MP: membrane péritrophique; NC: nucléocapside; LM: lame basale; CT: cellule trachéenne

Mécanisme de résistance

La résistance au virus de la granulose chez *Cydia pomonella* se rencontre chez les 5 stades larvaires. Habituellement, les larves de lépidoptères réagissent aux infections virales par apoptose sélective, c'est-à-dire par une mort programmée des cellules infectées qui permet d'enrayer la propagation du virus. Or, les baculovirus ont développé la capacité de bloquer ce système de défense. Il semble donc peu probable que la résistance du carpocapse soit directement liée à ce mécanisme, d'autant plus que les larves de CpRR1, la souche résistante de carpocapses, présentent une résistance à l'infection de l'épithélium intestinal par les virions occlus et à l'infection secondaire due aux virions bourgeonnants. L'hypothèse que cette résistance soit liée uniquement à une altération des récepteurs intestinaux ou à une fixation non-spécifique des virions issus des corps d'occlusion à ces derniers est donc exclue.

Chez CpRR1, la réplication du virus est

inhibée tant dans les cellules de l'intestin que dans les tissus adipeux ou dans l'hémocèle. De plus, une transfusion d'hémolymphe de CpRR1 à CpS (souche sensible) ne permet pas de réduire la sensibilité de cette dernière à l'infection par le virus de la granulose de manière évidente⁵. Il s'avère que l'hémolymphe prélevée sur les insectes résistants ne contient pas de virions occlus actifs susceptibles de transmettre l'infection. Il est donc probable que la résistance du carpocapse repose entièrement sur l'inhibition de la réplication virale intracellulaire et non sur une réponse immunitaire systémique. On sait aujourd'hui que le gène de résistance au virus de la granulose est dominant et qu'il se trouve sur le chromosome sexuel du carpocapse. Le mécanisme de résistance fonctionne par un blocage précoce de la multiplication virale à l'intérieur des cellules-hôtes, lié à la mutation du gène *pe38* (dont la fonction reste toutefois obscure) dans le génome de l'hôte. Des recherches plus poussées sont souhaitables pour éclaircir le rôle du gène *pe38* et comprendre exactement la manière dont les cellules-hôtes résistantes parviennent à bloquer la réplication du virus de la granulose.

Comment contourner la résistance

1) Mélange de souches de granulovirus

Certaines études ont démontré que l'hétérogénéité génétique améliore l'efficacité d'une population virale par une meilleure transmission des corps d'occlusion⁶. Chez les carpocapses résistants soumis à un mélange de souches virales incluant CpGV-R5 (souche virale capable de surmonter la résistance de l'hôte), même en faible proportion, le taux de mortalité augmente de manière significative. Ce qui est intrigant, c'est qu'un mélange contenant 50 % de CpGV-M (souche sensible à la résistance de l'hôte) et 50 % de CpGV-R5, semble contrôler les populations de *C. pomonella* résistantes avec la même efficacité qu'une solution comprenant la souche CpGV-R5 à hauteur de 100 %³. Il semble donc y avoir un effet synergique entre les deux isolats lorsqu'ils se trouvent présents simultanément dans le même hôte. Les analyses génétiques montrent que, dans ce cas, les souches virales parviennent toutes deux à se répliquer au sein de l'insecte résistant. Plusieurs hypothèses ont été formulées pour tenter d'expliquer ce phénomène : il

est possible que les cellules infectées par le CpGV-R5 émettent un facteur diffusable qui permettrait au CpGV-M d'infecter les cellules encore non-atteintes. Il se pourrait aussi que les cellules touchées par le CpGV-M retiennent et bloquent l'infection latente en leur sein et que les virions emprisonnés soient relâchés en cas d'attaque supplémentaire de ces cellules par le CpGV-R5. Malgré tout, la manière exacte dont le CpGV-R5 agit sur la réplication du CpGV-M reste pour l'heure inconnue et demande à être étudiée. L'utilisation de mélanges de souches, donc de génotypes variés, semble être une meilleure stratégie de lutte contre le carpocapse que l'utilisation d'un génotype unique. Cela permet de préserver la diversité génétique du virus mais surtout de contrer la résistance de *C. pomonella* au virus de la granulose. L'hétérogénéité génétique du virus permet de diminuer la pression de sélection et donc de réduire la probabilité d'apparition de résistances chez l'insecte.

2) Mélange de Bt et de granulovirus

Une étude chinoise⁷ a évalué l'efficacité du contrôle de populations de carpocapse par la souche CpGV-C1 associée à une souche de *Bacillus thuringiensis* (*B_t*). Les essais ont été dans un premier temps réalisés en laboratoire puis dans un verger. Les résultats ont montré une efficacité similaire du traitement insecticide standard (β -cyperméthrine), du traitement avec uniquement la souche virale CpGV-C1 et du traitement avec un mélange CpGV-C1 + *B_t* (ratio 1:1). En revanche, le traitement exclusivement basé sur le Bt s'est révélé significativement moins efficace que les trois autres. Le traitement mixte a été appliqué à une concentration deux fois moins importante que celle utilisée lors de traitements classiques impliquant un seul agent insecticide. Les auteurs de cette étude émettent l'hypothèse que la protéine GP37 du CpGV favoriserait l'action létale du *B_t*. De plus, le CpGV pourrait infecter les larves n'ayant pas été immédiatement tuées par le Bt et viendrait ainsi parachever l'action biocide de ce dernier. Ainsi, le mélange CpGV + *B_t* semblerait être une alternative de traitement prometteuse et économiquement valable.

Cependant, la relation CpGV - *B_t* pourrait ne pas être toujours profitable. Un article paru en 2016³ émet l'hypothèse que le *B_t* puisse gêner l'action du virus en détruisant les cellules de l'intestin qui servent de porte d'entrée à ce dernier pour gagner les tissus cellulaires de l'hôte et y déclencher

une infection primaire. Des investigations approfondies seraient bienvenues pour cerner quelles sont exactement les interactions entre le virus de la granulose et *B. thuringiensis*.

3) Mélange de levures *Saccharomyces cerevisiae* et de granulovirus

Un des facteurs limitants l'efficacité de la lutte contre le carpocapse par le virus de la granulose est d'une part la sensibilité aux rayonnements solaires et d'autre part le fait que le virus doive être ingéré par les larves⁸. Or, Alan et Whitzgall⁹ ont montré en 2013 par des tests en laboratoire et au champ que l'ajout de différents types de levures présentes naturellement dans l'estomac des larves de carpocapse aux traitements à base de CpGV augmentait significativement l'absorption du granulovirus par les carpocapses. Enfin, une étude menée en 2015 par les mêmes auteurs a mis en avant le fait que la combinaison de *S. cerevisiae* et de sucre avec le CpGV a aussi pour effet d'augmenter le taux d'absorption¹⁰.

Dans cette étude, les levures de l'espèce *S. cerevisiae* et le sucre ont d'abord été mélangés et testés séparément, puis testés en association avec le virus de la granulose. Le simple fait d'ajouter les levures au granulovirus a permis d'augmenter significativement la mortalité des larves de carpocapse en comparaison avec le traitement exclusivement à base de CpGV. La mortalité des larves est apparue être encore plus importante lors de l'ajout de sucre au mélange CpGV + *S. cerevisiae*. Ainsi, ces données suggèrent que la combinaison de levures et de sucre peut augmenter l'efficacité des traitements à base de granulovirus et contribuer à maintenir la sensibilité des populations de carpocapse aux insecticides viraux.

En conclusion

L'utilisation du virus de la granulose comme agent de lutte microbiologique contre le carpocapse présente un grand intérêt du fait de son efficacité, de sa grande spécificité et de son caractère inoffensif pour la santé humaine et l'environnement. Cependant, son utilisation répétée conduit à l'apparition de résistances. Pour y faire face, l'utilisation combinée de plusieurs souches virales différentes ainsi que l'association du virus de la granulose avec des microorganismes tels que *Bacillus thuringiensis* ou encore *Saccharomyces cerevisiae* sont des pistes

prometteuses.

Des recherches approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre le fonctionnement du mécanisme de résistance au virus de la granulose chez *Cydia pomonella* ainsi que les interactions entre ce dernier et les potentiels partenaires microbiens en vue du développement de nouveaux produits viraux de lutte biologique. Appliquer ces produits en alternance tout en continuant les autres mesures prophylactiques et la lutte par confusion sexuelle permettra de maintenir les dégâts dus au carpocapse en-dessous du seuil de tolérance économique.

Sven Aubert, Julien Küpfer,
Jérémy Loulier et Nicolas Mischler

Le virus de la granulose :

Le virus de la granulose appartient à la famille des baculovirus, attaquant exclusivement les arthropodes et pathogènes de plus de 600 espèces d'insectes, dont

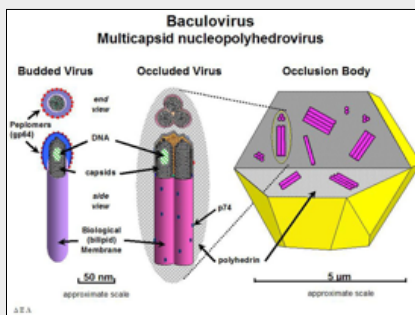


Figure 2 : Les deux phénotypes viraux des baculovirus

les Lépidoptères. Ces virus de forme allongée possèdent un génome se présentant sous forme d'ADN double-brin, dont l'expression induit l'apparition deux phénotypes différents au cours du cycle de réplication à l'intérieur de l'hôte¹¹. Au sein du noyau des cellules-hôtes infectées se trouvent les virions (particules virales) matures, qui sont occlus dans de gros cristaux protéiques que l'on nomme les corps d'occlusion. L'infection se propage dans le reste des tissus de l'hôte sous la forme de virions non-occlus, dits «bourgeonnants».

Sources

- ¹ Schmitt, A., I. L. Bisutti, E. Ladurner, M. Benuzzi, B. Sauphanor, J. Kienle, D. Zingg, et al. 2013. « The Occurrence and Distribution of Resistance of Codling Moth to *Cydia Pomonella Granulovirus* in Europe ». *Journal of Applied Entomology* 137 (9): 641-49.
- ² Zichová, Tereza, Jitka Stará, Jiban K. Kundu, Karolin E. Eberle, et Johannes A. Jehle. 2013. « Resistance to *Cydia Pomonella Granulovirus* Follows a Geographically Widely Distributed Inheritance Type within Europe ». *BioControl* 58 (4): 525-34.
- ³ Graillot, Benoit, Sandrine Bayle, Christine Blachere-Lopez, Samantha Besse, Myriam Siegwart, et Miguel Lopez-Ferber. 2016. « Biological Characteristics of Experimental Genotype Mixtures of *Cydia Pomonella Granulovirus* (CpGV): Ability to Control Susceptible and Resistant Pest Populations ». *Viruses* 8 (5): 147.
- ⁴ S. Gutiérrez, M. Lópe-Ferber. Les stratégies des baculovirus pour franchir l'intestin des insectes. *Virologie*. 2004;8(4):311-321
- ⁵ Asser-Kaiser, Sabine, Pit Radtke, Said El-Salamouny, Doreen Winstanley, et Johannes A. Jehle. 2011. « Baculovirus Resistance in Codling Moth (*Cydia Pomonella* L.) Caused by Early Block of Virus Replication ». *Virology* 410 (2): 360-67.
- ⁶ Berling, M., C. Blachere-Lopez, O. Soubabere, X. Lery, A. Bonhomme, B. Sauphanor, et M. Lopez-Ferber. 2009. « *Cydia Pomonella Granulovirus* Genotypes Overcome Virus Resistance in the Codling Moth and Improve Virus Efficiency by Selection against Resistant Hosts ». *Applied and Environmental Microbiology* 75 (4): 925-30.
- ⁷ Liu, Xiangyang, Chengfeng Lei, et Xiulian Sun. 2013. « Control Efficacy of *Bacillus Thuringiensis* and a New *Granulovirus* Isolate against *Cydia Pomonella* in Orchards ». *Biocontrol Science and Technology* 23 (6): 691-700.
- ⁸ Lacey, Lawrence A., Donald Thomson, Charles Vincent, et Steven P. Arthurs. 2008. « Codling Moth *Granulovirus*: A Comprehensive Review ». *Biocontrol Science and Technology* 18 (7): 639-63.
- ⁹ Knight, Alan L., et Peter Witzgall. 2013. « Combining Mutualistic Yeast and Pathogenic Virus — A Novel Method for Codling Moth Control ». *Journal of Chemical Ecology* 39 (7): 1019-26.
- ¹⁰ Knight, A. L., E. Basoalto, et P. Witzgall. 2015. « Improving the Performance of the Granulosis Virus of Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae) by Adding the Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* with Sugar ». *Environmental Entomology* 44 (2): 252-59.
- ¹¹ Wikipedia, 2017. «Nucleopolyhedrovirus»

IX

Lutte biologique et microbiologique contre les espèces néophytes de solidages

L'invasion de nos régions par des plantes néophytes est un sujet d'inquiétude grandissant pour la stabilité des milieux naturels. Trop peu de moyens de lutte existent actuellement, mais de nouvelles solutions émergent. Petit tour d'horizon de l'état de la recherche en matière de lutte contre le solidage.

Que sont les néophytes ?

Info Flora donne la définition suivante: « Les plantes exotiques envahissantes sont des plantes non-indigènes (provenant en général d'un autre continent), introduites intentionnellement ou non, qui réussissent à s'établir dans la nature, à se multiplier et à se répandre massivement aux dépens des espèces indigènes ». Parmi les différentes espèces néophytes présentes en Suisse, nous nous sommes intéressés au solidage, ou Verge d'or, plus particulièrement aux espèces *S. gigantea* et *S. canadensis*. Ces deux plantes figurent sur la liste noire

des espèces présentant un danger pour l'environnement ou l'humain en Suisse. Ces néophytes originaires d'Amérique du Nord ont été importées en Europe comme plantes ornementales, puis utilisées par les apiculteurs, car ces plantes fournissent du pollen en quantité importante. Le principal problème que pose le solidage est sa capacité à se répandre rapidement dans l'environnement¹. La production de graines atteint facilement 20'000 par plantes. Le solidage se propage aussi par rhizomes. Il colonise essentiellement les zones humides, où il concurrence féroce les

espèces indigènes, entraînant un appauvrissement de la biodiversité de la flore locale. Il peut également envahir des zones agricoles, particulièrement les jachères florales induisant des coûts supplémentaires pour les agriculteurs. La Confédération et les cantons dédient chaque année une partie conséquente de leur budget alloué à la protection de l'environnement à la lutte contre les néophytes. Le solidage n'est pas seulement problématique dans toute l'Europe, mais aussi en Asie, notamment en Chine où de nombreuses recherches lui sont consacrées.

Moyens de luttés actuels

Les méthodes utilisées aujourd'hui pour enrayer le développement de *Solidago canadensis* et *gigantea* sont peu nombreuses. Ce sont principalement le recours à des fauches répétées, à l'arrachage manuel et à la suppression des litières infectées par les semences de la plante. Ces méthodes demandent une main d'œuvre importante et entraînent donc des coûts conséquents. D'autres méthodes de lutte, basées sur les ennemis naturels du néophyte sont envisagées et pourraient s'avérer indispensables dans les années à venir pour limiter sa progression.



L'allélopathie : une des clés du succès des solidages

L'allélopathie est définie comme l'ensemble des interactions biochimiques entre une plante et une autre à travers la diffusion de composés métaboliques secondaires (non vitaux pour la plante) dans leur environnement proche, que ce soit au niveau du sol via la déposition racinaire et/ou la dégradation des parties aériennes tombées au sol ou encore directement dans l'air à l'aide d'organes spécialisés. Les conséquences de ces interactions peuvent être autant positives que négatives et leur mode d'action peut être direct (ex : toxicité) ou indirect (ex : impact sur la microfaune/flore du sol). Dans le cas du solidage, c'est principalement l'aspect

négatif dont il va s'agir puisque c'est à travers l'impact de plusieurs composés sur la microfaune/flore indigène que ce dernier a réussi à s'établir avec un tel succès sous nos latitudes. Une étude récente² a démontré l'impact de quatre composés distincts sur la croissance ainsi que sur la germination de nombreuses espèces indigènes compétitrices directes du solidage. Or cet effet est fortement diminué lorsque l'on se trouve en présence d'une flore du sol native d'Amérique du nord, qui, du fait de la coévolution avec *Solidago*, semble mieux à même de supporter voire même de « digérer » les composés allélopathiques néfastes. C'est donc une piste de recherche particulièrement intéressante. L'étude des mécanismes et interactions entre ces composés, les bactéries et champignons du sol, la composition du sol et les facteurs climatiques, pourrait amener à découvrir comment cette microflore native gère et dégrade ces molécules. Une introduction (après études et tests) de certains de ces microorganismes dans nos régions pourrait être envisagée.

Les insectes à l'assaut de Solidago

Entre 1981 et 1984, une étude a été menée sur tous les insectes se nourrissant sur *Solidago altissima*, *S. fistulosa* et *S. gigantea* et a recensé 122 insectes phytophages. Quatorze d'entre eux seulement sont spécifiques au genre *Solidago* ou à la famille des Astéracées. Parmi eux, 8 sont candidats à une utilisation potentielle en Europe comme agent de lutte biologique³. Le premier, *Eurosta comma*, est un Diptère s'attaquant aux racines. Il pond ses œufs dans les rhizomes, formant une galle à l'allure d'une pomme de terre. Par la suite, sa larve se développe en consommant les rhizomes. Le second, *Oidaematophorus kellicotti*, est un Lépidoptère que l'on retrouve sur toutes les espèces de solidage. Cette mite pond ses œufs sur les jeunes pousses, à partir desquelles les larves fraîchement écloses vont creuser leur galerie à travers la tige molle. Elles passeront ensuite par la tige centrale pour rejoindre les racines. L'adulte émergera en creusant un trou à la hauteur du collet de la plante, entraînant la nécrose puis la mort des parties végétales supérieures. *Schinia nundina* est un Lépidoptère s'attaquant aux fleurs et graines des solidages. Ses larves de couleur orangée se nourrissent des graines immatures. Parmi les insectes causant le plus de dégâts aux Solidages, deux espèces

appartiennent à la famille des *Gelechiidae* (Lépidoptère) : *Trichotaphe flavocostella* et *Trichotaphe inserrata*. Le premier se nourrit des feuilles et le second creuse à l'intérieur de la tige, entraînant un arrêt de la croissance de la plante. En Europe, ce dernier serait spécialiste du solidage puisque son unique source alternative de nourriture, *Helianthus hirsutus*, est un genre de tournesol inféodé à l'Amérique du nord.

Sur *Solidago altissima* uniquement, on retrouve, en plus de ces insectes phytophages, un genre de puceron qui lui est spécifique : *Uroleucon nigrotuberculatum*⁴. Peu après son introduction au Japon à la fin des années 1980, on l'a rapidement retrouvé sur plusieurs autres genres importants tels que *Chrysanthemum*, *Helianthus* ou encore *Rudbeckia*⁵. Ceci risque d'être problématique pour deux cultures d'importance économique non négligeable : les chrysanthèmes et les tournesols.

Dans son milieu d'origine, *Solidago* subit une pression constante de la part de ses différents ennemis phytophages, ce qui n'est pas le cas dans un nouveau milieu. Une étude a démontré que ce sont surtout des espèces d'insectes dites généralistes qui s'attaquent au Solidage, ce que confirme une étude suisse qui a répertorié 18 insectes phytophages se nourrissant sur *S. canadensis*. Malheureusement, étant tous polyphages, ils s'attaquent à une large gamme de plantes et n'entraînent pas de dégâts suffisamment importants pour limiter de manière efficace la prolifération des Solidages⁶.

Jouer gros pour gagner gros ?

La cicadelle de l'aster *Macrosteles quadri-lineatus* est un insecte potentiellement vecteur (porteur) d'un microorganisme pathogène semblable à une bactérie : le phytoplasme de la jaunisse de l'aster (AYP). Les symptômes qu'il peut entraîner sont la phyllodie (développement anormal des organes floraux en feuilles), la virescence (apparition d'une pigmentation verte sur des parties qui en sont normalement dépourvues) ou encore la chlorose (déficit de chlorophylle dans les cellules de la plante). En Europe, ce phytoplasme s'attaque déjà à de multiples cultures commerciales. L'existence ou la fabrication (par modification génétique) d'une souche se limitant à *Solidago*, même si les risques restent considérables, pourrait être envisagée.

Le solidage présente tout de même quelques avantages

Comme le démontre une étude polonaise⁷, la présence de *Solidago* dans certaines prairies a un impact positif sur la biodiversité, plus précisément celle des populations d'araignées qui apprécient tout particulièrement les milieux fortement enherbés et couverts fournis par le Solidage dont les tiges, une fois sèches, se dégradent très lentement, offrant un abri et une structure idéale pour y tisser leur toile. Certaines études envisagent l'utilisation de résidus de Solidage en tant qu'herbicide d'origine naturelle, étant donné l'impact important des composés allélopathiques qu'il contient sur le développement de bon nombre de plantes.

Les cuscutes, des alliées prometteuses ?

Les plantes parasites peuvent être des alternatives de lutte intéressantes pour concurrencer les néophytes. La cuscute parasite sa cible à l'aide d'un suçoir ressemblant à des racines (haustorium) lui permettant d'en absorber la sève. Une étude chinoise⁸ a montré que la cuscute *Cuscuta australis*, réduisait la hauteur, la taille et le diamètre des racines, le nombre d'inflorescences et le nombre d'axes d'inflorescence, des plantes de *Solidago canadensis*. Cette étude pourrait ouvrir la porte à de nouvelles solutions de lutte biologique moins onéreuses et plus respectueuses de l'environnement contre les solidages invasifs. Cependant, la variété de cuscute étudiée n'est pas présente en Europe. Il existe en Suisse différentes espèces de cuscutes indigènes, parmi lesquelles *Cuscuta europaea* et *Cuscuta epithymum* L. *Cuscuta europaea* semble être la plus prometteuse pour contrôler le solidage, car on la retrouve régulièrement dans des milieux écologiquement très similaires. Néanmoins, des tests devront être réalisés afin d'établir si cette plante peut parasiter efficacement *Solidago canadensis*. Autre candidate, *Cuscuta epilinum* Weihe, une plante endémique mais considérée comme éteinte du fait de son très faible peuplement⁹. Cette culture était associée autrefois aux champs de lin, aujourd'hui presque disparus de Suisse. Cette plante, qui reste pour le moment sur la liste des espèces de plantes menacées, pourrait être réintroduite dans les zones envahies par le solidage car elle présente également des caractéristiques écologiques assez proches.

Les champignons : une piste à ne pas négliger

Deux champignons seraient efficaces contre les solidages néophytes.

Le premier est le *Coleosporium asterum*, découvert dans un jardin botanique en Inde. Les plantes infectées présentent des taches jaunes sur la surface inférieure et supérieure des feuilles, tournant au rouge-brique à un stade avancé et finissant par occuper l'ensemble de la feuille.

Coleosporium asterum infecte plus de 160 espèces, principalement les plantes de la famille des Astéracées. Ce champignon est un parasite strict, c'est-à-dire qu'il a besoin d'un hôte pour se développer. La dispersion de la maladie va dépendre de sa distribution géographique, de la plante hôte présente dans le milieu et de conditions environnementales favorables. Dans cette étude¹⁰, les chercheurs ont démontré qu'en Inde, le solidage est devenu un nouvel hôte du *Coleosporium asterum*.

Les risques liés à l'utilisation de pareils champignons sont qu'ils pourraient se propager aux autres Astéracées présentes dans le milieu. Il serait peut-être possible d'identifier ou de créer une souche qui ne s'attaque qu'au Solidage ?

Le second champignon envisagé est le *Sclerotium rolfsii*, plus précisément la souche SC64. Utilisée dans une étude chinoise¹¹, cette souche a démontré un taux de mortalité des plantes touchées approchant les 70%. Les dégâts ont causé une réduction de la matière fraîche des *S. canadensis* d'une hauteur de moins de 150 centimètres. L'efficacité était plus grande et avoisinait 80% de mortalité. L'action combinée d'une pulvérisation avec la souche SC64 du *S. rolfsii*, la coupe des organes sexuels et le binage du sol pendant la saison de développement du végétal (de mai à septembre) a été testée. Cette combinaison a entraîné la mort de plus de 90% des boutures de *S. canadensis*, touchant non seulement les organes reproducteurs mais aussi les rhizomes, prévenant de ce fait les éventuelles repousses, communes chez les solidages. Au vu de son efficacité, la souche SC64 du *Sclerotium rolfsii* présente un grand potentiel d'utilisation en tant qu'agent de contrôle microbiologique.

Lucien Imfeld
Vladimir Tréand
Benoît Loup
Basile Giroud

Sources

1. Département Nature et Paysage. Fiche info *Solidago canadensis*. (2005).
2. Abhilasha, D., Quintana, N., Vivanco, J. & Joshi, J. Do allelopathic compounds in invasive *Solidago canadensis* s.l. restrain the native European flora?: *Solidago* in Europe: an allelopathic perspective. *J. Ecol.* 96, 993–1001 (2008).
3. Fontes, E. M. G., Habeck, D. H. & Slansky Jr, F. Phytophagous insects associated with goldenrods (*Solidago* spp.) in Gainesville, Florida. *Fla. Entomol.* 77, 209 (1994).
4. Williams, R. S. & Avakian, M. A. Colonization of *Solidago altissima* by the Specialist Aphid *Uroleucon nigrotuberculatum*: Effects of Genetic Identity and Leaf Chemistry. *J. Chem. Ecol.* 41, 129–138 (2015).
5. Blackman, R. L. & Eastop, V. F. Aphids on the World's Herbaceous Plants and Shrubs, 2 Volume Set. (John Wiley & Sons, 2008).
6. Weber, E. & Jakobs, G. Biological flora of central Europe: *Solidago gigantea* Aiton. *Flora - Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants* 200, 109–118 (2005).
7. Dudek, K., Michlewicz, M., Dudek, M. & Tryjanowski, P. Invasive Canadian goldenrod (*Solidago canadensis* L.) as a preferred foraging habitat for spiders. *Arthropod-Plant Interact.* 10, 377–381 (2016).
8. Yang, B., Du, L. & Li, J. [Effects of *Cuscuta australis* parasitism on the growth, reproduction and defense of *Solidago canadensis*]. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao J. Appl. Ecol.* 26, 3309–3314 (2015).
9. Bornand, C. et al. Liste rouge Plantes vasculaires.
10. Thite, S. V., Hande, P. R. & Kore, B. A. Occurrence of rust on *Solidago canadensis*, a new host record for *Coleosporium asterum* from India. (2016).
11. Tang, W., Kuang, J. & Qiang, S. Biological control of the invasive alien weed *Solidago canadensis* : combining an indigenous fungal isolate of *Sclerotium rolfsii* SC64 with mechanical control. *Biocontrol Sci. Technol.* 23, 1123–1136 (2013).