

LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LA MOUCHE DE L'OLIVE

Introduction en France d'un nouvel auxiliaire, *Psytalia lounsburyi*



Photo J.C. Malausa / INRA

Groussier-Bout G., Thaon M., Auguste-Maros A., Treuvey N., Frank B., Gratraud C., Maignet P., Jones W., Bon M.C., Blanchet A., Ris N., Fauvergue X. & Malausa J.C.

L'INRA de Sophia Antipolis, en collaboration avec l'EBCL (*European Biological Control Laboratory*) situé à Montpellier, a entrepris de tester un nouvel auxiliaire (*Psytalia lounsburyi*) pour lutter contre la Mouche de l'olive, *Bactrocera oleae*. Cette opération, menée en partenariat avec plusieurs acteurs de la filière oléicole (AFIDOL, Agribio 06) et avec la société BIOTOP productrice d'auxiliaires, est financée principalement par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) avec le soutien complémentaire de FranceAgrimer (anciennement l'ONIGC) et du Conseil Général des Alpes-Maritimes.

Bactrocera oleae est connu pour être le ravageur majeur de l'olivier en France, occasionnant des dégâts considérables et limitant le développement de l'oléiculture biologique. Les dommages ont des répercussions sur la qualité des olives de table dues aux piqûres de pontes, mais également sur la production d'huile du fait de l'oxydation de l'olive qui résulte de la consommation de la pulpe par les larves.



Photo AFIDOL

Lutte biologique contre la mouche de l'olive : un peu d'histoire

En Europe, des recherches sur la lutte biologique contre la mouche de l'olive ont été initiées dès le début du siècle dernier. En France, Marchal P. et ses collaborateurs ont réalisé des lâchers réguliers de parasitoïdes à partir de 1918, notamment de l'espèce *Psytalia concolor* (Hymenoptera par homogénéité avec Opiinae). Mais en l'absence d'élevage suffisant de l'auxiliaire, ces introductions ont été réalisées avec de trop faibles quantités, hypothéquant les chances de réussites. Il a fallu attendre les années 1950-60 pour voir les premiers lâchers conséquents. L'équipe de Delanoue de l'INRA a ainsi mis en place les premiers élevages de masse de *P. concolor* et a introduit de façon massive le parasitoïde dans différents sites des Alpes-Maritimes. Plusieurs autres introductions à grande échelle de *P. concolor* ont également été réalisées entre 1964 et 1967 en France et en Italie. Les résultats étaient plutôt encourageants, avec un taux de parasitisme à la fin du mois de septembre pouvant atteindre dans certain cas les 100% ; sur les îles éoliennes, un taux de parasitisme de 76% en fin de saison était atteint (Monastero et Delanoue, 1967). Toutefois, *P. concolor* ne s'est jamais acclimaté de façon pérenne, limitant son efficacité à long terme. De plus, l'élevage de cet auxiliaire était considéré comme trop coûteux à cette époque pour permettre d'envisager une commercialisation de l'auxiliaire (Monastero et Delanoue, 1967). D'autres stratégies telles que l'utilisation du parasitoïde indigène *Pnigalio mediterraneus* avaient été envisagées. Devant la complexité de la biologie de cet insecte (notamment l'existence d'une phase de diapause), cette piste fut abandonnée (Delanoue et Arambourg, 1967).

A l'heure actuelle, des études sont menées dans différents pays européens tels que l'Espagne et l'Italie, soit dans le but d'améliorer les élevages de *P. concolor* et en diminuer les coûts de production, soit pour favoriser les parasitoïdes indigènes (ajout de plantes relais, connaissances plus approfondies de l'écosystème). ➤ ➤

Suite à l'apparition récente de la mouche de l'olive dans les oliveraies californiennes (Rice, 2003), de nouveaux inventaires faunistiques ont été menés par l'équipe américaine de l'EBCL au Kenya et en Afrique du Sud. Ces recherches ont permis de mettre en évidence le cortège de parasitoïdes se développant sur *B. oleae* dans son aire d'origine. Au sein de ce cortège, une attention particulière a été portée sur *Psytalia lounsburyi* en tant que candidat pour un programme de lutte biologique classique en Californie (Copeland, 2004). Ce parasitoïde apparaît en effet dans sa zone d'origine africaine comme spécifique de la mouche de l'olive (Daane, 2008). De plus, les conditions climatiques dans les zones de prélèvements sont relativement proches de celles de la zone oléicole française. Par exemple, en Afrique du Sud, une des régions où l'on trouve des populations naturelles de *P. lounsburyi*, le climat est de type méditerranéen.

Les enjeux du Projet Psytalia

Psytalia lounsburyi (Hymenoptera, Braconidae) a été introduit en juillet et en août 2008 dans 60 oliveraies réparties dans tous les départements oléicoles français, des Pyrénées-Orientales aux Alpes-Maritimes. Cette introduction répond à deux objectifs distincts. D'une part, elle représente évidemment un nouvel espoir d'aboutir à une solution biologique durable pour lutter contre la mouche de l'olive. D'autre part, elle constitue une occasion originale d'étudier expérimentalement l'influence de paramètres biologiques sur le succès d'une « invasion biologique » planifiée et bénéfique. Dans ce cas précis, l'objectif est de comparer l'efficacité de souches de *Psytalia lounsburyi* d'origines géographiques diffé-

rentes, Afrique du Sud et Kenya, à l'efficacité de leurs hybrides. L'hypothèse sous-jacente est que les hybrides bénéficient d'un avantage adaptatif, par rapport aux souches parentales, facilitant ainsi l'établissement et l'accroissement démographique après introduction dans un nouvel environnement. Le projet Psytalia est donc particulièrement exaltant du fait de la convergence intime entre les objectifs scientifiques – l'étude du rôle de l'hybridation dans les invasions biologiques – et les objectifs agronomiques – l'évaluation précise d'un auxiliaire potentiel.

Dans cette perspective, le projet *Psytalia* combine différentes approches complémentaires en laboratoire et sur le terrain. L'une des priorités initiales fut de maintenir un élevage des souches de *P. lounsburyi*. A partir des recherches commencées à l'EBCL et de procédés qui avaient été développés pour *P. concolor*, un élevage a pu être mis au point. Ce dernier rend possible une production continue pendant toute l'année (Thaon et al., 2009) sur un hôte de substitution, la Mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata*. Bien que très spécifique de *B. oleae* sur le terrain, *P. lounsburyi* peut pondre et se développer sur la Cératite en laboratoire, lorsqu'il n'a pas le choix.

C'est également sur cet hôte qu'ont été étudiées en laboratoire les principales caractéristiques biologiques du parasitoïde, les objectifs étant dans un premier temps d'améliorer la production de parasitoïdes et de pouvoir comparer les différentes souches (parentales ou hybrides) entre elles. Enfin, une fois les souches caractérisées au laboratoire, une part importante du travail a été consacrée à l'organisation et la réalisation des introductions de parasitoïdes sur le terrain.



Le spécialiste de l'olivier

Agrément ONIOL : 83-002/CAC
Tél. 04 94 05 17 87 - Fax 04 94 35 00 31
E-mail : jf.burgevin@jeanrey.fr

Aglandau, Amellau, Amygdalolia, Bouteillan,
 Brun, Cailletier, Calian, Cayanne, Cayet Roux,
 Cayon, Clermontaise, Coucourelle, Cumial,
 Frontoio, Grossane, Lucques, Menudel, Moncita,
 Négrette, Olivière, Pardiguier, Picholine, Poumal,
 Ribier, Salonenque, Tanche, Verdale
 et autres variétés.

PRIX COMPETITIFS
 SUR NOUVEAU CONTRAT DE CULTURE
 POUR SAISON 08/09

Contacter J.-Fr. BURGEVIN
 au 06 03 83 09 98

LE SPECIALISTE OLEICOLE



Chaînes continues

Installations modernes à cycle continu (à partir de 20 kgs/h) : pour une huile vierge extra de haute qualité



CUVERIE



ACCESSOIRES



RECOLTE ET TAILLE



84140 Montfavet (Avignon sud)
 Tel 04 90 84 09 61 Fax 04 90 84 09 56
 04 100 Manosque
 Tel 04 92 87 58 19 Fax 04 92 87 69 45



Les expérimentations en oliveraie

2007, un premier état des lieux avant l'introduction de l'auxiliaire

La première année du projet a été consacrée à la sélection des sites d'introduction et à une première quantification des populations de la Mouche de l'olive et de ses parasitoïdes indigènes présents. En effet, dans 25% des cas, les lâchers de *P. concolor* effectués par Monastero et Delanoue (1967) semblaient contrariés par l'abondance locale d'un autre parasitoïde, *Eupelmus urozonus* (Hymenoptera, Eupelmidae).

La mise en place du réseau de sites expérimentaux a été entreprise avec l'aide de nombreux acteurs de la communauté oléicole française, professionnels ou amateurs. Après un premier inventaire des exploitations ou propriétés oléicoles susceptibles de participer à cette opération, une enquête a été effectuée par courrier auprès des 233 propriétaires volontaires. Cette enquête a permis d'évaluer la convenance de chaque site en regard des contraintes expérimentales que nous nous étions fixées. Huit critères principaux ont été pris en compte, auxquels nous avons fait correspondre une note :

- Présence de mouche en 2005 : non (0), oui (1),
- Présence de mouche en 2006 : non (0), oui (1),
- Traitement contre la mouche : oui (0), non (1),
- Type de culture : conventionnel (0), intégré (1), biologique (2),
- Nombre d'arbres : moins de 40 arbres (0), de 40 à 80 arbres (1), plus de 80 arbres (2),
- Travail du sol : oui (0), non (1),
- Enherbement : non (0), oui (1)
- Désherbage chimique : oui (0), non (1).

Chaque site a ainsi été noté de 0 à 10 en totalisant les notes obtenues pour chaque critère.

L'autre contrainte forte de l'expérimentation était de limiter le risque de mélanges génétiques (autre que ceux que nous avons planifiés au travers l'hybridation Afrique du Sud x Kenya) entre les différentes populations introduites. En l'absence de connaissances sur la dispersion potentielle de *P. lounsburyi* et en se basant sur les données publiées sur l'espèce proche *P. concolor*, nous avons décidé d'espacer les sites expérimentaux d'au moins 15 km.

Les 60 sites retenus ont été sélectionnés automatiquement par un programme informatique développé sur la base de ces critères de convenance et de distance entre sites. Vingt groupes de 3 sites (20 blocs) ont été distingués sur la base de la proximité géographique des sites, et une des trois souches (Kenya, Afrique du Sud, hybride) a été attribuée *a priori* à chaque site de chaque bloc. Le résultat de ce travail est l'obtention d'un plan expérimental randomisé en bloc, avec trois modalités et 20 répétitions par modalité. Ce plan assure une bonne rigueur du traitement statistique des données et la fiabilité des interprétations.

Chacun des 60 sites a ensuite fait l'objet d'une première visite, à l'automne 2007, afin de rappeler à chaque exploitant volontaire les contraintes expérimentales, et de délimiter avec précision la zone de la parcelle où sera effectué le lâcher.

Afin de quantifier les populations de *B. oleae* et de ses parasitoïdes indigènes, chaque site fait l'objet d'un prélèvement aléatoire de 1000 olives collectées en automne sur l'arbre central de la zone expérimentale et sur les oliviers contigus. Les olives sont ramenées au laboratoire où elles sont pesées, puis disposées dans des bacs en plastiques sur un lit de sable, l'ensemble dans un manchon de mousseline à maille fine. Les bacs sont entreposés dans une serre régulée autour de 20°C. Les mouches et les parasitoïdes qui en émergent sont comptabilisés tous les deux jours et conser-

vés ensuite en alcool absolu au congélateur. Après la fin des émergences, les bacs sont vidés afin de comptabiliser tous les insectes morts restants. Les parasitoïdes indigènes sont ensuite identifiés et dénombrés.

Deux années d'échantillonnage (2007 et 2008) ont permis de mettre en évidence une forte hétérogénéité de l'abondance de la Mouche de l'olive sur l'ensemble des sites échantillonnés (fig. 1 et 2). Plusieurs paramètres liés à la localisation du site (altitude, latitude, longitude), à la variété d'olive (poids des olives), au mode de culture (irrigation, oléiculteur professionnel/amateur, conventionnel/biologique) ont été testés pour tenter d'expliquer cette hétérogénéité d'abondance. Globalement, l'abondance de mouche n'a pas varié significativement entre les deux années. Que ce soit en 2007 ou en 2008, nous avons estimé l'abondance à environ 250 mouches pour 1000 olives sur l'ensemble des sites expérimentaux. Par contre, nous avons mis en évidence trois effets statistiques significatifs. D'une part, l'abondance de mouches est un peu plus faible dans les exploitations conventionnelles qui utilisent des pesticides (242 mouches / 1000 olives), que dans les exploitations intégrées ou biologiques (267 et 272 respectivement). D'autre part, l'abondance de mouches est plus faible en altitude et dans les départements oléicoles situés plus à l'Est. A signaler toutefois que ces résultats sont à interpréter avec précaution car on ne peut exclure un biais expérimental lié à la période du prélèvement, ainsi qu'à la variété d'olive.

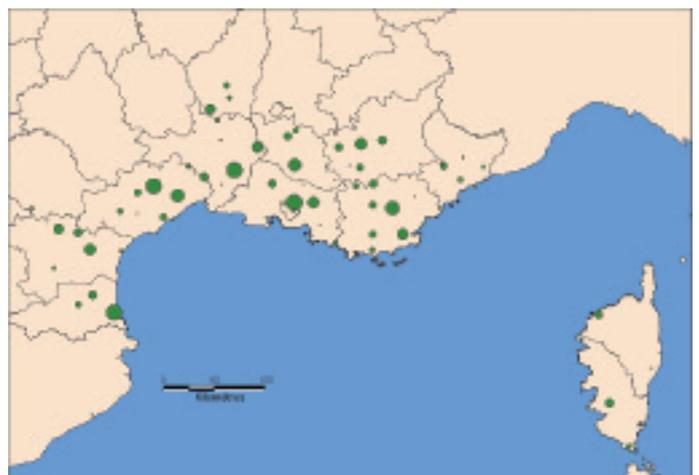


Figure 1 : Répartition de l'abondance de *Bactrocera oleae* (Diptera, Tephritidae) sur les 60 sites expérimentaux en 2007.

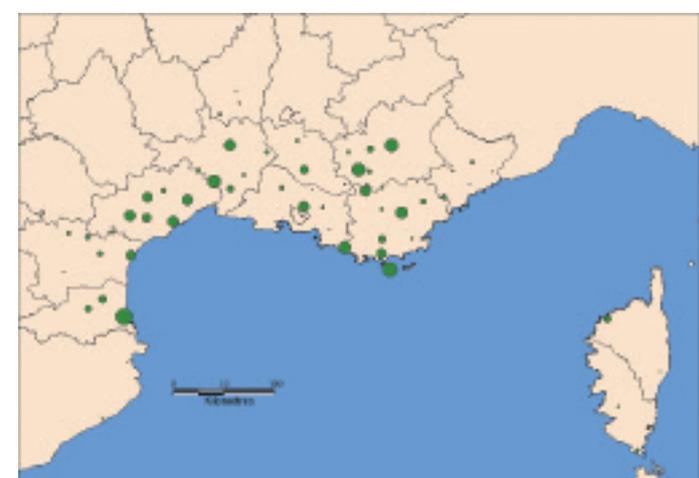


Figure 2 : Répartition de l'abondance de *Bactrocera oleae* (Diptera, Tephritidae) sur les 60 sites expérimentaux en 2008.

Concernant les parasitoïdes indigènes, nous avons mis en évidence la présence de 3 espèces : *Pnigalio agraulis* (Hymenoptera, Eulophidae), *Eupelmus urozonus* (Hymenoptera, Eupelmidae) et *Eurytoma martellii* (Hymenoptera, Eurytomidae) qui représentent respectivement 76.5%, 22.2% et 1% des parasitoïdes indigènes collectés en 2007. Une quatrième espèce indéterminée a également été récoltée en très faible quantité. En 2008, leur abondance relative était respectivement de 60%, 33% et 0%, avec 7% de parasitoïdes indéterminés. Sur l'ensemble du réseau, le nombre de sites ayant révélé la présence de parasitoïdes étaient de 19 sites en 2007 et de 6 sites en 2008. Les densités sont très variables d'un site à l'autre mais globalement faibles (Fig. 3).

La même analyse que pour la mouche a été effectuée pour expliquer la présence/absence de parasitoïdes en fonction des mêmes paramètres que précédemment, en y ajoutant la densité de mouches. Trois variables expliquent la présence des parasitoïdes indigènes. Un effet très fort de l'année a été observé (13 parasitoïdes / 1000 olives en 2007 contre moins d'un parasitoïde / 1000 olive en 2008). D'autre part, la présence de parasitoïde est d'autant plus probable que la présence des mouches est forte, et que les sites sont plus au Sud (par exemple, en Corse, Fig 3).



Figure 3 : Répartition de la présence des parasitoïdes indigènes sur les 60 sites expérimentaux en 2007 et 2008

| Présence effective des parasitoïdes indigènes | |
|---|----------------------------|
| □ | présence 2007 (14) |
| × | présence 2008 (14) |
| + | présence 2007 et 2008 (15) |
| ● | présence 2007 et 2008 (16) |

2008, production massive de *P. lounsburyi* et introductions en oliveraie.

La seconde année du projet a été consacrée aux introductions de *P. lounsburyi* sur l'ensemble des 60 sites expérimentaux. Il s'agissait d'une année clé du projet qui nécessitait une importante coordination entre les différentes équipes impliquées afin d'organiser successivement la production massive de l'auxiliaire, le lâcher sur le terrain et le contrôle de son installation en fin de saison, juste avant l'hiver.

La première étape, primordiale, a été de produire suffisamment de parasitoïdes en parfaite synchronisation avec les stades réceptifs de l'hôte, c'est-à-dire les 2^{ème} et 3^{ème} stades larvaires. Il a donc fallu monter progressivement en puissance l'élevage pendant le premier semestre 2008, avec une augmentation significative des moyens matériels et humains pour atteindre une production qui devait permettre de lâcher environ un millier d'individus par site.

Compte tenu de l'impossibilité de différencier à première vue les pupes de *B. oleae* parasitées des autres, nous avons décidé d'introduire les individus sous la forme d'adultes déjà accouplés.

Ce choix a nécessité la mise au point d'une forme de conditionnement permettant une survie optimale des adultes sur le terrain et suffisamment facile et rapide à mettre en œuvre. Le prélèvement des adultes de parasitoïdes dans l'élevage est effectué à l'aide d'un aspirateur à bouche. Cette méthode, bien que plus longue et plus fastidieuse, offre de meilleurs résultats qu'avec un aspirateur électrique. En effet, l'aspiration électrique induit une forte mortalité dans les heures qui suivent. Après avoir effectué plusieurs tests sur le conditionnement, nous avons opté pour l'utilisation d'un tube en carton de 60 mm de diamètre, 22 cm de long et ouvert de chaque côté, obstrué le temps du transport par un tissu très fin en nylon (collant).

Les tubes de parasitoïdes sont transportés jusqu'aux sites d'introduction dans une glacière afin d'éviter les chocs thermiques. Deux tubes par site sont ensuite accrochés sur l'arbre de lâcher (photo 1) puis ouverts à leur extrémité afin de laisser les insectes sortir naturellement. A chaque fois sont notés la présence de vent et la température à l'heure du lâcher ainsi que, dans la mesure du possible, le nombre d'insectes morts dans les tubes pendant le transport. L'opération de lâchers sur le terrain a été planifiée en 2 vagues à 1 mois d'intervalle afin de minimiser le risque d'intempéries ou d'incident imprévu qui aurait pu avoir un impact négatif dans le cas d'un lâcher ponctuel et unique. La première vague a eu lieu entre mi-juillet et mi-août ; la seconde entre mi-août et mi-septembre. Au total, 50 000 individus ont été conditionnés et disposés dans les oliveraies. Compte tenu de la mortalité observée pendant le conditionnement et le transport, 43 300 individus ont été libérés, 43% de ces individus étant des femelles. Les tournées de lâchers ont été organisées dans un ordre congruent avec la chronologie des attaques de *B. oleae* dans la saison, et ont donc débuté par les sites de basse altitude.



Photo 1: Dispositif de lâcher de *Psytalia lounsburyi* dans les oliveraies (Photo J.C. Malausa / INRA)

Outre l'évaluation des densités de mouches et des parasitoïdes indigènes, ces observations devaient également cette année permettre de détecter la présence ou non d'individus de *P. lounsburyi* récemment installés. Afin d'augmenter les chances de détection, des pièges sexuels ont également été installés sur chaque site à l'occasion des tournées de collectes des olives afin de détecter la présence éventuelle de mâles. Trois pièges triangulaires englués avec chacun en leur centre une capsule aérée en fibre nylon contenant 5 femelles vierges de *P. lounsburyi* ont été installés sur trois oliviers centraux de chaque site expérimental (photo 2). Les pièges ont été exposés dans les sites pendant 10 jours et retournés directement par la poste par les propriétaires.

Les pièges englués étaient ensuite analysés en laboratoire pour vérifier la présence ou non de mâles du parasitoïde.



Photo 2: Piège sexuel de *Psytalia lounsburyi* en place sur un olivier (Photo J.C. Malausa / INRA)

L'ensemble des échantillonnages a permis de trouver au total 25 individus de *P. lounsburyi*, répartis sur 11 sites (figure 4). Ces observations démontrent que le parasitoïde est capable de parasiter et d'effectuer un développement larvaire complet dans ses nouvelles conditions environnementales et de trouver son hôte cible après avoir été élevé sur un hôte de substitution (*C. capitata*).



Figure 4 : Répartition de la présence de *Psytalia lounsburyi* sur les sites expérimentaux en automne 2008.

Les perspectives pour 2009 et 2010

Les premiers résultats ont permis de mettre en évidence la présence de *P. lounsburyi* sur un nombre substantiel de sites sur lesquels il avait été introduit. L'établissement durable de ce dernier dépendra néanmoins de ses capacités à passer l'hiver dans son nouvel environnement, étape clé qui fera l'objet des suivis des prochaines années. Une étude complémentaire en conditions contrôlées est également programmée pour déterminer les conditions optimales d'hivernation de *P. lounsburyi*.

Les mêmes échantillonnages qu'en 2008, par prélèvements d'olives et par piégeage sexuel, seront donc effectués au moins pendant les deux prochaines années afin de suivre l'acclimatation et le développement des populations du parasitoïde, tout en continuant à évaluer la densité de la mouche et de ses parasitoïdes indigènes. Des analyses ultérieures permettront également de caractériser les individus récoltés afin d'en déduire les souches qui se sont le mieux adaptées à leurs nouvelles conditions et documenter l'impact de l'hybridation sur les capacités d'adaptation et de développement de nouveaux foyers.

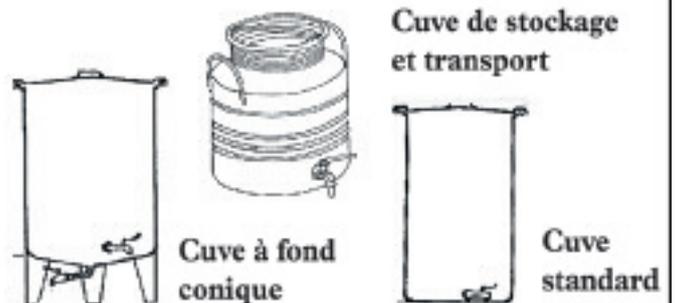
Bibliographie

- Arambourg Y., Pralavorio R., 1974 - Les chalcidiens ectophages (*Hym. Chalcidoidea*) parasites de *Dacus oleae* Gmel. (*Dipt. Trypetidae*). *Annl. Inst. phytopath.* Benaki (N. S.), 11, pp. 30-46.
- Copeland R.S., White I.M., Okumu M., Machera P., Wharton R.A., 2004 - Insects associated with fruits of the Oleaceae (*Asteridae, Lamiales*) in Kenya, with special reference to the tephritidae (*Diptera*). *Museum Bulletin in Entomology* 12, pp 135-164.
- Daane K.M., Sime K.R., Wang X., Nadel H., Johnson M.W., Walton V.M., Kirk A., Pickett C.H., 2008 - *Psytalia lounsburyi* (*Hymenoptera : Braconidae*) Potential biological control agent for the olive fruit fly in California. *Biological control* 44, pp 79-89.
- Delanoue P., Arambourg Y., 1967 - Contribution à l'étude en laboratoire de *Pnigalio mediterraneus* (*Hym. Chalcidoidea Eulophidae*). *Ann. Soc. Ent. Fr.* (N. S.), 3, pp. 909-927.
- Monastero, S., Delanoue P., 1966 - Lutte biologique expérimentale contre la mouche de l'olive (*Dacus oleae* Gmel.) au moyen d'*Opius concolor* Szep. *Sculus Mon.* dans les îles éoliennes (Sicile) en 1965. *Entomophaga*, 11, pp. 411-432.
- Monastero S., Delanoue P., 1967 - Première expérimentation à grande échelle, de lutte biologique contre la mouche de l'olive (*Dacus Oleae* Gmel.) au moyen d'*Opius concolor* Szep. *Sculus Mon.* en Sicile. *Entomophaga*, 12, pp. 381-398.
- Rice R. E., Phillips P. A., Stewart-Leslie J., Sibbett G. S., 2003 - Olive fruit fly populations measured in Central and Southern California. *California Agriculture* 57, pp 122-127.
- Thaon M., Blanchet A., Ris N., 2009 - Contribution à l'optimisation de l'élevage du parasitoïde *Psytalia lounsburyi*. *Cah. Techn. Inra*, 66, pp. 21-31

TOUT POUR LA CAVE

Maison fondée en 1935

• Cuve inox



• Filets à olives

• Verrerie

• Bonbonne petit goulot et gros goulot

Contactez-nous pour des renseignements et PRIX

Tout Pour la Cave s.a.r.l.

8 et 10 rue Ségurane - 06300 Nice

Tél 04 93 55 51 19 - Fax 04 93 89 14 69

www.toutpourlacave.net

Les auteurs remercient sincèrement tous les propriétaires des oliveraies mises à notre disposition pour ce projet et sans qui les expérimentations n'auraient pas été possibles