

**FACTEURS D'OPÉRATIONNALITÉ DES NÉMATODES ENTOMOPATHOGÈNES
POUR LE BIOCONTROLE D'INSECTES RAVAGEURS DE CULTURE**

***Operational factors in the use of entomopathogenic nematodes for biocontrol of crop
pests***

Thèse de **Elisabeth DEPUYDT** ¹

Analysée par Marc **BARDIN** ²

Directrice de thèse : Sophie **GAUDRIault**, DR, INRAE, UMR Diversité, Génomes et interactions Microorganismes-Insectes (DGIMI)

Co-encadrant de thèse : Jean-Claude **OGIER**, IR, INRAE, UMR Diversité, Génomes et interactions Microorganismes-Insectes (DGIMI)

Co-encadrant de thèse : Eric **NGUEMA-ONA**, CR, Centre Mondial de l'Innovation (CMI) Saint-Malo

Objectif

La prise de conscience des effets néfastes des produits phytosanitaires chimiques, utilisés en agriculture, sur la santé humaine, animale et environnementale a conduit à une réduction de leur usage et à la mise en place de nouvelles stratégies de lutte contre les bioagresseurs. Parmi ces stratégies, la protection biologique repose sur l'utilisation d'organismes vivants pour réguler ces ravageurs. Les nématodes entomopathogènes sont capables d'éliminer un grand nombre d'insectes en moins de 120 heures. Ils sont utilisés en lutte biologique par augmentation et/ou acclimatation, consistant à introduire en abondance ces organismes bénéfiques dans l'environnement. Cependant, le coût élevé de la méthode et son efficacité variable limitent leur emploi en pratique, notamment sur des grandes cultures comme le maïs ou le blé. Par ailleurs, divers facteurs influencent leur présence et leur diversité dans les sols, tels que la texture du sol, le pH, la présence de champignons nématophages ou encore la compétition avec d'autres nématodes. Étonnamment, peu d'études ont exploré les effets des pratiques agricoles sur la présence, la diversité et la persistance des nématodes entomopathogènes dans les sols cultivés. Un des enjeux actuels est de favoriser la présence de ces ennemis naturels en s'appuyant sur des pratiques agricoles dans le cadre d'une lutte biologique par conservation. La thèse s'inscrit dans cette perspective et poursuit trois objectifs majeurs :

1. Développer une méthodologie innovante pour améliorer la détection des nématodes entomopathogènes et mieux caractériser leur présence dans les sols agricoles.

¹ Thèse préparée au sein de l'École doctorale GAIA : Biologie des Interactions - Mécanismes des Interactions parasitaires pathogènes et symbiotiques, Unité de recherche, Diversité, Génomes et interactions Microorganismes-Insectes (UMR 1333-DGIMI), Université de Montpellier, dans le cadre d'une bourse CIFRE, gérée et subventionnée par l'Association Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT), présentée et soutenue le 18 octobre 2024.

² Membre correspondant de l'Académie d'agriculture de France, section 6 « Sciences de la vie ».

2. Identifier les facteurs influençant leur présence et leur répartition.
3. Déterminer l'impact de la phylogénie et/ou du microbiote sur la réussite du cycle parasitaire des nématodes entomopathogènes.

Démarche

Après une revue bibliographique approfondie sur les défis de la protection des cultures, incluant la lutte biologique, ainsi que sur les principes fondamentaux de l'écologie du sol et les propriétés des nématodes entomopathogènes et leur utilisation dans une approche agroécologique, Élisabeth Depuydt a mené un travail expérimental répondant à ses trois objectifs scientifiques majeurs.

Pour ce faire, elle a développé une approche pluridisciplinaire combinant des approches et concepts de microbiologie, biologie moléculaire, écologie des interactions et statistiques.

Ses recherches se sont appuyées sur des prélèvements effectués dans 43 parcelles de maïs situées dans la région de Pau et d'Orthez. Les échantillons de sol ainsi collectés ont fait l'objet d'analyses approfondies, associées à trois méthodes complémentaires visant à isoler et caractériser les nématodes entomopathogènes : la technique des cycles successifs de piégeage, l'identification morphologique et l'approche moléculaire, cette dernière reposant sur deux technologies distinctes, la qPCR et la ddPCR.

Principaux résultats

Les principaux résultats suggèrent que :

- La combinaison de plusieurs méthodes de détection des nématodes entomopathogènes s'avère essentielle pour limiter les biais d'interprétation des résultats. En associant ces différentes approches, le taux de détection des nématodes entomopathogènes a atteint 50 % des parcelles de maïs étudiées, contre un maximum de 35 % avec une seule méthode. Un second apport majeur de cette étude réside dans l'utilisation de la ddPCR, qui améliore significativement le taux de détection des nématodes entomopathogènes par rapport à la qPCR. Ce premier chapitre aboutit ainsi à la proposition d'une nouvelle approche combinant le piégeage par cycles successifs et la ddPCR, offrant à la communauté scientifique un outil plus performant pour la détection des nématodes entomopathogènes dans des échantillons de sol.
- Différents facteurs abiotiques et biotiques peuvent influencer la présence des nématodes entomopathogènes dans les sols cultivés en maïs. En s'appuyant sur une approche analytique facteur par facteur, les résultats ont mis en évidence des corrélations entre la présence de nématodes entomopathogènes du genre *Steinernema* sp. et plusieurs propriétés physico-chimiques du sol, notamment la matière sèche, l'humidité, le pH, ainsi que la teneur en limon grossier, MgO, P₂O₅, CaO et Na₂O. La modélisation multifactorielle prédictive a confirmé ces influences et révélé un effet synergique lorsqu'un couvert végétal diversifié est présent. Par ailleurs, les analyses ont montré qu'un nombre élevé de rotations culturales, en particulier dans des conditions de diversité moyenne de la couverture du sol, a un impact négatif sur la présence de *Steinernema* sp. Une meilleure compréhension de ces facteurs pourrait conduire au développement d'outils d'aide à la décision, permettant aux agriculteurs

d'adapter leurs pratiques culturales afin de favoriser la présence des nématodes entomopathogènes dans les sols. Enfin, ce chapitre a permis une réflexion critique sur le dispositif expérimental nécessaire pour réaliser ce type d'étude.

- Une absence de lien statistique entre la diversité du microbiote des nématodes entomopathogènes et leur cycle parasitaire sur l'insecte ravageur du maïs *Spodoptera littoralis*. Cette étude a également mis en évidence l'influence de l'insecte ravageur hôte (*S. littoralis* et *Diabrotica virgifera virgifera*) sur le succès du cycle parasitaire des nématodes entomopathogènes, ainsi qu'une relation entre la phylogénie des nématodes entomopathogènes et leur pathogénicité. Bien que ce travail soit moins abouti que les précédents, il a permis de développer un pathotest sur la Chrysomèle du maïs (*D. virgifera virgifera*), ouvrant ainsi de nouvelles perspectives d'étude.

Les travaux de cette thèse ont abouti à la rédaction d'un article accepté dans une revue scientifique à comité de lecture :

- Depuydt, E., Ogier, J.-C., Nusrat, A., Villenave, C., Jimenez, A., Mahieu, P., Vouadec, B., Nguema-Ona, É., Gaudriault, S., 2024. Combining multiple baiting cycles with digital droplet PCR optimizes description of the distribution of entomopathogenic nematodes in French maize fields. *Soil Biology and Biochemistry*, 189, 109275. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2023.109275>

Commentaires généraux

Le manuscrit de thèse, rédigé en français et en anglais, est structuré de manière claire et rigoureuse. Il se compose de cinq parties : une introduction bibliographique, trois chapitres de résultats (les deux premiers sous forme de manuscrits scientifiques) et une discussion générale. Les illustrations, pertinentes et de bonne qualité, appuient efficacement l'analyse. Cette étude aborde des questions fondamentales et appliquées concernant l'évolution et la gestion des populations de nématodes entomopathogènes et de leur microbiote dans les sols agricoles, et constitue donc une contribution originale et significative à l'avancement des connaissances sur l'écologie des nématodes entomopathogènes en contexte agricole.

Il ouvre ainsi de nouvelles perspectives pour la lutte biologique par conservation, en proposant des améliorations méthodologiques pour la détection des nématodes entomopathogènes et une meilleure compréhension des facteurs favorisant leur présence dans les sols. L'utilisation d'une diversité d'approches expérimentales solides et adaptées constitue un atout majeur de ce travail de recherche. L'analyse des données est rigoureuse et leur présentation très soignée. La discussion et l'interprétation des résultats sont bien menées, avec une réflexion sur les avantages et les limites des approches utilisées, apportant une réelle valeur ajoutée à l'étude.

Les résultats novateurs de cette thèse apportent un éclairage inédit sur des questions jusqu'ici peu explorées ou abordées principalement de manière empirique. Ils entrent pleinement dans le champ d'intérêt de l'Académie d'agriculture de France et justifient que cette analyse figure sur le site de l'Académie et dans le Mensuel, à titre de valorisation de ces travaux.