

# Problématique de la bruche en culture de féverole et lutte biologique intégrée au sein du projet FEVERPRO

Arnaud Segers, Doctorant au laboratoire d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive  
(Gembloux Agro-bio Tech)

Projet FEVERPRO (SPW Agriculture) - ref. D31-1395

30 janvier 2023



# La féverole – *Vicia faba* L. (Fabaceae)

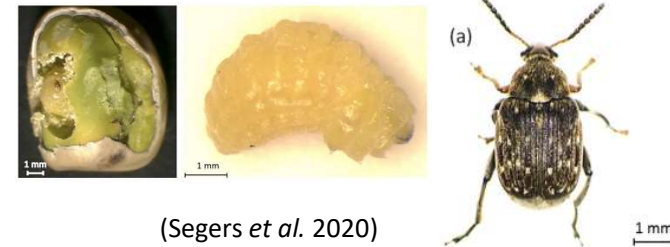


Promotion de la culture de *V. faba* dans l'UE : *Rapport sur le développement des protéines végétales dans l'UE (22/11/2018)*

MAIS...

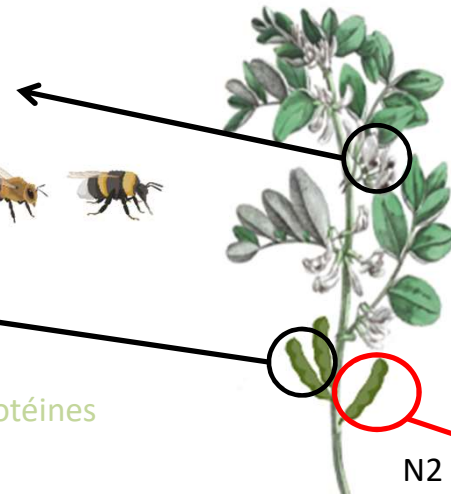
**Ravageurs + maladies + sensibilité climatique**

**Bruche de la fève: *Bruchus rufimanus* Boheman 1833**  
(Coleoptera: Chrysomelidae)



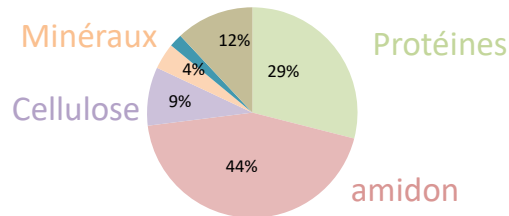
(Segers *et al.* 2020)

**Ressources florales pour les pollinisateurs et auxiliaires**



**Graines riches en amidon et protéines**

- ⇒ Food & feed
- ⇒ Autonomie protéique



**Nodosités (*Rhizobium sp.*)**

- ⇒ Fixation naturelle N atmosphérique
- ⇒ Engrais naturel

(Jensen *et al.* 2010; Karkanis *et al.* 2018)





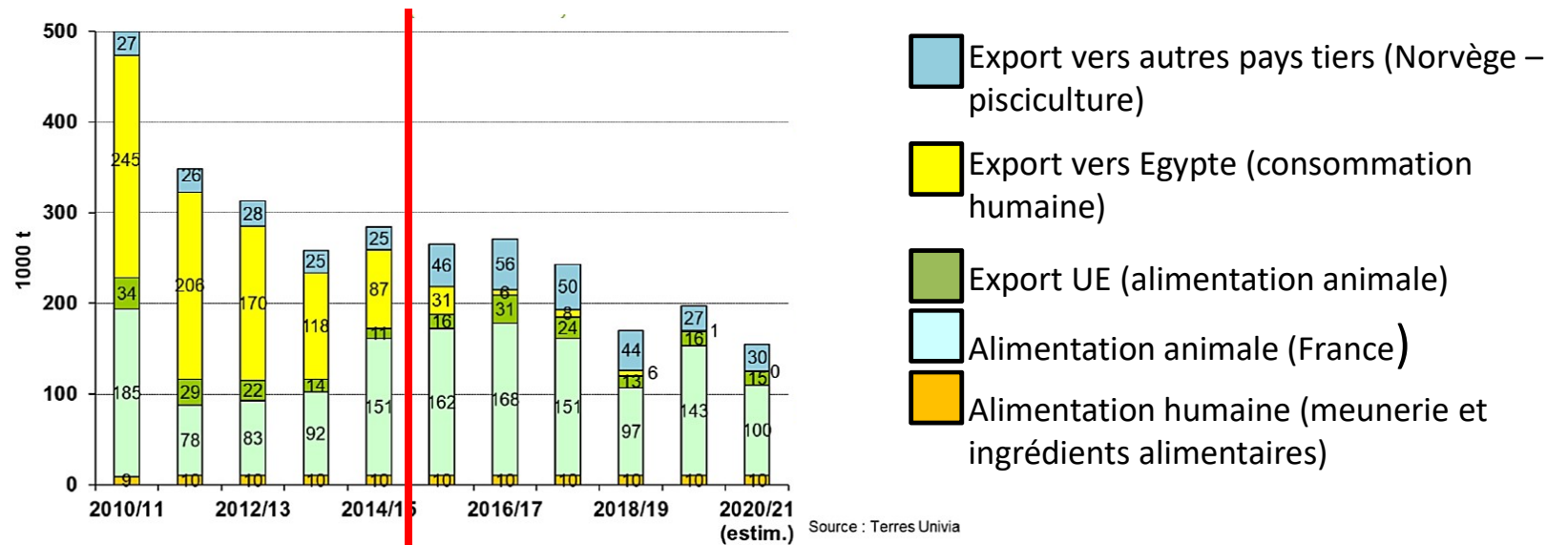
# Impacts causés par la bruche aux graines de féverole

Impacts sur les débouchés (France) :



© Terres Inovia

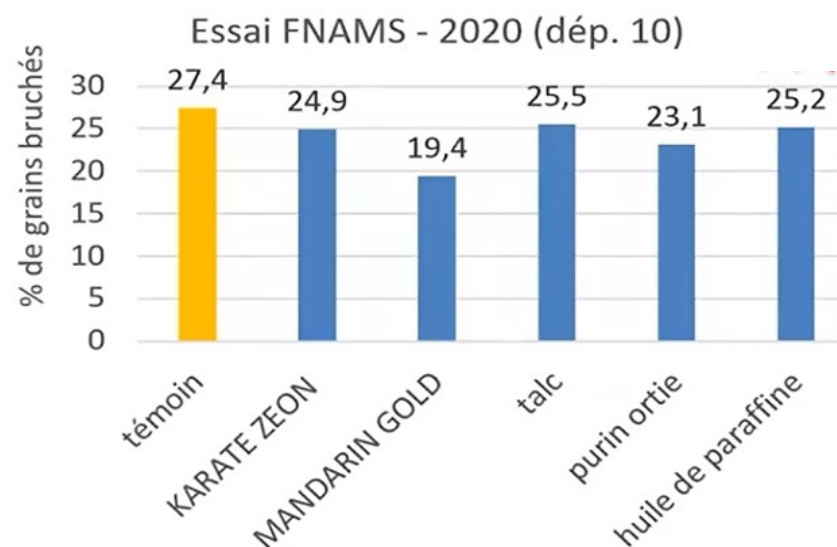
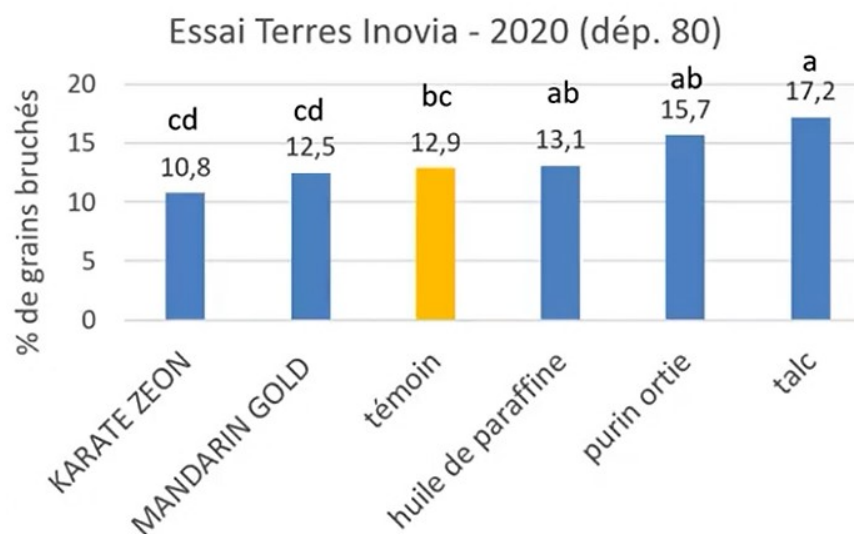
< 2-3 % graines bruchées





## Quelles solutions disponibles?

- Conventuel: recours PPP via application max. 2x en floraison (T°max > 20°C / 2 jours ; stage JG2) (/!\ pollinisateurs)
- Efficacité limitée, manque d'alternatives efficaces



Source: Gwenola Riquet – RFL 3

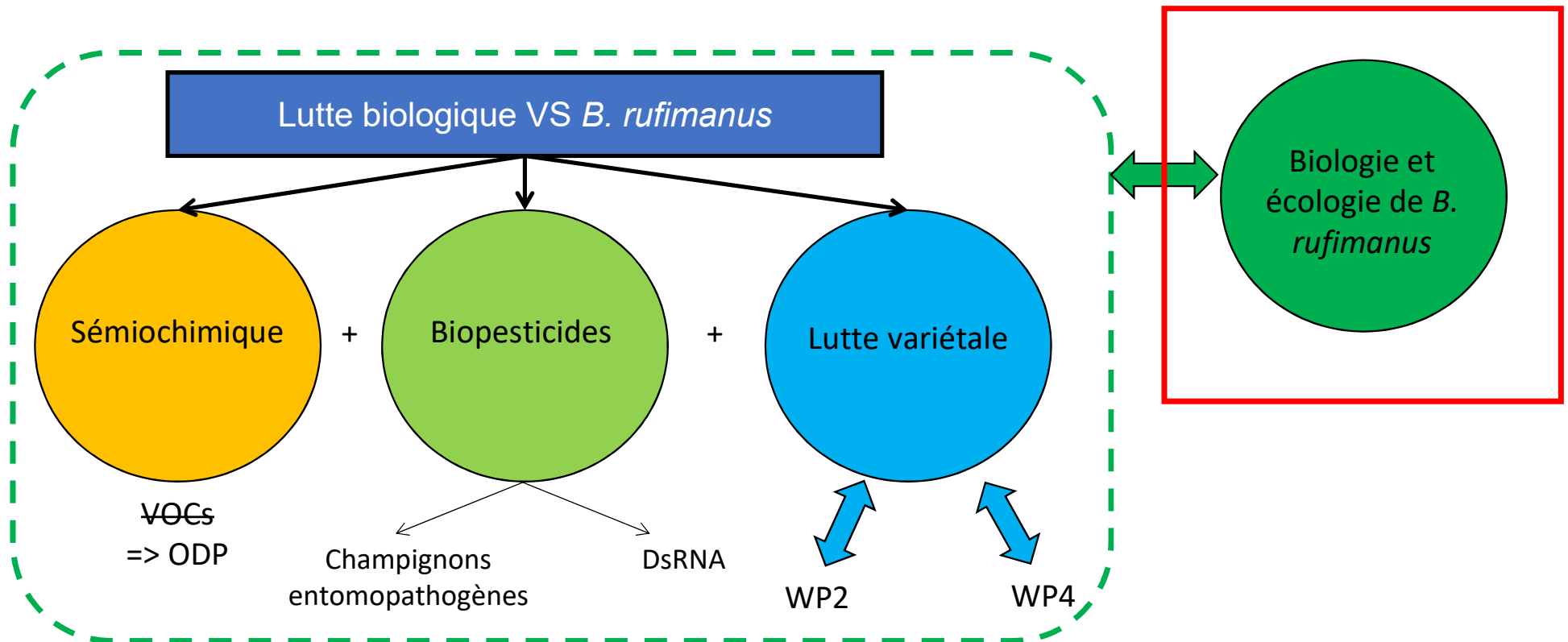


## Projet FEVERPRO

« *Promouvoir la culture de la féverole comme source **alternative des protéines végétales** pour la formulation des aliments et comme **source des produits bio-basés** à finalité non alimentaire, à travers le développement des méthodes de **lutte biologique** contre le principal insecte impliqué dans la dégradation de la qualité de ses graines et le développement **des procédés de fractionnement et de fonctionnalisation de ses graines** »*



## Projet FEVERPRO WP1 & WP2



Projet  
FEVERPRO

Biologie et  
écologie

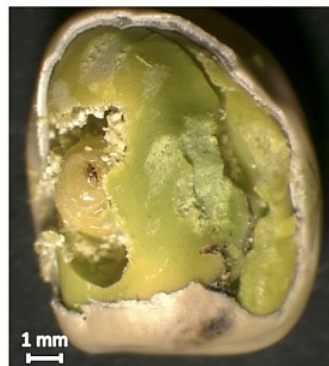
Lutte variétale

Lutte  
sémiochimique

Lutte bio  
technologique

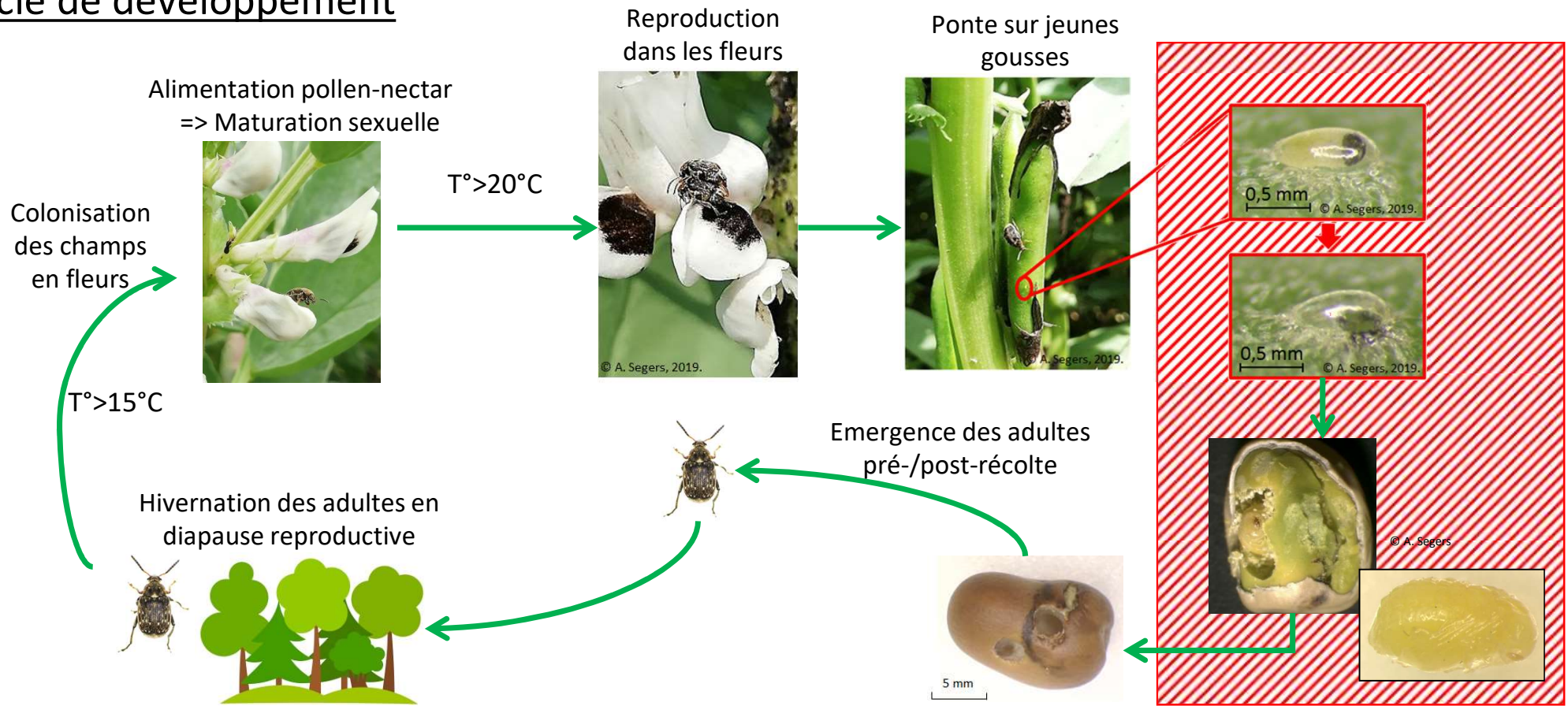
## La bruche de la fève: *Bruchus rufimanus* Boheman, 1833

- Ravageur le plus important du genre *Vicia*
- **Espèce univoltine**: une génération par année pendant périodes de cultures => **Diapause reproductrice/larvaire en hiver**
- **Espèce oligophage**
  - Adultes : nectariphages et polliniphages
  - Larves : séminivores (11 plantes hôtes)





## Cycle de développement







## Biologie de *B. rufimanus*

- Etude de la biologie => déterminer le bilan thermique nécessaire au développement complet de *B. rufimanus*
- Meilleure compréhension des mouvements de populations (infestation en cultures, émergence post-récolte)

*Combien de degrés-jours sont nécessaires au développement complet des bruches?*

- ⇒ Elevages fonctionnels (diapause reproductive, cycle complet de la plante hôte) : ok
- ⇒ Evaluer la durée des cycles de développement à différentes températures : ok

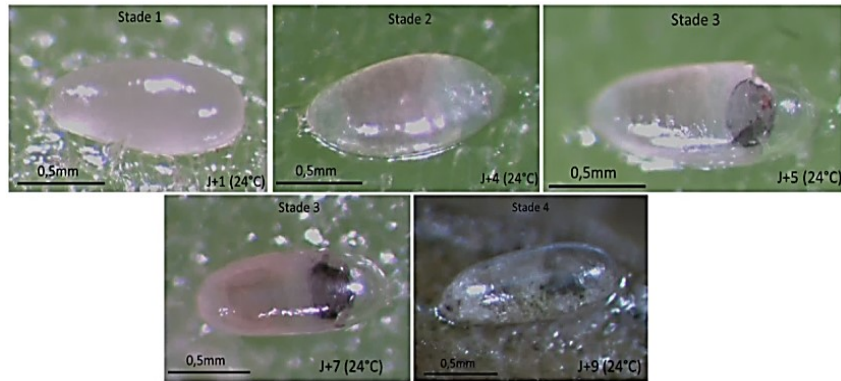




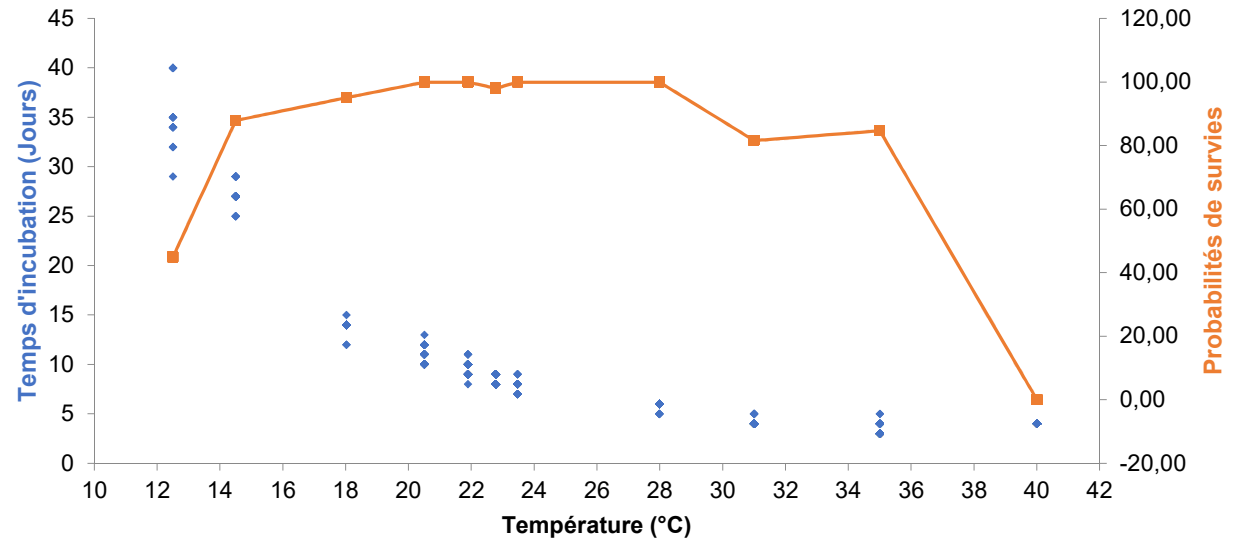
## Biologie de *B. rufimanus*

- Suivi des **temps d'incubation** dans différentes températures (constantes)

4 stades morphologiques



Temps d'incubation et probabilités de survie en fonction de la température



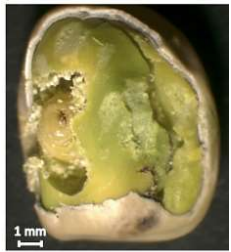


## Biologie de *B. rufimanus*

- Suivi des **temps de développement larvaire/nypale** dans différentes températures (constantes)

Températures moyennes (°C)	Nb cages	Nb génération (n)	Sexe ratio primaire	Durées moyennes de cycle (jours)	Nb Génération (n+1)	Sexe ratio secondaire
14,09 ± 1,38	3	75	1,5	/	/	/
17,47 ± 0,97	3	75	1,5	/	/	/
19,03 ± 5,28	4	100	1,5	97,82 ± 1,94	117	0,67
20,59 ± 0,58	3	60	1	*	*	*
21,10 ± 0,58	3	75	1,5	89,17 ± 11,46	70	1,19
23,60 ± 1,64	2	50	1,5	95,89 ± 7,82	37	0,76
26,75 ± 1,45	3	60	1	*	82	*
28,06 ± 0,78	3	75	1,5	/	/	/
28,00 ± 1,00	3	75	1,5	37,33 ± 6,12	79	ND

\* En cours d'encodage/analyse



⇒ Alimentation et accouplement optimaux de 19,03°C à 23,6°C (// observations terrain ~20°C)

⇒ Développement d'insectes impossible <19°C (inactivité) et >28°C (pas de fructification)

Projet  
FEVERPRO

Biologie et  
écologie

Lutte variétale

Lutte  
sémiochimique

Lutte bio  
technologique

## Ecologie de *B. rufimanus*

- Quels ennemis naturels en Région wallonne?

=> **Prédateurs:** *Zelus renardii* Kolenati, 1856 (Heteroptera : Reduviidae)

=> **Parasitoïdes:** Deux types de parasitoïdes identifiés dans la littérature



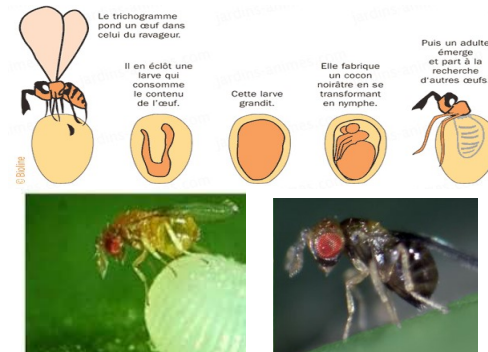
### Parasitoïdes larvaphages

*Triaspis thoracica* (Curtis, 1860)  
(Braconidae)



### Parasitoïdes oophages

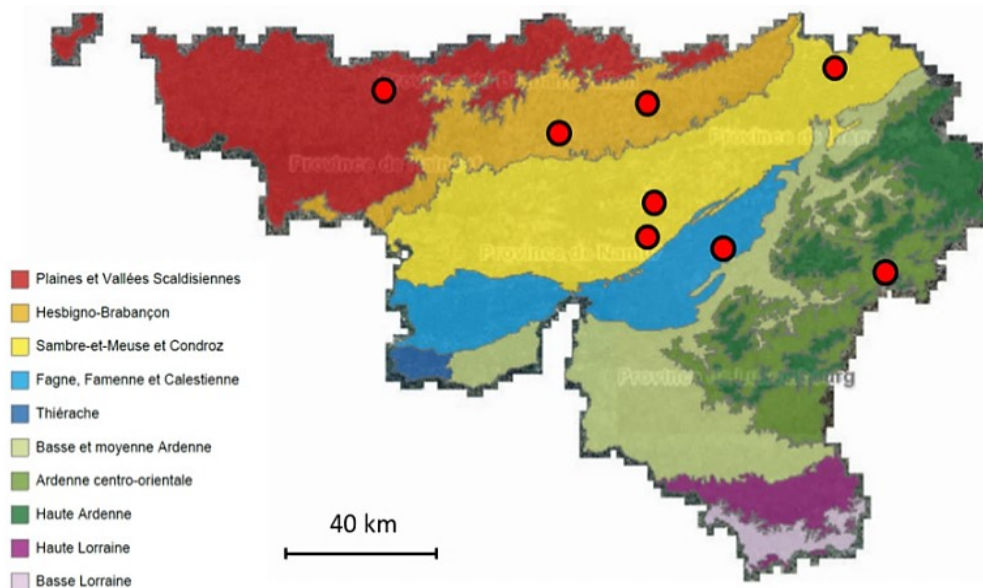
*Uscana* spp.  
(Trichogrammatidae)





## Ecologie de *B. rufimanus*

- Quels ennemis naturels en Région wallonne?
  - ⇒ Monitoring de présence de parasitoïdes de *B. rufimanus* sur trois années
    - ⇒ **En culture (piège à aspiration)**
    - ⇒ **Auprès de producteurs AB (collaboration Biowallonie)**
    - ⇒ Collectes d'échantillons de graines -> pièges d'émergence





## Ecologie de *B. rufimanus*

- Quels ennemis naturels en Région wallonne?

⇒ **Résultats:**

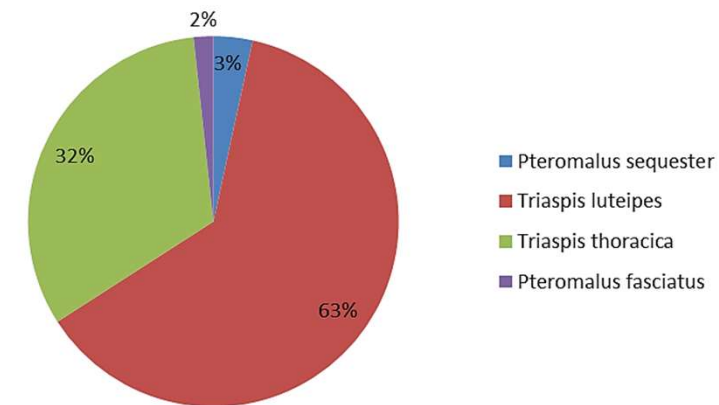
- Aucun parasitoïde oophage encore détecté
- Plusieurs morphotypes de parasitoïdes larvaphages capturés  
176 spécimens de parasitoïdes collectés => 4 espèces



*Triaspis sp.*



*Pteromalus sp.*



- Faible diversité d'espèces  
4 sp VS 14 sp (Bellifa & Viscardi 2021)
- Ectoparasitoïdes et endoparasitoïdes

⇒ Collecte 2022 sur 7 sites en RW

Projet  
FEVERPRO

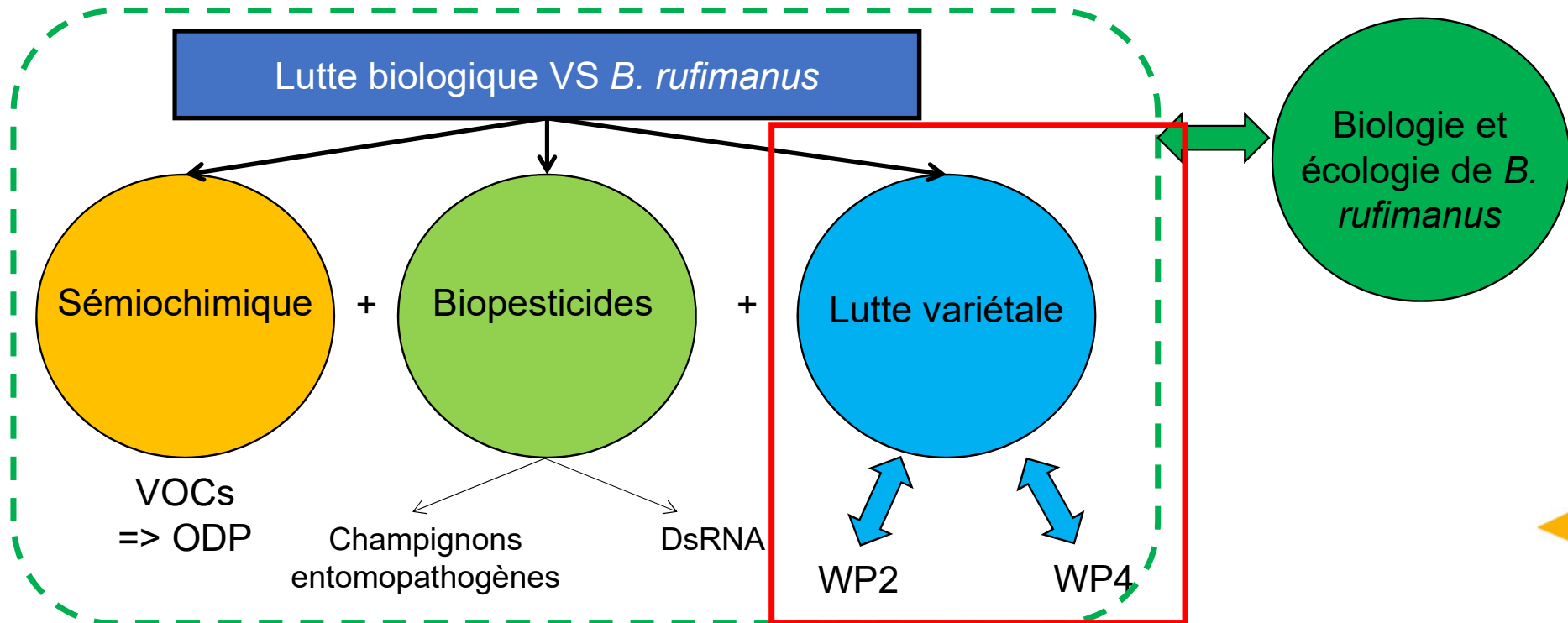
Biologie et  
écologie

Lutte  
variétale

Lutte  
sémiochimique

Lutte bio  
technologique

## Projet FEVERPRO WP1 & WP2





## Quelles sont les variétés les plus intéressantes à cultiver en Région wallonne?

⇒ **Etude transversale:** Confronter les **dommages des bruches** avec les analyses de compositions **chimiques des graines** et les **caractéristiques agronomiques** pour identifier les variétés les plus intéressantes pour l'industrie agroalimentaire

⇒ Essais variétaux pendant deux années:



- 14 variétés testées durant les étés 2018-2019 et 2019-2020 aux Isnes
- 9 variétés d'hiver et 5 variétés de printemps
- Analyse des **compositions des graines** (protéines, minéraux, lipides)
- Analyse de **facteurs agronomiques** (rendement, PMG)
- Analyse des **dégâts de bruches** (classement par type de dégâts)



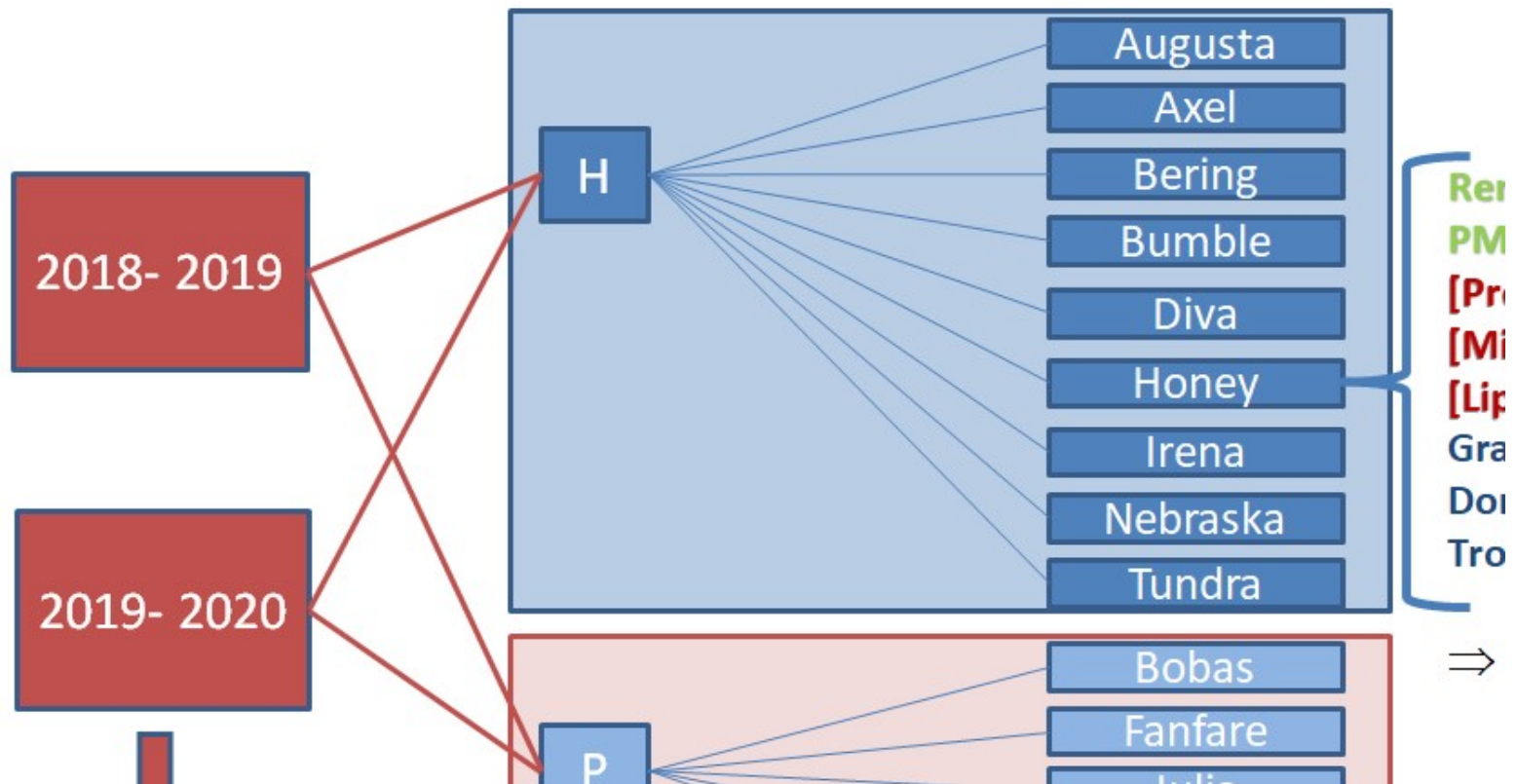
+ Suivi pression de ravageur et climat





Quelles sont les variétés les plus intéressantes à cultiver en Région wallonne?

⇒ Design expérimental et analyses statistiques:

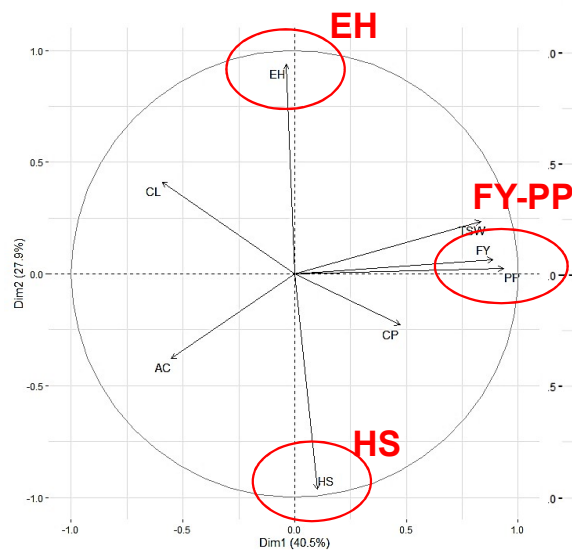




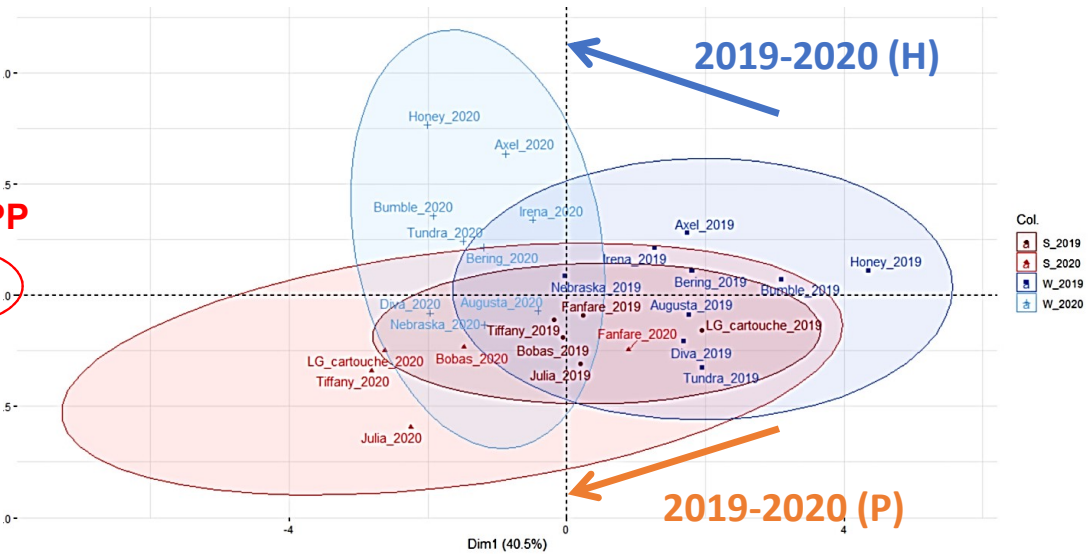
## Quelles sont les variétés les plus intéressantes à cultiver en Région wallonne?

- Résultats

- Fortes variations des taux d'infestation et des rendements protéiques
- Deux années extrêmes en terme de sécheresse : forte influence du climat



Dim 1. : 40,5%  
Dim 2. : 27,9%



- Perte en productivité marquée en 2020 (H &P)
- Variétés d'hiver globalement plus infestées que les variétés de printemps



## Quelles sont les variétés les plus intéressantes à cultiver en Région wallonne?

- Résultats

- Fortes variations des taux d'infestation et des rendements protéiques
- Deux années extrêmes en terme de sécheresse : forte influence du climat
- Quels facteurs responsables de ces variations (climat/variété)?

	FY		CP		PP		HS		SD		EH	
	p-value	Contribution (%)	p-value	Contribution (%)	p-value	Contribution (%)	p-value	Contribution (%)	p-value	Contribution (%)	p-value	Contribution (%)
<b>Year</b>	<0.001	84.61	<0.001	36.35	<0.001	88.50	<0.001	14.92	NS	NS	0.002	8.54
<b>Variety</b>	0.005	7.86	<0.001	47.24	0.006	5.77	<0.001	44.86	NS	NS	<0.001	55.58
<b>Winter</b>												
n		18		54		54		72		72		72
Error (%)		7.54		16.42		5.73		40.22		NS		35.89
Adjusted R <sup>2</sup>		<b>0.9004</b>		<b>0.7831</b>		<b>0.9243</b>		<b>0.5073</b>		NS		<b>0.5604</b>
<b>Year</b>	0.005	35.00	<0.001	15.17	0.003	37.68	0.012	20.65	NS	NS	0.013	20.68
<b>Variety</b>	NS	NS	0.009	64.57	NS	NS	0.022	31.20	NS	NS	0.022	31.21
<b>Spring</b>												
n		10		30		30		40		40		40
Error (%)		65.00		20.26		62.32		48.14		NS		48.20
Adjusted R <sup>2</sup>		<b>0.3158</b>		<b>0.7299</b>		<b>0.3440</b>		<b>0.4091</b>		NS		<b>0.4085</b>

⇒ Les rendements et productions de protéines : climat

⇒ Les teneurs en protéines et taux d'infestation : variétés

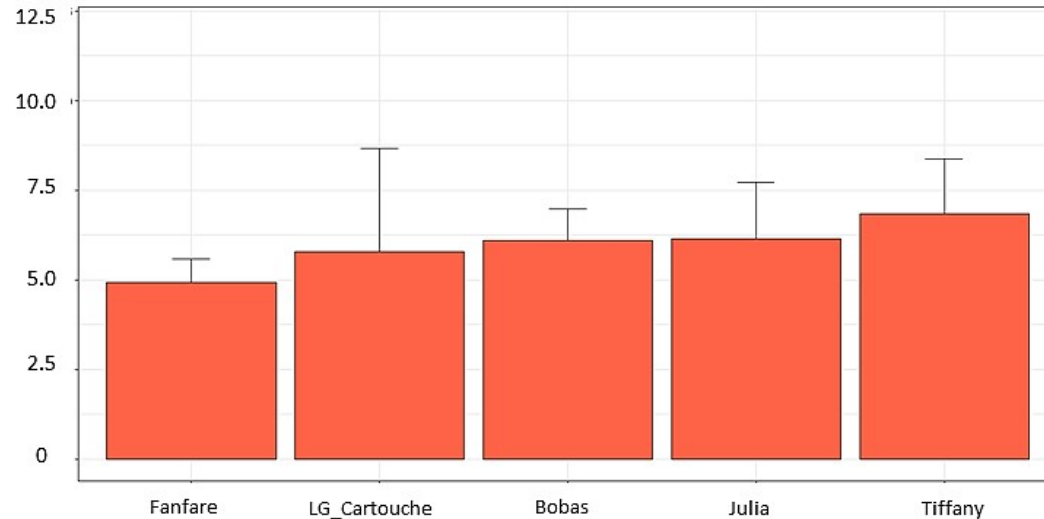
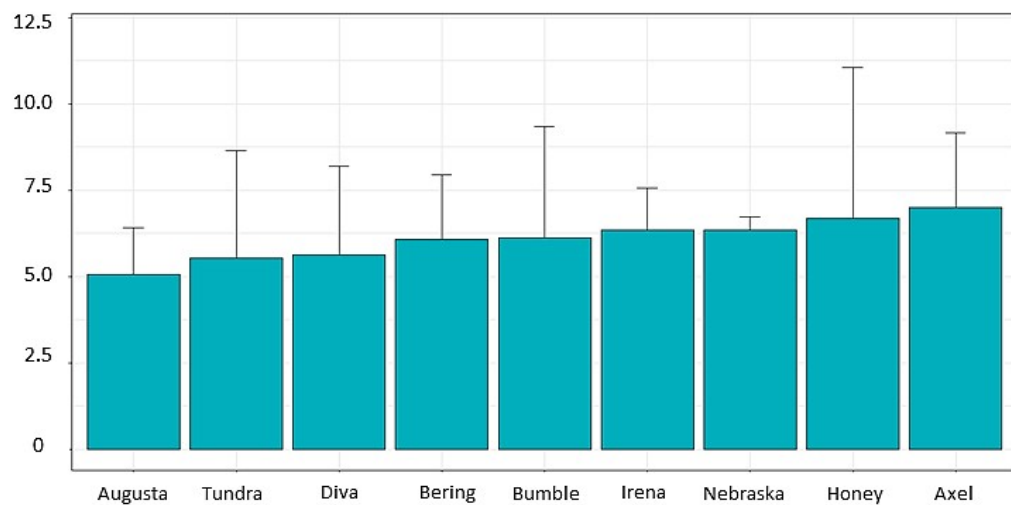


## Quelles sont les variétés les plus intéressantes à cultiver en Région wallonne?

- Résultats

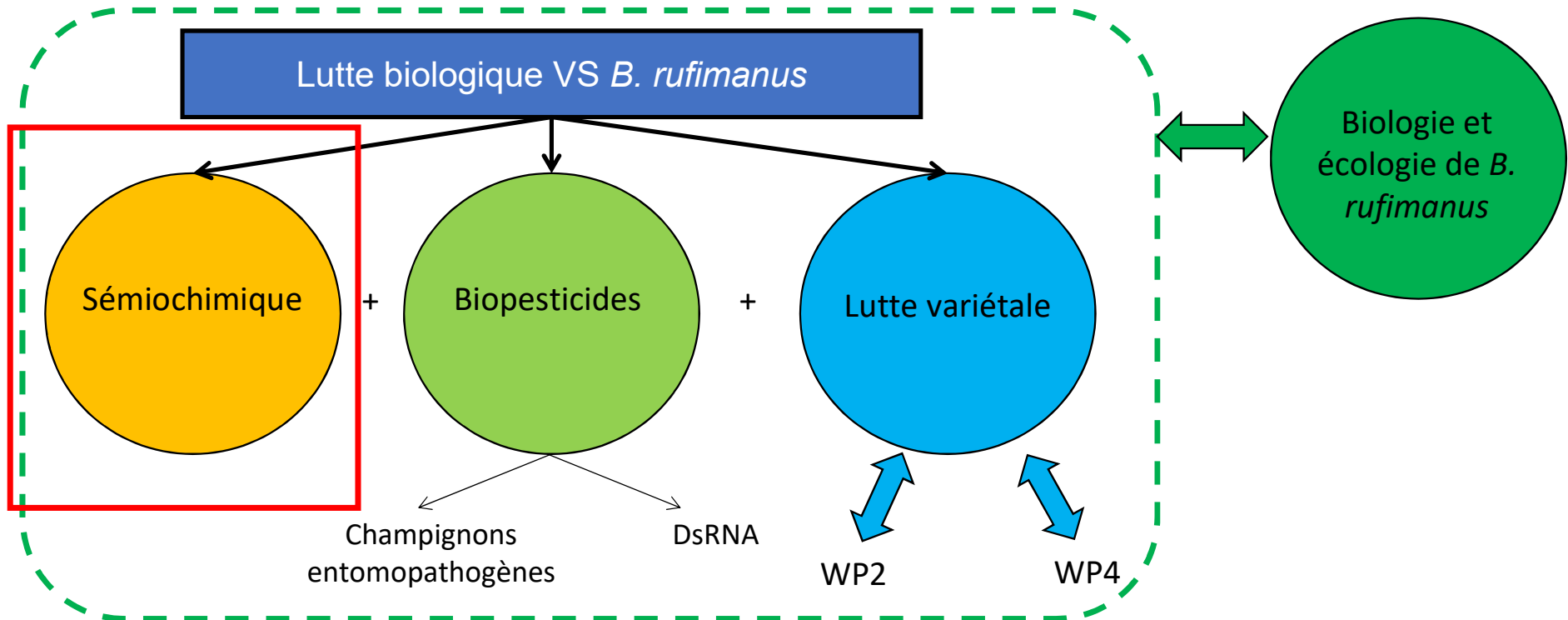
- Variétés les plus intéressantes en considérant:

- **Production protéique:** Axel (1179 kg/ha) > Irena (1151 kg/ha) > Fanfare (1093,3 kg/ha);
    - **Taux d'infestation:** Julia (77,5%) > Bobas (72,0%) > Diva (70%);
    - **Production protéique + taux d'infestation:** Fanfare > Augusta > Tundra





## Projet FEVERPRO WP1 & WP2



Projet  
FEVERPRO

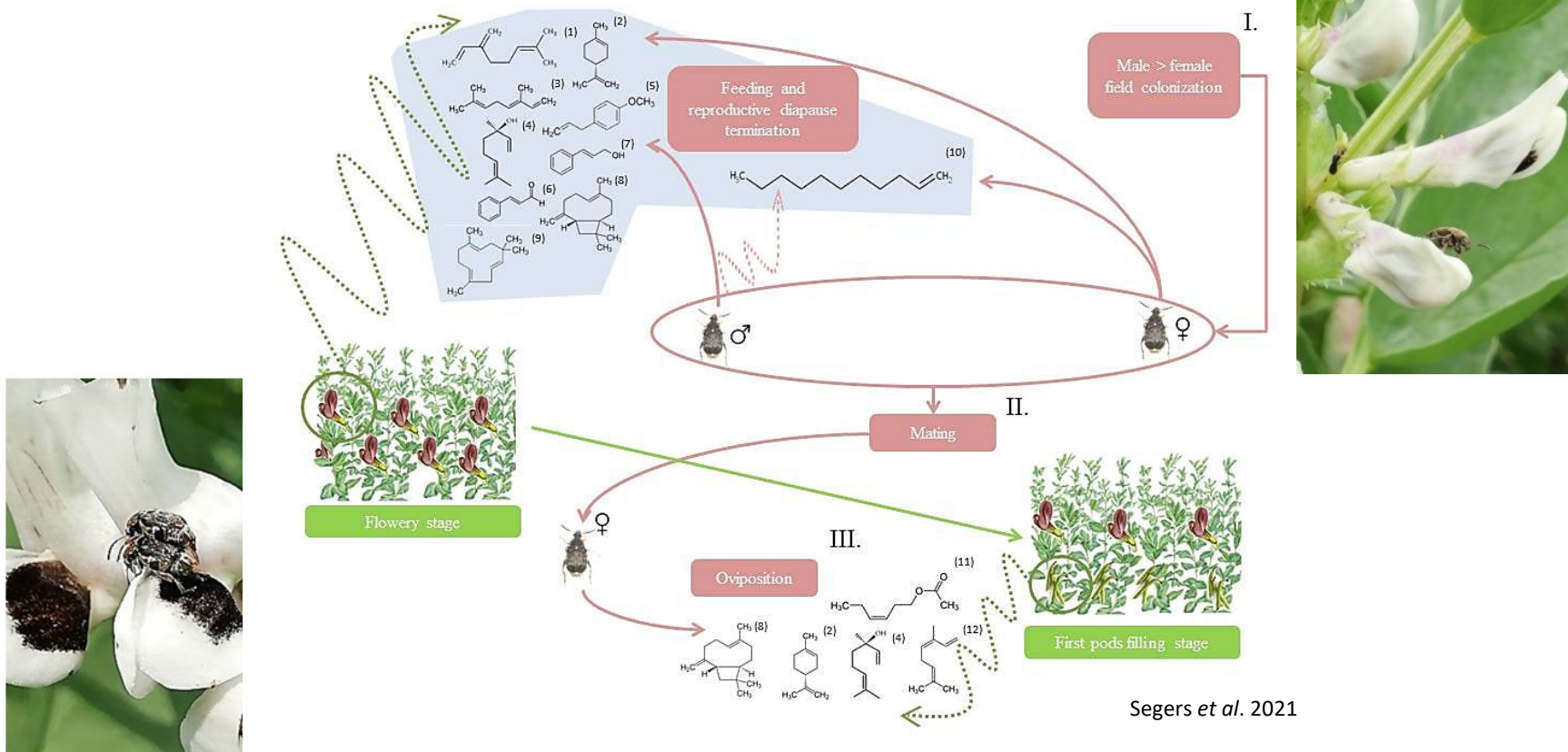
Biologie et  
écologie

Lutte variétale

Lutte  
sémiochimique

Lutte bio  
technologique

## Ecologie chimique de *B. rufimanus*





- Méthodes de lutte basées sur les sémiochimiques

- ⇒ Reproduire l'odeur des plantes (fleurs – gousses) pour attirer les insectes
- ⇒ Empêcher la ponte sur les jeunes gousses

- Trois types d'attractants et deux types de pièges disponibles pour la capture de la bruche:

- Kairomones florales (IPS)
- Kairomones florales (AgriOdor)
- Kairomones gousses (AgriOdor)
- Pièges verts de type *funnel trap with barrier cross*
- Pièges blancs à cylindre transparent (prototype AgriOdor)



⇒ Evaluation de **l'efficacité des pièges sémiochimiques** et potentiel dans une **stratégie de biocontrôle**?

⇒ Influence de la phénologie de la culture sur l'efficacité des pièges?

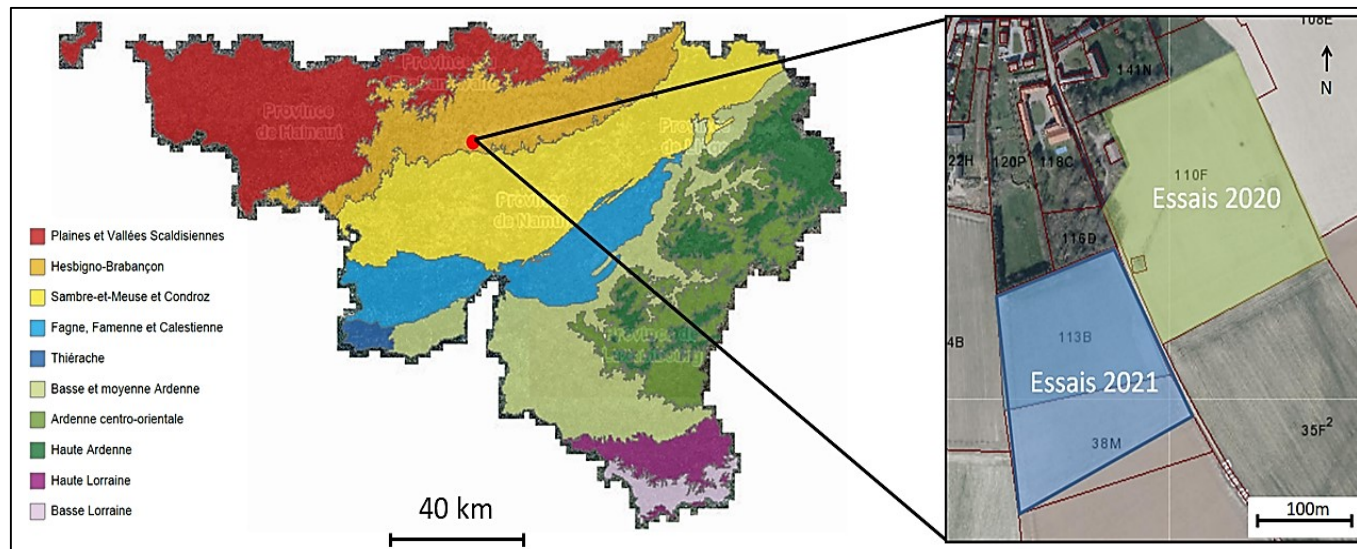
⇒ **Effet collatéraux** sur les auxiliaires de cultures?





- Comparaison de pièges sémiochimiques sur terrain (2020-2021)

- ✓ Deux cultures (féverole d'hiver et féverole de printemps)
- ✓ Conditions d'**hyperinfestations** pour la mise en place des essais
- ✓ Plateforme des essais CePiCOP :





Projet  
FEVERPRO

Biologie et  
écologie

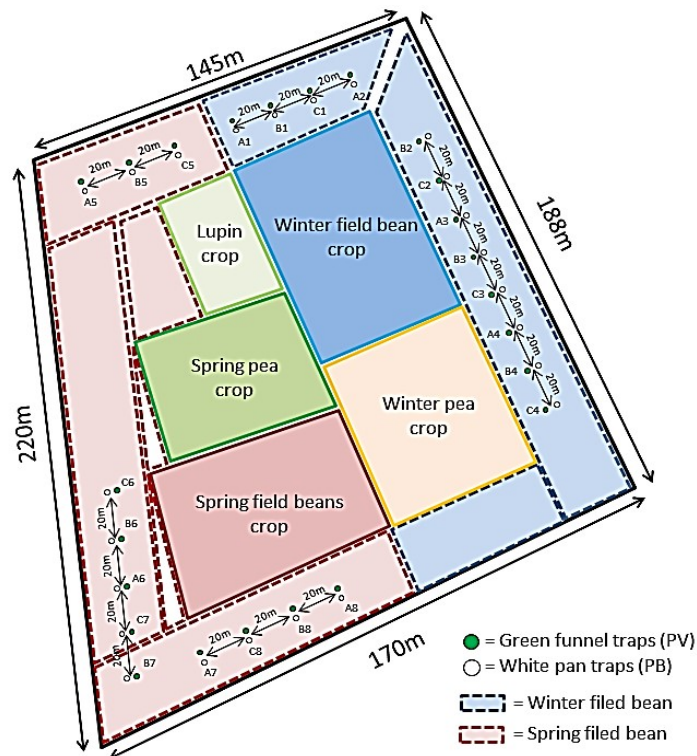
Lutte variétale

Lutte  
sémiochimique

Lutte bio  
technologique

- Comparaison de pièges sémiochimiques sur terrain (2020-2021)

⇒ Dispositif expérimental:



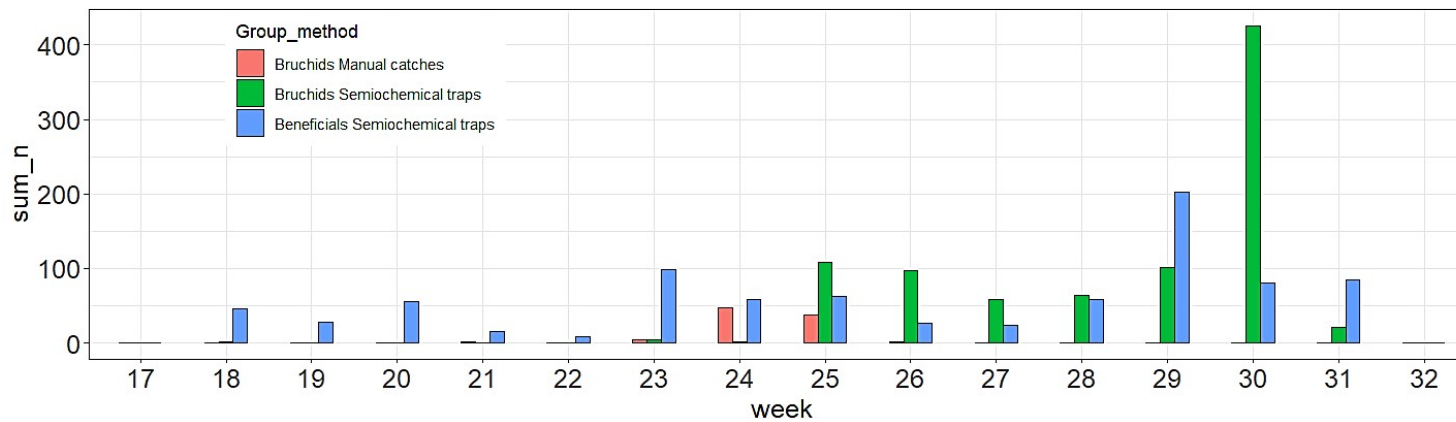
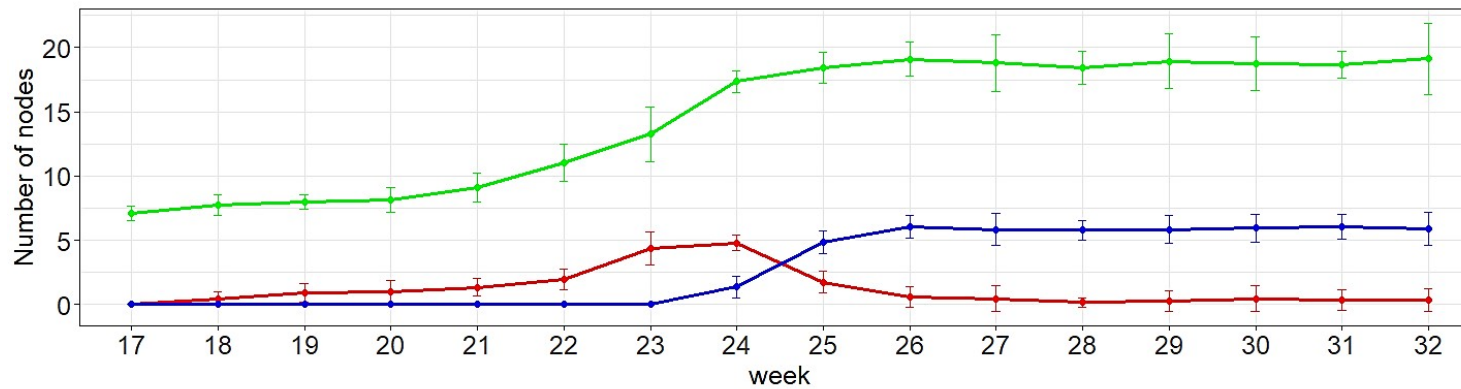
- ✓ Deux dispositifs adjacents : féverole d'hiver et féverole de printemps
- ✓ (2 types de pièges) X (3 types d'attractants), 4 répétitions
- ✓ Deux contrôles
  - Piégeage manuel (PM) => Contrôle
  - Plaque collante (Solabiol®) => Contrôle
- ✓ **Suivi phénologique** des féveroles + conditions météorologiques





- Comparaison de pièges sémiochimiques sur terrain (2020-2021)

⇒ **1380 bruches VS 1424 auxiliaires** (Apoidea ; Coccinellidae ; Syrphidae)

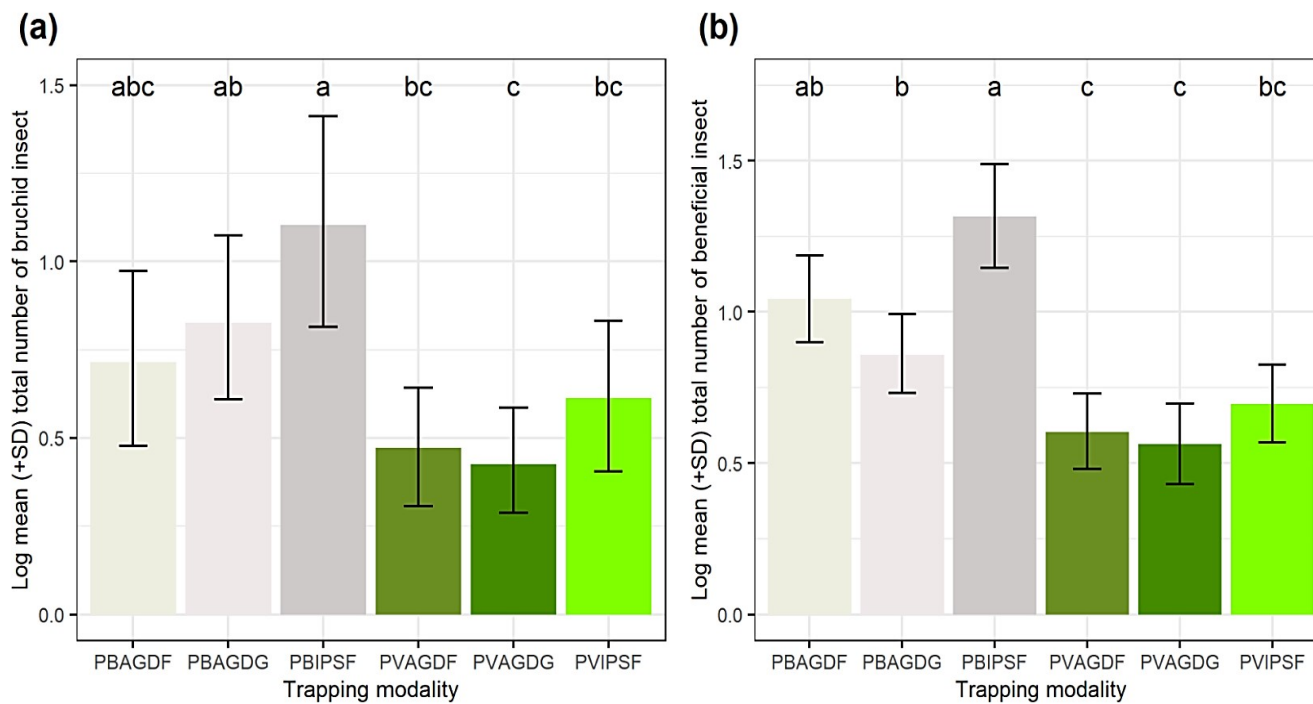


⇒ **Forte compétition de la floraison VS attractivité des pièges**



- Comparaison de pièges sémiochimiques sur terrain (2020-2021)

⇒ Pièges les plus efficaces pour les bruches (a) et sur les auxiliaires (b)



Pièges blancs > pièges verts

PBIPSF +++



- Comparaison de pièges sémiochimiques sur terrain (2020-2021)

⇒ Impacts sur les auxiliaires

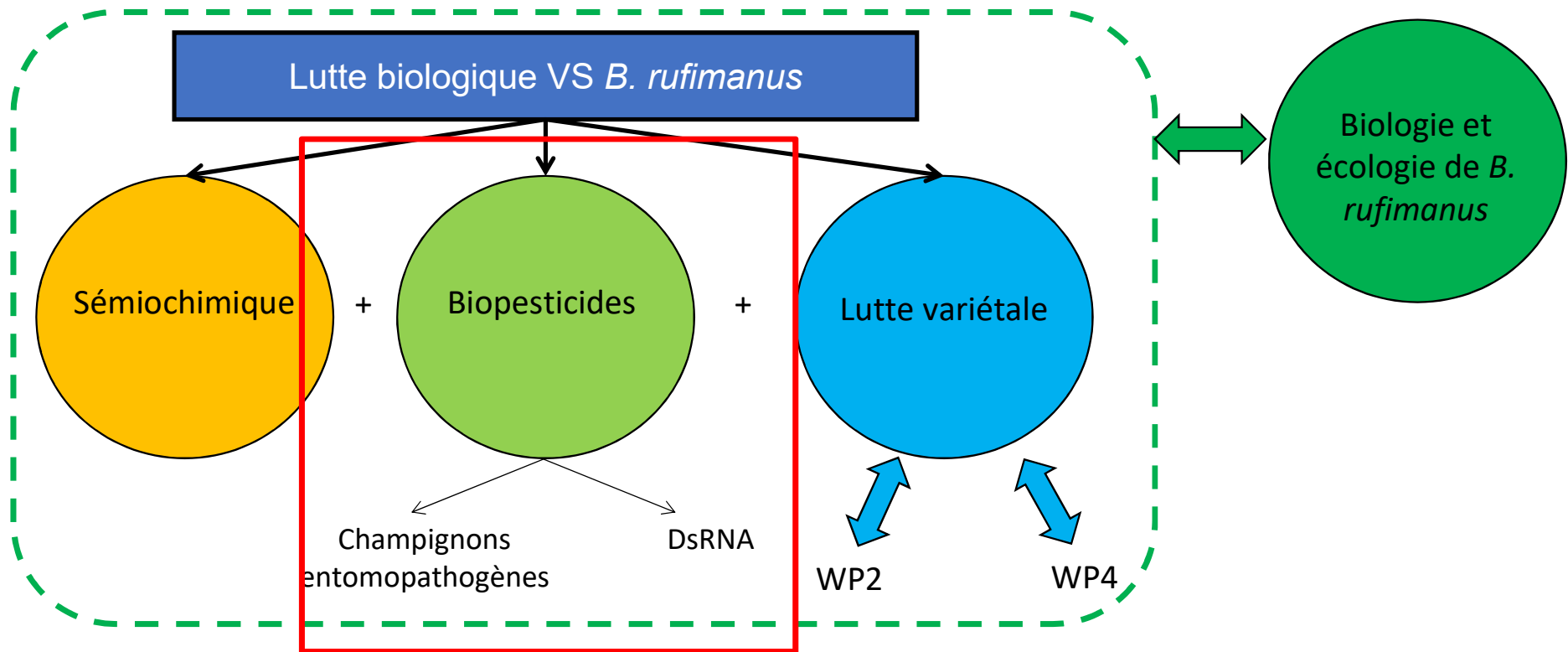
Modalité de piégeage	Richesse spécifique	Chao1 index $\pm$ SE	Estimation des espèces manquées (%)
All the experiment	67	114.88 $\pm$ 28.50	41.68
PBAGDF	45	74.89 $\pm$ 17.44	39.91
PBAGDG	34	52.03 $\pm$ 12.07	34.66
PBIPSF	37	68.62 $\pm$ 23.06	46.08
PVAGDF	16	28.02 $\pm$ 12.92	42.90
PVAGDG	18	47.65 $\pm$ 28.08	62.22
PVIPSF	24	38.88 $\pm$ 12.28	38.28

### Conclusions:

- Forte compétition de la floraison sur l'attractivité des pièges
- Pièges blancs >>> pièges verts et leurres IPS les plus efficaces
- Fort impact sur les communautés d'auxiliaires par les pièges sémiochimiques

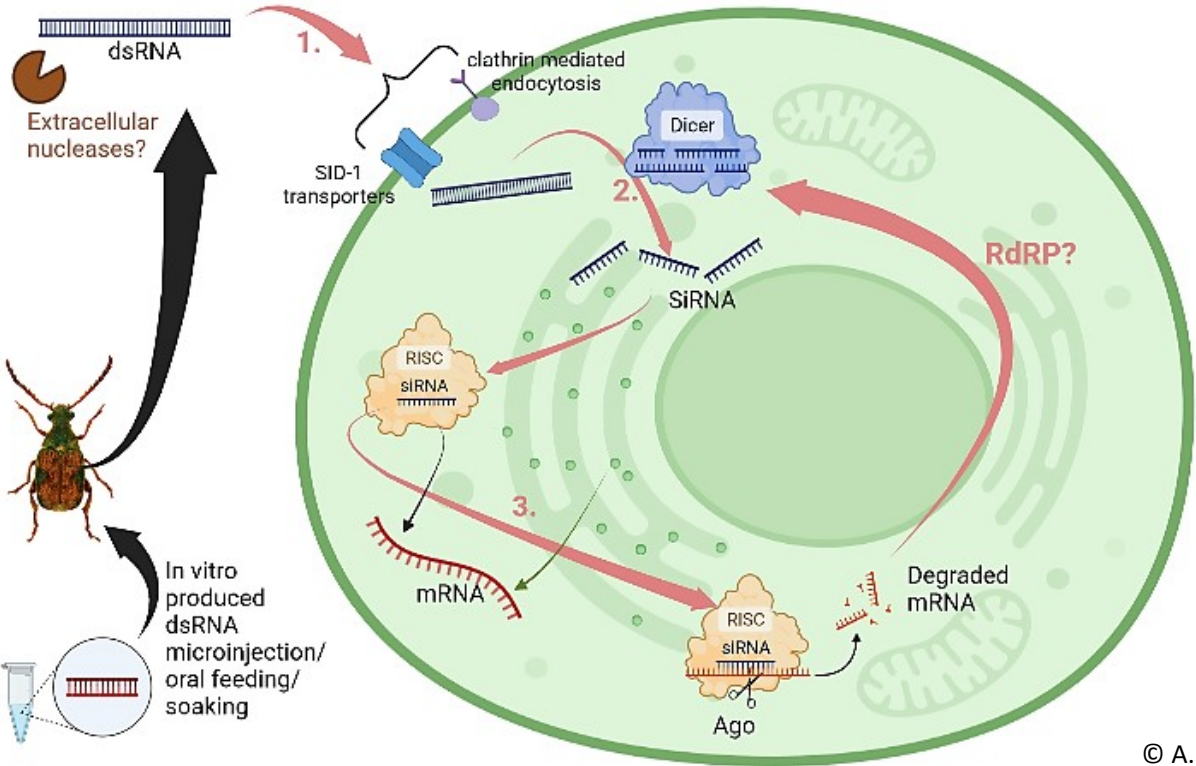


## Projet FEVERPRO WP1 & WP2





Lutte contre les bruches via ARN doubles brins



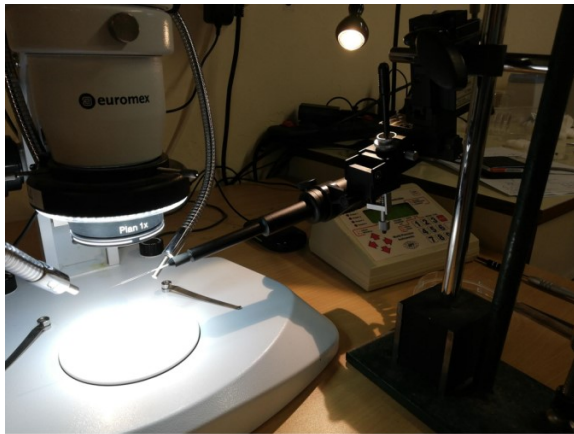
=> Haute spécificité !!

© A. Segers 2022



## Lutte contre les bruches via ARN doubles brins

Est-il possible de mettre sous silence l'expression du gène de la *laccase 1* chez *C. maculatus* par interférence ARN suite à l'administration d'ARN doubles brins (dsRNA) ?



- Synthétiser dsRNA *in vitro*
- Micro-injection dsRNA



### 3 traitements

- Contrôle (sérum physiologique)
- dsRNA *GFP* (400 ng/insecte)
- dsRNA *laccase 1* (400 ng/insecte)



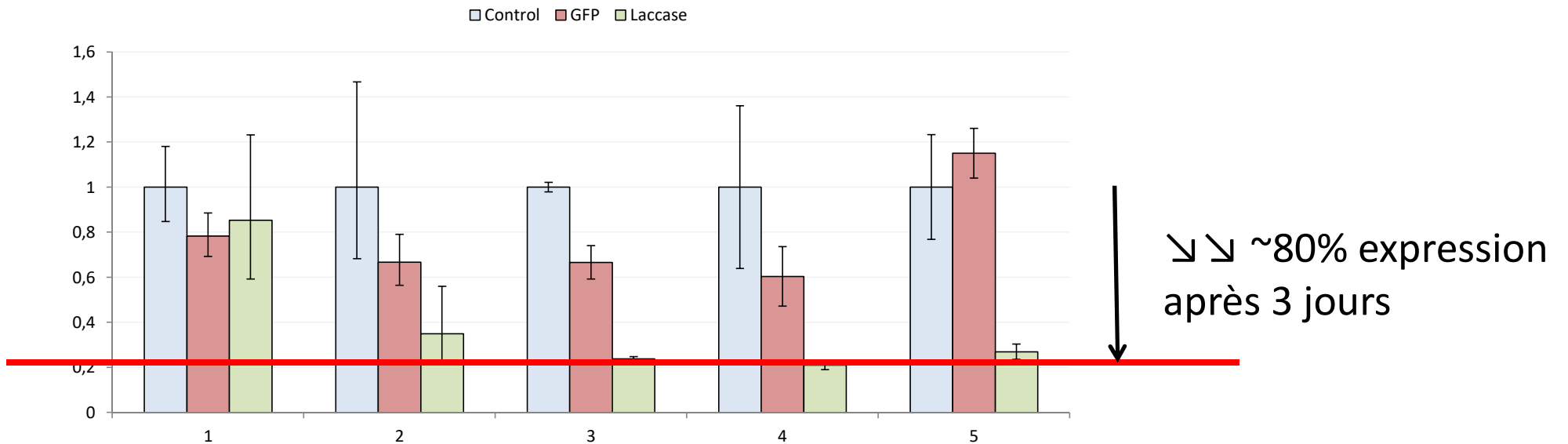
Analyse de l'expression des gènes  
par RT-qPCR



## Lutte contre les bruches via ARN doubles brins

Est-il possible de mettre sous silence l'expression du gène de la *laccase 1* chez *C. maculatus* par interférence ARN suite à l'administration d'ARN doubles brins (dsRNA) ?

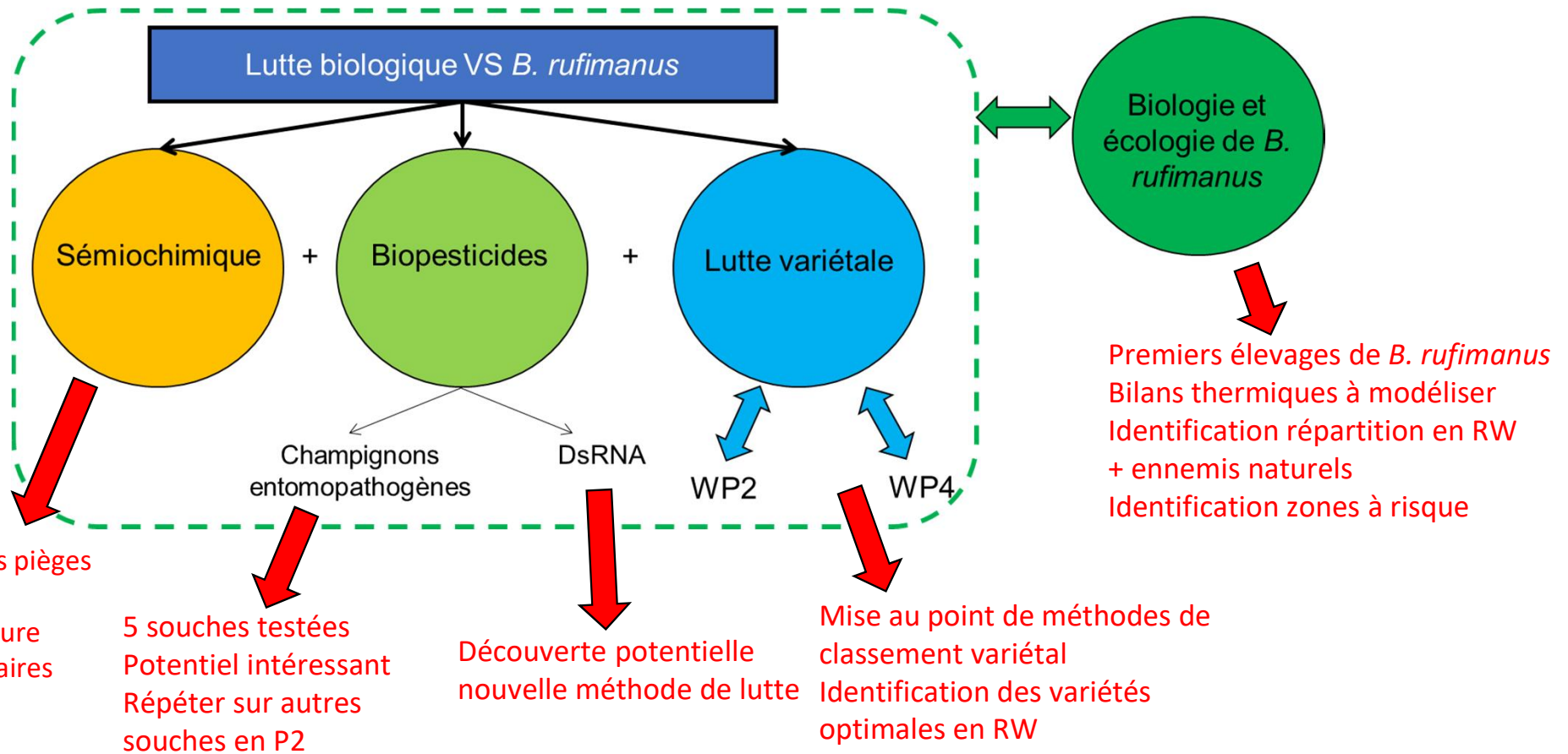
### Résultats:





## « Take home message » des activités prestées durant la première triennale

Approche multidisciplinaire et innovante dans l'évaluation de plusieurs leviers de lutte



## Plan de travail phase 2 (WP1, WP2):

- Objectif général = combinaison\* de chaque levier au sein de méthode de lutte efficace  
⇒ Poursuite des recherches (souches champignons entomopathogènes + ODP + dsRNA)  
⇒ Essai en champs sur les deux dernières années

Quatre principales activités:

<b>1</b>	<b>Poursuite de la caractérisation à l'échelle de laboratoire de nouveaux agents microbiens de biocontrôle sur la bruche de la fève et des auxiliaires de culture</b>
	1.1 Caractérisation des agents entomopathogènes 1.2 Test sur auxiliaires ( <i>Adalia sp.</i> et <i>Episyrphus sp.</i> ) 1.3 Co-formulation avec les sémiachimiques
<b>2</b>	<b>Production et caractérisation à l'échelle de laboratoire de l'effet des ARN doubles brins (DsRNA) sur la survie de la bruche de la fève et des auxiliaires de cultures</b>
	2.1 Production et test des dsRNA sur la bruche de la fève 2.2 Test sur auxiliaires ( <i>Adalia sp.</i> et <i>Episyrphus sp.</i> ) 2.3 Co-formulation avec les sémiachimiques
<b>3</b>	<b>Caractérisation à l'échelle de laboratoire de composés non volatils accompagnant les pontes sur le comportement de ponte des femelles</b>
	3.1 Pontes sur surfaces inertes en élevages 3.2 Extractions liquides-analyses GC-MS 3.3 Bioessais en élevages pour caractériser ODP
<b>4</b>	<b>Evaluation en champs des stratégies "attract and infect", "attract and kill" ou "push pull"</b>
	4.1 Mise en place des dispositifs expérimentaux 4.2 Suivi des dynamiques d'infestations 4.3 Analyses des dégâts sur récoltes

+ mesures adaptées à la bioécologie  
+ variétés optimales

Merci de votre attention !



Contact: [arnaud.segers@uliege.be](mailto:arnaud.segers@uliege.be)