

Mémoire de stage
Présenté pour l'obtention du diplôme d'ingénieur agronome, option Inter-Etablissement
Protection des Plantes et Environnement

Sur le thème

**Etude du comportement de *Dysaphis plantaginea*,
le puceron cendré du pommier, en présence de
plantes aromatiques.**

Par

Emma DIEUDONNÉ

Ecole de rattachement : Montpellier SupAgro

Stage réalisé à : l'UMR PSH INRA PACA
Pôle Protection Horticole Intégrée (PHI)
228, route de l'aérodrome Domaine St Paul Site Agroparc,
84140 Avignon, France

Sous la direction de :
Laurent GOMEZ
Hélène GAUTIER

Soutenu le 26 septembre 2018 à Montpellier, devant le jury composé de :

Président : Serge KREITER
Membres : Elena KAZAKOU
Manuel PLANTEGENEST
Alain RODRIGUEZ

Table des matières

Introduction.....	4
Synthèse bibliographique.....	6
1. Le puceron cendré.....	6
1.1. Dégâts et importance économique.....	6
1.2. Morphologie et cycle biologique.....	7
1.3. Processus de sélection d'une plante hôte.....	8
1.1. Les moyens de lutte alternatifs contre <i>D. plantaginea</i>	9
- Le choix variétal.....	10
- La conduite de l'arbre.....	10
- La lutte contre les fourmis.....	10
- La régulation naturelle.....	10
- L'introduction de plantes de service.....	11
2. Les modes d'action des PdS dans la régulation des pucerons via les COV.....	11
2.1. Les Composés Organiques Volatiles.....	11
- Définition.....	11
- Fonctions biologiques.....	12
2.2. Le masquage de l'odeur de la plante hôte.....	12
2.3. La fuite des pucerons (action directe).....	13
2.4. La modification de l'hôte (action indirecte).....	14
2.5. Variations de l'émission des COV.....	14
3. Présentation du travail de stage.....	15
Matériels et méthodes.....	16
1. Les plantes.....	16
1.1. Choix des plantes.....	16
1.2. Production des plantes.....	16
2. Élevage des pucerons.....	17
3. Tests de répulsion.....	18
3.1. Dispositif d'olfactométrie.....	18
3.2. Déroulement de l'expérimentation.....	19
3.3. Analyses statistiques.....	21
4. Détermination de l'émission de COV par les plantes.....	22
4.1. Prélèvements.....	22
4.2. Analyse des COV par GC-MS (Gas Chromatography – Mass Spectrometry).....	22
4.3. Lecture des chromatogrammes.....	23
5. Tests de fécondité.....	24

5.1.	Description de l'expérimentation.....	24
5.2.	Analyses statistiques	25
	Résultats.....	26
1.	Tests de répulsion.....	26
1.1.	Effet des plantes aromatiques sur le puceron cendré	26
1.2.	Effet variétal du romarin	26
1.3.	Effet dose.....	27
2.	Analyse des COV.....	28
2.1.	COV émis par différentes plantes aromatiques	28
2.2.	COV émis par différentes variétés de romarin.....	33
2.3.	Quantification d'un composé chez le romarin	36
3.	Tests de fécondité	36
	Discussion	39
1.	Mises au point expérimentales	39
1.1.	Validation des protocoles.....	39
1.2.	Validation du dispositif d'olfactométrie.....	40
2.	Identification de PdS répulsives pour <i>D. plantaginea</i>	40
3.	Identification de PdS ayant un effet sur la fécondité de <i>D. plantaginea</i>	42
	Conclusion et perspectives.....	43
	Références bibliographiques	45
	Sitographie	53
	Annexe.....	I
	Contribution à une étude expérimentale en verger de pommiers	I
1.	Mise en place du verger expérimental.....	I
2.	Étude de faisabilité d'un test de fécondité au verger	I
2.1.	Conception et installation des clip-cages	I
2.2.	Protocole de suivi de la fécondité	II
2.3.	Conclusions.....	II
3.	Étude de faisabilité d'un test de prédation au verger.....	III
3.1.	Matériels et méthodes	III
3.2.	Résultats et conclusions	IV

Introduction

Les pucerons font partie des ravageurs causant le plus de dégâts au monde (Blommers et al. 2004 ; Dixon 1977). Ils sont présents sur grand nombre de cultures, et leurs caractéristiques biologiques en font des ravageurs très nuisibles. En effet, leur capacité reproductive très importante et leur capacité élevée de dispersion leur permet d'infester une culture très rapidement (Blackman and Eastop 2000). D'autre part, ils sont les principaux vecteurs de virus végétaux (Van Emden et al., 1969) et les dégâts qu'ils causent peuvent être très importants. Cela entraîne une forte diminution de la production, et rend les cultures impropres à la commercialisation, ce qui cause de fortes pertes économiques chez les producteurs.

Pour contrer ce ravageur, la lutte chimique à base d'aphicides est principalement utilisée, et de manière systématique. Cependant, l'utilisation massive des intrants de synthèse a un fort impact négatif sur l'environnement. Elle participe à la dégradation de la qualité des eaux et des sols, à la baisse de la biodiversité et à l'émission de gaz à effets de serre (Calvet, 2005). D'autre part, l'utilisation excessive de ces produits augmente le risque de sélection d'individus résistants, ce qui diminue l'efficacité des traitements (Foster 2002). En parallèle, de plus en plus d'études se penchent sur l'effet négatif des pesticides sur la santé humaine (Inserm 2013). Tout ceci contribue à l'évolution des attentes et des enjeux agricoles.

Dans ce contexte, des méthodes de lutte alternatives se développent. Ces initiatives sont soutenues par le plan Ecophyto 2 et par la stratégie Europe 2020, qui visent à réduire l'utilisation des produits phytosanitaires et à orienter la PAC vers l'écologie et la protection de l'environnement (Ecophyto ; Communication PAC). Parmi ces méthodes, on peut citer la lutte biologique, l'emploi de variétés résistantes, les associations de cultures ou encore le changement des pratiques culturales. Ainsi, l'introduction de plantes compagnes ou « de service » (PdS) apparaît comme une alternative prometteuse pour réguler les populations de ravageurs au sein des systèmes de culture (Cunningham 1998 ; Shrivastava et al. 2010 ; Parker et al. 2013).

En effet, il est connu que les insectes exploitent les informations olfactives de leur environnement pour effectuer les processus de reconnaissance et de sélection de leur hôte (Thorsteinson 1960). Certaines plantes, notamment aromatiques, par l'émission de composés organiques volatils (COV), peuvent perturber ces processus et ainsi participer à la diminution des populations de ravageurs.

Plusieurs études montrent l'efficacité de composés volatils, d'extraits de plantes ou d'huiles essentielles (Hori 1998 ; Tomova et al. 2005), mais le mode d'action des volatils issus de la plante vivante reste peu étudié et mal connu (Finch & Collier 2012). Il est en effet difficile d'identifier les mécanismes sous-jacents, les relations plantes-insectes étant influencées par un ensemble complexe d'interactions environnementales.

Ainsi, l'étude de l'écologie et du comportement de l'insecte en présence de ces plantes pourrait nous permettre de mieux comprendre ces interactions et d'identifier des mécanismes à leur origine. Il est donc essentiel d'identifier des plantes d'intérêt, d'évaluer et d'étudier leur effet sur le comportement des pucerons, afin d'en promouvoir à terme leur utilisation dans des systèmes de culture. L'unité de recherche Plantes et Systèmes de culture Horticoles (PSH) de l'INRA d'Avignon s'intéresse depuis plusieurs années à ces leviers, dans le but d'améliorer la qualité des fruits en diminuant la pression des bio-agresseurs sur les cultures horticoles.

Précédemment, des études ont été menées sur le patho-système poivron-puceron vert (*Myzus persicae*), en laboratoire et sous tunnel. Ces recherches ont permis d'identifier des plantes d'intérêt dans la lutte contre ce puceron. À présent, l'unité élargit ses recherches à *Dysaphis plantaginea*, le puceron cendré du pommier, un des ravageurs les plus nuisibles de cette culture.

C'est dans ce contexte que nous nous intéressons aux COV dégagés par certaines plantes aromatiques, et à leur effet sur le comportement de ce puceron. La compréhension du mode d'action de ces PdS, notamment par l'identification des COV impliqués, peut nous offrir des leviers pour optimiser leur efficacité et favoriser à terme la conception des systèmes de cultures bas intrants. Dans cette démarche, l'expérimentation en conditions contrôlées, permet de nous affranchir de perturbations environnementales et d'apprécier au mieux le rôle des médiateurs chimiques que sont ces COV.

Ainsi, nous demandons si **la présence de plantes de service peut diminuer le développement de *Dysaphis plantaginea* sur le pommier via l'émission de composés organiques volatiles.** Les résultats obtenus lors de tests en laboratoire, en comparaison à ceux obtenus avec *Myzus persicae*, doivent nous permettre d'apprécier la généricité des effets de ces PdS.

Synthèse bibliographique

1. Le puceron cendré

1.1. Dégâts et importance économique

Dysaphis plantaginea (Passerini 1860) (Hemiptera : Aphididae), aussi appelé puceron cendré du pommier, est l'un des ravageurs les plus nuisibles du pommier, en Europe comme en Amérique du Nord (Blommers et al. 2004). Grâce à son rostre et ses stylets perforants, il peut transpercer les tissus végétaux pour prélever la sève élaborée dans le phloème. Ses piqûres provoquent l'enroulement des feuilles et leur dépigmentation, la déformation des rameaux et des fruits qui restent petits et bosselés. De plus, sur les jeunes pousses, il empêche la formation des couronnes, ce qui provoque une réduction du nombre de fleurs au printemps suivant (Lathrop 1928 ; Bonnemaïson 1959 ; Forrest & Dixon 1975 ; Forrest 1987). Les dégâts causés posent particulièrement problème lorsque le verger est jeune, et aboutissent à une diminution de la production non seulement l'année où les symptômes apparaissent, mais aussi les années suivantes (Bonnemaïson 1959 ; Cruz De Boelpaepe et al. 1987 ; Blommers et al. 2004).

D'autre part, le miellat produit par les pucerons sur les feuilles peut entraîner l'obstruction des stomates ainsi que la dessiccation des feuilles. Il favorise l'apparition de champignons saprophytes, à l'origine de fumagine sur le pommier, ce qui rend les fruits difficilement commercialisables (Angeli & Simoni 2006 ; Sauvion 2013).

De plus, en termes d'apparition dans les vergers, le puceron cendré est précoce par rapport aux autres espèces de pucerons. Son seuil de développement est de 4.5°C, contre 5.5°C pour le puceron vert migrant du pommier, *Rhopalosiphum insertum*, et 5.9°C pour le puceron vert non migrant du pommier, *Aphis pomi* (Miñarro & Dapena 2007). Les pucerons apparaissent donc très tôt au printemps, généralement en même temps que le débourrement des bourgeons. L'apparition des auxiliaires du puceron étant globalement plus tardif, les populations de pucerons se multiplient très rapidement (Dixon 1977 ; Lombaert et al. 2006). Ces caractéristiques en font un ravageur très nuisible. Certaines études ont essayé de chiffrer les pertes liées aux dégâts produits par *D. plantaginea* et estiment qu'en absence de mesure de protection, ils peuvent atteindre 30 à 80% en vergers commerciaux (De Berardinis et al. 1994 ; Qubbaj et al. 2005 ; Brown 2008).



Figure 3 : (A) une colonie de pucerons cendrés sur feuilles de pommier ; (B) enroulement des feuilles provoqué par une colonie (verger de l'INRA d'Avignon, E. Dieudonné).

1.2. Morphologie et cycle biologique

Le puceron cendré adulte mesure entre 1.8 et 2.5 mm. L'adulte aptère est globuleux, vert olive foncé ou rose vineux, recouvert d'une pubescence blanchâtre. L'adulte ailé est vert foncé, et présente une plaque sombre perforée à l'extrémité, des antennes longues et sombres, des cornicules marron foncé, longues, et une cauda courte et triangulaire (Encyclop'Aphid ; Ephytia hypp). Le puceron passe par quatre stades larvaires qui durent entre 8 et 10 jours.

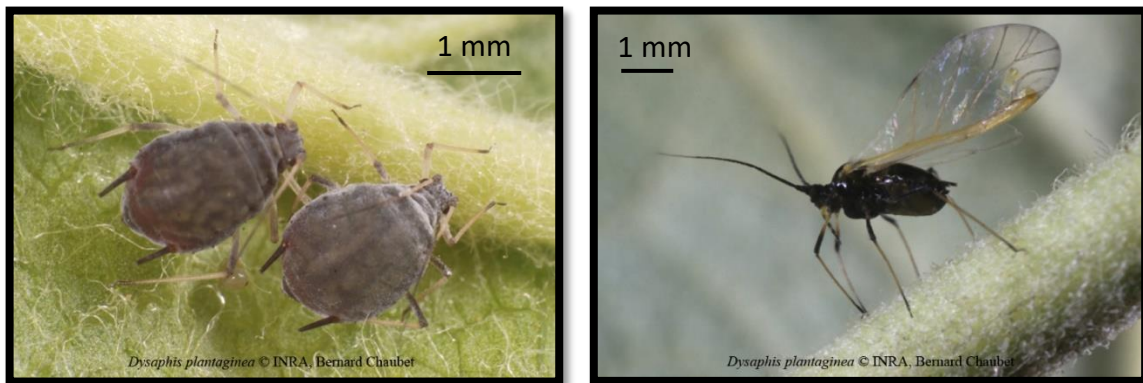


Figure 1 : *Dysaphis plantaginea* (Passerini, 1860) sous sa forme aptère à gauche et ailée à droite.

D. plantaginea est exclusivement phytophage et possède un appareil buccal de type piqueur-suceur. Il est polyphage, c'est-à-dire qu'il se nourrit sur des végétaux de familles différentes. Comme pour la plupart des polyphages, c'est une espèce holocyclique, c'est-à-dire qu'elle effectue un cycle biologique complet avec deux types de reproduction : la reproduction sexuée et la reproduction asexuée ou parthénogenèse. Le puceron cendré a donc un cycle annuel complet se déroulant sur deux hôtes non apparentés d'un point de vue botanique (un hôte primaire et un hôte secondaire) : c'est une espèce diœcique (Encyclop'Aphid). *D. plantaginea* effectue une reproduction sexuée sur son hôte primaire, le pommier *Malus domestica* Borkh. (Rosaceae), et une reproduction parthénogénétique sur son hôte secondaire, le plantain *Plantago spp* (Lamiales : Plantaginaceae) (Baker & Turner 1916 ; Lathrop 1928 ; Bonnemaïson 1959). La parthénogenèse lui permet de se reproduire rapidement et de croître de manière exponentielle.

En automne, les mâles et les femelles sexués s'accouplent sur leur hôte primaire, le pommier. Les femelles fécondées pondent des œufs, qui vont passer l'hiver en diapause. Au printemps, les œufs donnent naissance à des fondatrices, qui se reproduisent par parthénogénèse et donnent naissance à des fondatrices ailées (Lombaert et al. 2006). Au début de l'été, la forte densité de population et l'évolution phénologique du pommier entraînent l'apparition de fondatrices ailées, qui migrent vers leur hôte secondaire, le plantain : c'est le vol d'émigration. Le puceron cendré se reproduit alors par parthénogénèse jusqu'au début de l'automne, moment où la photopériode diminue. Ce changement entraîne l'apparition de gynopares ailées, femelles parthénogénétiques spécialisées dans la production de femelles à

reproduction sexuée, les ovipares. Ces femelles ainsi que les mâles ailés migrent vers le pommier, où ils se reproduisent : c'est le vol de retour.

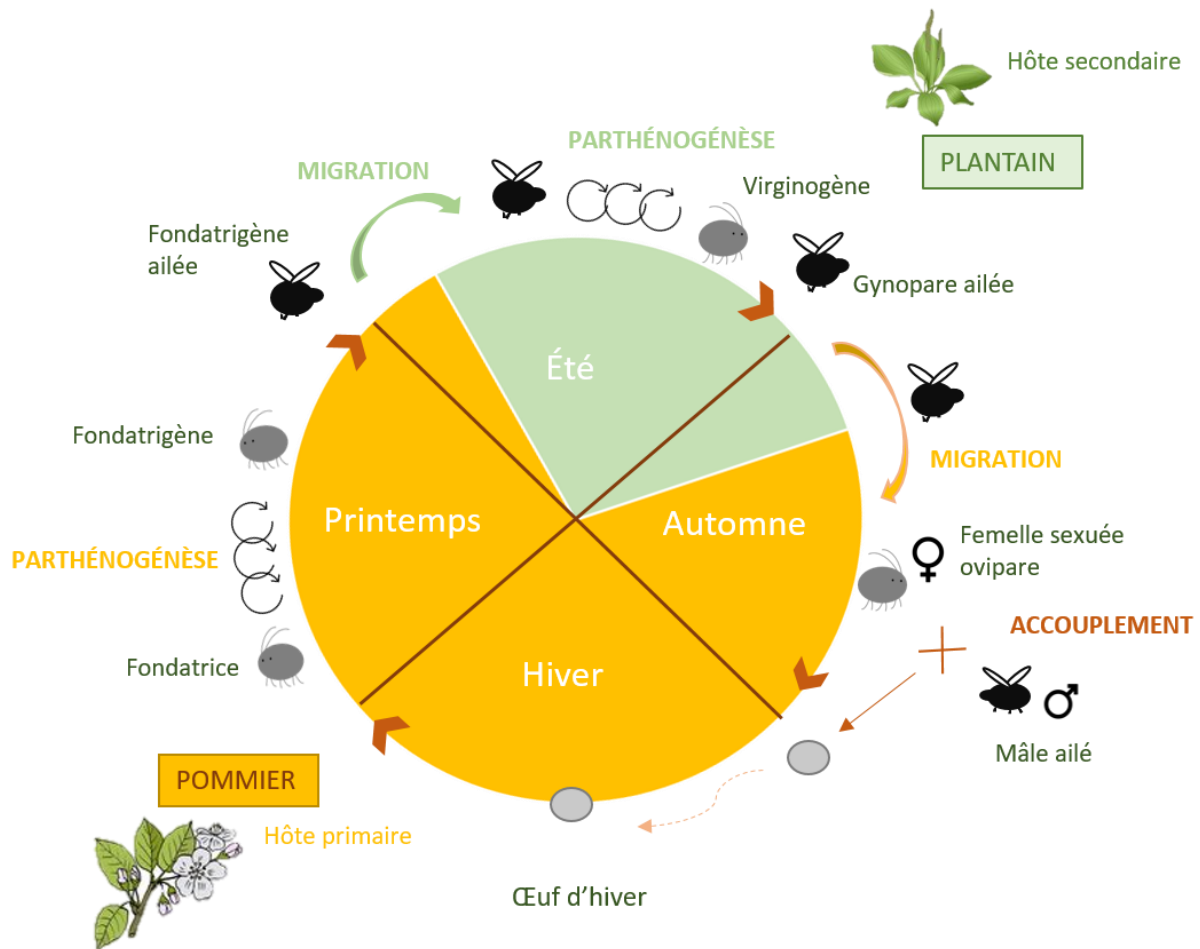


Figure 2 : Cycle annuel de vie de *Dysaphis plantaginea* (décrit par Dixon 1977).

1.3. Processus de sélection d'une plante hôte

La sélection d'une plante hôte chez les insectes phytophages, et donc chez les pucerons, comporte plusieurs étapes allant de la localisation d'un habitat (échelle du paysage) à la sélection d'un site de ponte (échelle de la plante) (voir figure 5). C'est un processus qui implique une grande variété de stimuli : visuels, olfactifs, tactiles et gustatifs (Thorsteinson 1960). La première phase inclut la recherche et la localisation de l'hôte, et se fait généralement à distance de la plante hôte. Lors de cette phase, les signaux olfactifs et visuels ont *a priori* un rôle majeur (Campbell et al. 1990 ; Dixon 1998 ; Bruce et al. 2005). La deuxième phase, incluant la reconnaissance et l'acceptation de l'hôte, se fait par contact avec la plante. L'insecte va d'abord analyser les propriétés physico-chimiques de surface, puis va insérer ses stylets dans les tissus végétaux pour en tester la qualité (Powell et al. 2006). À chaque étape, ces stimuli, positifs ou négatifs, interagissent avec des facteurs internes et externes à l'insecte, et la proportion de ces éléments va conduire l'insecte vers le rejet ou l'acceptation de la plante hôte.

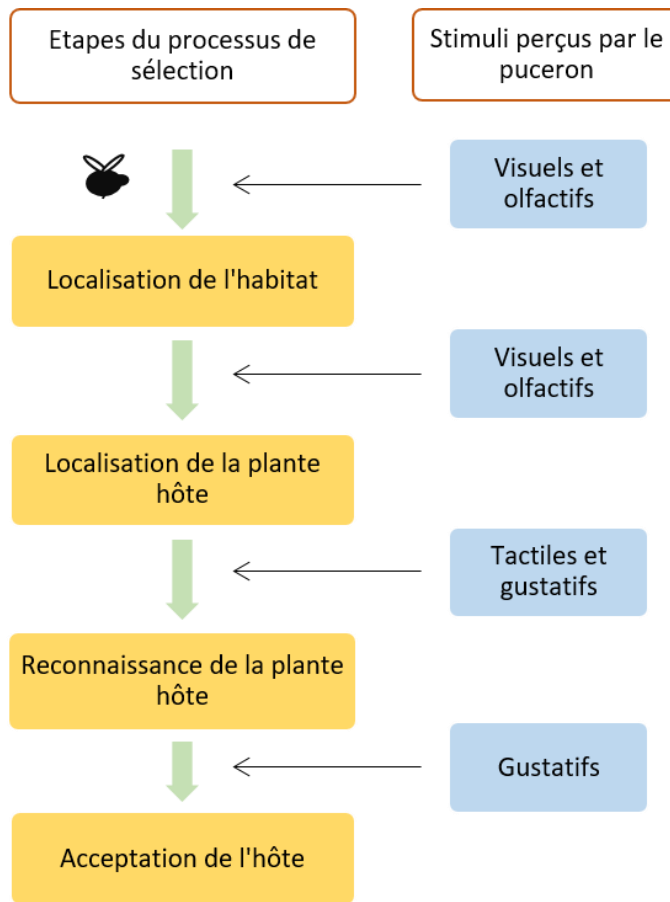


Figure 5 : Les étapes du processus de sélection de la plante hôte chez les pucerons.

1.1. Les moyens de lutte alternatifs contre *D. plantaginea*

La connaissance du cycle de vie de *D. plantaginea* nous donne des clefs pour lutter contre ce ravageur : la lutte doit s'effectuer principalement au début du printemps, lors de l'éclosion des œufs, ou lors du vol de retour, à l'automne. De plus, une meilleure compréhension du processus de sélection de la plante hôte peut nous aider à identifier des méthodes de lutte alternatives efficaces. À ce jour, les insecticides restent le premier moyen de lutte contre le puceron cendré. En France, les arboriculteurs disposent de plusieurs matières actives autorisées en verger conventionnel (Ephy-ANSES). Le NeemAzal, substance autorisée en agriculture biologique, a récemment été retirée du marché, mais des produits à faible impact sur l'environnement sont à l'étude, comme les huiles blanches ou l'argile kaolinite (Wyss 2004). L'expérimentation doit faire la preuve de l'efficacité des méthodes alternatives pour convaincre la profession de diminuer le recours aux pesticides. Ainsi, les producteurs disposent déjà de plusieurs moyens pour agir en ce sens.

- *Le choix variétal*

Plusieurs variétés de pommiers sont qualifiées de résistantes au puceron cendré, mais sont peu commercialisées car peu connues du consommateur. Miñarro & Dapena (2007) ont montré que les populations de puceron cendré étaient significativement moins importantes sur les variétés à floraison tardive.

- *La conduite de l'arbre*

Au niveau de la conduite de l'arbre, il est souhaitable d'éviter un excès de fertilisation ou des tailles sévères qui peuvent provoquer une augmentation du taux d'azote dans la sève et indirectement favoriser le développement du puceron (Brown 2008 ; Grechi et al 2008 ; Rousselin 2017).

- *La lutte contre les fourmis*

Un moyen de lutte contre le puceron cendré consiste à réduire les populations de fourmis dans le verger, qui protègent le puceron en échange de son miellat, et favorisent ainsi son développement (Dib 2010). Ainsi, des solutions consistant à poser des bandes engluées sur le tronc des pommiers ou à offrir aux fourmis une nourriture alternative au miellat ont été proposées.

- *La régulation naturelle*

Plusieurs études ont cherché à caractériser le rôle des ennemis naturels de *D. plantaginea* dans sa régulation naturelle. En Europe, la majorité de ses ennemis naturels sont des prédateurs (syrphes, coccinelles, forficules, araignées, cécydomies, punaises prédatrices) (figure 4), et des parasitoïdes tels que *Ephedrus* sp (Hymenoptera : Braconidae) (Miñarro et al. 2005 ; Dib et al. 2010 ; Albert 2017). L'implantation d'infrastructures agroécologiques peut permettre l'amélioration de la lutte biologique par conservation via l'augmentation de la biodiversité végétale (Mathews et al. 2004 ; Pollier 2016 ; Albert 2017), mais il est aussi possible d'améliorer la régulation naturelle par des lâchers d'auxiliaires dans les parcelles : c'est la lutte biologique augmentative (Nicolas, 2015).



Figure 4 : Des exemples de prédation dans des colonies de pucerons cendrés : (A) une larve de coccinelle ; (B) une coccinelle adulte ; (C) une larve de syrphe (E. Dieudonné, H. Gautier).

- *L'introduction de plantes de service*

L'usage des PdS pourrait se définir comme une façon d'augmenter le plus efficacement possible la biodiversité d'un système de culture. Les PdS constituent en effet un type de polyculture, dans laquelle deux espèces de plantes sont cultivées en association, la plante compagne améliorant le développement de la plante cultivée (Parker 2013). Dans le cadre de la protection des cultures, ces plantes peuvent participer à la régulation des populations de ravageurs via différents modes d'action. En fournissant un habitat et de la nourriture aux auxiliaires des cultures, elles peuvent participer à l'amélioration de la lutte biologique par conservation (Andow 1991 ; Simon et al. 2010). Certaines PdS, dites plantes pièges, vont attirer les ravageurs loin de la culture d'intérêt (Banks & Ekbom 1999 ; Hurej 2000). D'autres vont former une barrière physique et empêcher le ravageur de localiser sa plante hôte (Potting et al. 2005). Enfin, les plantes auxquelles nous nous intéressons dans cette étude sont capables de perturber le comportement du ravageur via l'émission de COV. Elles agissent en perturbant le processus de sélection de la plante hôte ou le développement du ravageur sur celle-ci, soit directement en repoussant le ravageur, soit indirectement en modifiant les caractéristiques de la plante hôte (Ben Issa et al. 2017a).

L'essentiel des recherches sur l'association avec des PdS a été réalisé avec des plantes aromatiques, riches en huiles essentielles et très odorantes (Collier et al. 2003 ; Tang et al. 2013). Les COV produits par ces plantes peuvent limiter l'abondance des populations de pucerons sur leur plante hôte, en perturbant la recherche de l'hôte, ou la capacité des pucerons à s'alimenter et/ou à se reproduire (Uvah & Coaker 1984 ; Pickett et al. 1992 ; Lu et al. 2007). En plus du service rendu, les plantes aromatiques ont l'avantage de pouvoir être récoltées et offrir un revenu supplémentaire au producteur (Hokkanen 1991 ; Altieri 1999).

Jusqu'à présent, quelques travaux ont été menés sur l'utilisation de PdS pour améliorer la lutte biologique par conservation de *D. plantaginea*. Albert (2017) a par exemple souligné des variations dans la régulation naturelle de ce puceron en verger cidricole, en fonction de la nature des infrastructures agroécologiques à proximité. Cependant, ces travaux n'ont pas explicité le rôle des COV dans ces interactions. Des travaux ont récemment été effectués au sein de l'unité PSH sur l'effet de COV sur le comportement de *Myzus persicae* (Ben Issa 2014 ; Dardouri et al. 2017) mais à notre connaissance, aucun travail ne mentionne l'effet des COV sur le comportement du puceron cendré.

2. Les modes d'action des PdS dans la régulation des pucerons via les COV

2.1. Les Composés Organiques Volatiles

- *Définition*

Les composés organiques volatiles sont des substances chimiques carbonées qui ont la propriété d'être volatils à température ambiante (Cicolella 2008). Les COV produits par les plantes sont lipophiles et ont une pression de vapeur élevée, ce qui leur permet de traverser facilement les membranes cellulaires pour être relâchés dans le milieu extérieur (Pichersky et

al. 2006). Ils représentent environ 1% des métabolites secondaires connus à ce jour et sont principalement des terpènes, des phénylpropanoïdes, des benzénoïdes et des dérivés d'acides aminés et d'acides gras (Guitton 2010).

- *Fonctions biologiques*

Différents COV sont libérés dans l'atmosphère par les feuilles, les fleurs et les fruits, ainsi que dans le sol par les racines des plantes (Van Dam *et al.* 2003 ; Dudareva & Negre 2005 ; Rasmann *et al.* 2005). Ils remplissent différentes fonctions essentielles pour la survie de l'espèce (Pichersky & Gershenzon 2002 ; Dudavera *et al.* 2013). Ceux émis par les fleurs jouent par exemple un rôle majeur dans la reproduction de la plante, en attirant les pollinisateurs et les insectes qui dispersent les graines (Raguso 2008).

Certaines plantes ont la faculté de produire des COV capables de repousser ou de perturber certains ravageurs. Associées à une culture horticole ciblée par ces derniers, elles peuvent donc avoir une action protectrice pour cette culture, ce qui permet de les qualifier de PdS. Elles peuvent agir de différentes façons sur un patho-système (figure 6), par l'émission d'un ou plusieurs COV, dont les modes d'action, sans doute complexes, restent à préciser (Ben Issa 2014).

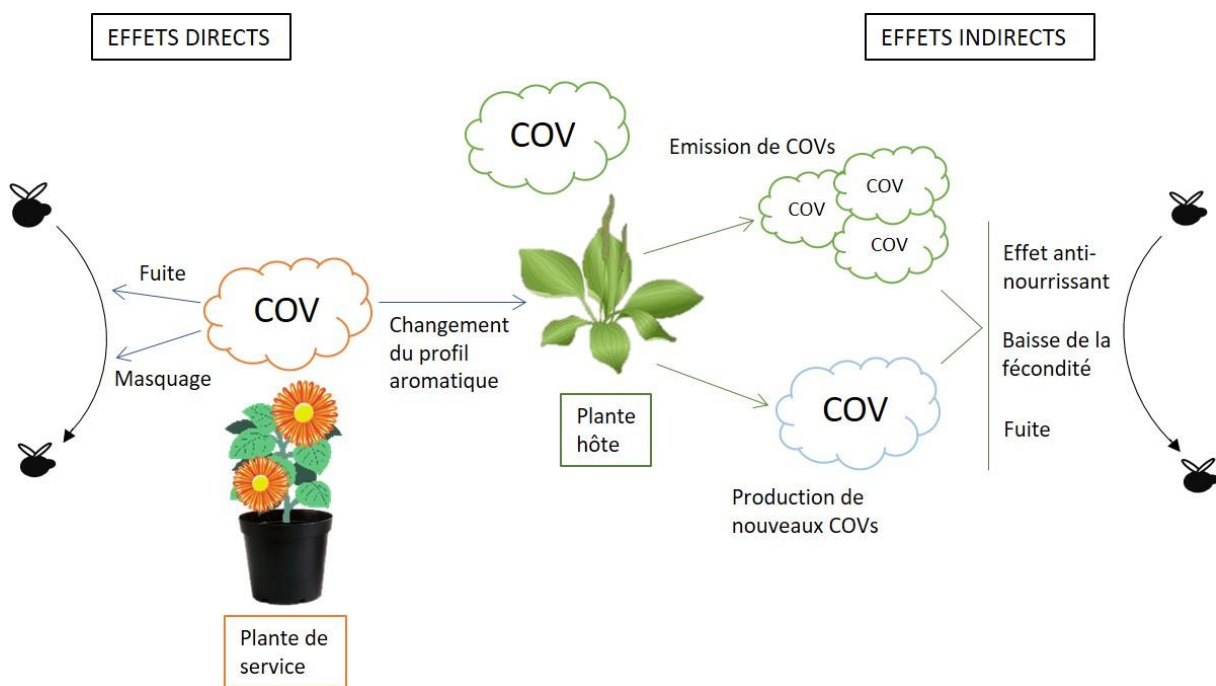


Figure 6 : Les potentielles interactions entre les plantes de services, les pucerons et la plante hôte.

2.2. Le masquage de l'odeur de la plante hôte

Selon Visser & Avé (1978), le masquage de la plante hôte est « une perturbation du complexe attractif par une modification artificielle des proportions relatives des composés. » Les insectes reçoivent alors différentes informations olfactives et sont alors incapables de localiser la plante hôte. Les mécanismes qui expliquent l'interférence entre la plante hôte et la plante compagne ne sont pas connus, mais ils ont été attribués à une neutralisation des réponses

comportementales chez le puceron (Schröder & Hilker 2008). De plus, d’après Ben Issa (2014), l’interaction entre une plante hôte et une plante de service peut générer de nouvelles odeurs, ce qui peut induire des réponses comportementales différentes chez le puceron (voir figure 7).

2.3. La fuite des pucerons (action directe)

Les plantes répulsives ont été définies comme des plantes non hôtes qui perturbent le comportement de l’insecte et provoquent sa fuite (Parker et al. 2013). Actuellement, plus de 1000 composés, principalement issus d’huiles essentielles, ont été identifiés comme répulsifs (Turlings et al. 1990 ; Deletre et al. 2013), grâce à des études comportementales (olfactométrie) et électro-physiologiques (électro-antennographie) (Deletre et al. 2015).

Plusieurs études ont montré que des plantes entières étaient également répulsives. C’est notamment le cas de l’ail pour plusieurs espèces de pucerons : *Myzus persicae* (Amarawardana et al. 2007) ; *Aphis gossypii* (Potts & Gunadi 1991), *Brevicoryne brassicae* (Mutiga et al. 2010). Récemment, Ben Issa (2014) a suggéré un effet répulsif de la lavande, du romarin, du basilic, de la menthe poivrée, du géranium et de l’œillet d’inde en fleur sur *M. persicae*.

D’autre part, il est possible que les PdS aient un effet direct sur le puceron en perturbant son bien-être, et donc son comportement alimentaire et/ou reproductif. Des études ont montré que les plantes de la famille des Lamiacées (romarin, menthe, basilic...) présentent un effet répulsif et anti-appétant (Hori 1998 ; Castillo et al. 2009). Cela rejoint le constat d’Hori (1999) que les individus de *M. persicae* ne peuvent pas s’installer sur ces plantes.

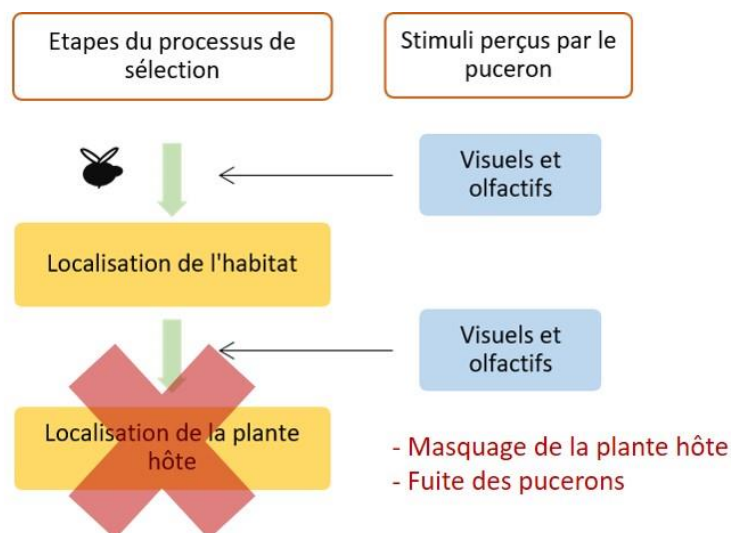


Figure 7 : Les COV qui empêchent la localisation de la plante hôte.

2.4. La modification de l'hôte (action indirecte)

Comme explicité précédemment, les COV jouent un rôle dans la communication de plante à plante. Les volatils émis par les plantes de service peuvent donc être captés par la plante hôte et influencer son métabolisme, la rendant moins attractive pour les pucerons (Heil 2010 ; Ninkovic et al. 2013). La plante devient alors peu hospitalière : elle peut acquérir un effet répulsif, anti-appétant, et peu propice à la reproduction du puceron. Celui-ci peut alors rejeter cette plante (voir figure 8) et partir à la recherche d'un autre hôte.

Lors de ses tests de fécondité en enceintes climatiques, Ben Issa (2014) a montré que l'œillet d'inde avait cette faculté de modifier le métabolisme du poivron (plante hôte de *M. persicae*) par l'intermédiaire d'un message olfactif, ce qui aboutit à une diminution significative de la fécondité de *M. persicae*. Elle a qualifié d'indirect cet effet des PdS sur le comportement du puceron.

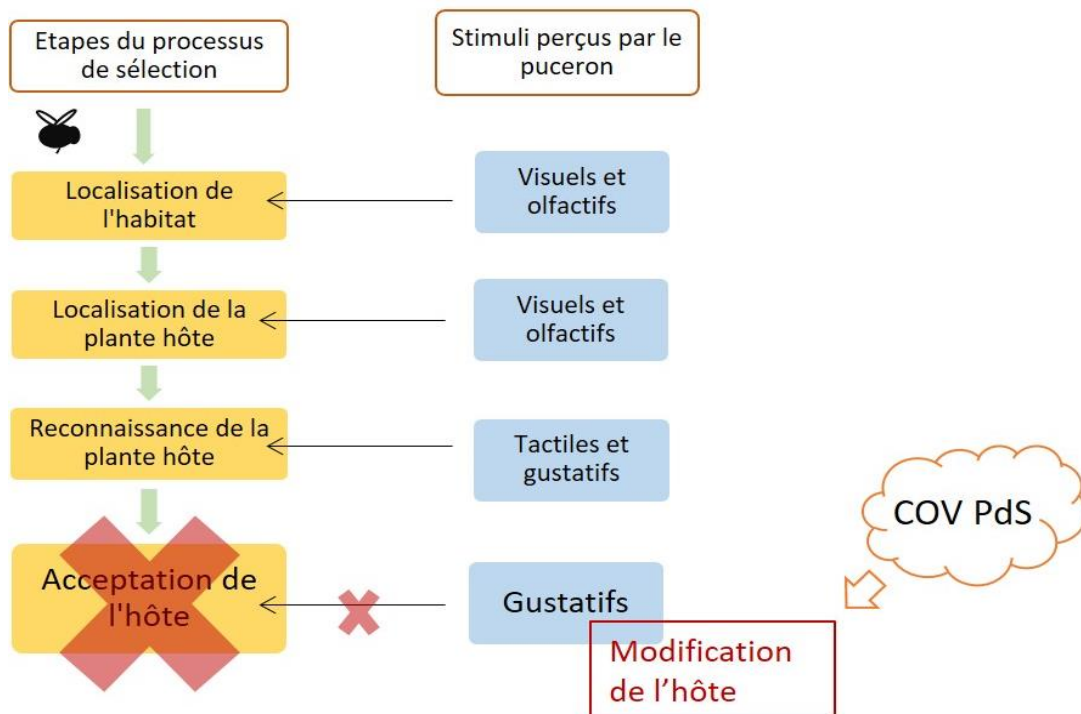


Figure 8 : Les COV qui empêchent l'acceptation de la plante hôte.

2.5. Variations de l'émission des COV

En plus de la variabilité génotypique, la diversité et la quantité des COV formés est sous l'influence de facteurs biotiques et abiotiques (Pichersky & Gershenzon 2002). Il a été montré chez plusieurs espèces végétales que l'émission des COV variait entre les différents organes de la plante et en fonction de la saison (Atti-Santos *et al.* 2004 ; Johnson *et al.* 2004 ; Angioni *et al.* 2006). De plus, l'émission de COV varie en fonction du stade phénotypique et est régulée tout au long du développement de la plante. Par exemple, dans les feuilles, la composition en COV varie avec l'âge et la position des feuilles chez *Mentha piperita* (Voinin & Bayet 1996 ; Gershenzon *et al.* 2000) ou encore chez *Lavandula latifolia* (Muñoz-Bertomeu *et al.* 2008).

Dans les fleurs, on observe des variations dans l'émission de COV dans la journée, avec un maximum dans les périodes diurnes (Hendel-Rahmanim *et al.* 2007). Ces paramètres doivent être considérés pour le choix d'une PdS, pour définir ses modalités d'utilisation et expliquer, le cas échéant, des différences d'efficacité.

3. Présentation du travail de stage

Au fil de l'étude bibliographique, nous avons pu constater que quelques études se sont penchées sur l'effet de composés individuels, d'extraits de plantes ou d'huiles essentielles sur certaines espèces de pucerons. Cependant, très peu de recherches ont été menées sur l'effet de plantes entières, et rares sont les travaux qui ont étudié cet effet sur le puceron cendré du pommier, d'où l'importance de ce sujet. Ce stage s'inscrit dans la suite de deux thèses réalisées dans l'unité PSH qui ont traité de l'effet de plantes de service sur le puceron vert du pêcher, *Myzus persicae* : celle de Refka Ben Issa (2014), et celle de Tarek Dardouri (prochainement soutenue). D'autre part, deux projets européens ont été lancés en 2018, avec l'INRA pour partenaire. Le projet ALTO, pour Systèmes en Arboriculture et Transition agrOécologique, vise à concevoir des systèmes arboricoles zéro phyto en réinventant des vergers dans lequel plusieurs stratégies agroécologiques permettraient de réguler les populations de ravageurs. L'une des nombreuses composantes étudiées est l'utilisation de plantes de service. Le projet Api-TREE vise à proposer des alternatives aux pesticides pour lutter contre les ravageurs du pommier. Il inclut également des recherches sur les PdS. Nos recherches vont donc alimenter ces deux projets.

Nos objectifs sont les suivants :

- Identifier des plantes aromatiques susceptibles de limiter le développement des populations de *D. plantaginea* ;
- Tester l'efficacité des protocoles utilisés avec *M. persicae* sur *D. plantaginea* ;
- Voir s'il existe une certaine généralité dans les résultats obtenus avec les deux espèces.

Pour répondre à ces objectifs, nous avons étudié les deux volets qui ressortent de la littérature : l'effet répulsif de plantes aromatiques, et leur effet sur la fécondité de *D. plantaginea*. Pour cela, des tests d'olfactométrie et de fécondité en conditions contrôlées nous ont permis de réaliser le typage d'une dizaine de plantes aromatiques. Ces tests ont pour vocation de guider le choix des PdS qui seront introduites ultérieurement dans des vergers pour les projets ALTO et API-Tree. En effet, les expérimentations en verger présentent de nombreuses difficultés liées aux interférences des facteurs environnementaux, ce qui justifie la pertinence de tests en laboratoire.

J'ai également été impliquée dans des essais expérimentaux en verger, constituant des tests préliminaires de caractérisation protocolaire pour les prochaines années d'expérimentation. Ces tests seront décrits en annexes.

Matériels et méthodes

1. Les plantes

1.1. Choix des plantes

Des plants de plantain (*Plantago lanceolata*) ont été utilisés comme plante hôte de *Dysaphis plantaginea*. Dix plantes aromatiques ont été testées (voir tableau 1). Le ray-grass italien (*Lolium multiflorum*) a servi de témoin pour l'expérimentation en verger.

Le choix des plantes aromatiques se justifie par leur forte émission de COV, et par le fait qu'elles sont cultivées dans le bassin méditerranéen. De plus, ces plantes offrent l'opportunité d'une valorisation commerciale. Les variétés de tagète et de basilic étudiées ont des variétés qui s'étaient avérées répulsives sur *M. persicae*. Les romarins « Pyramidal », « Upright », « Green ginger » et « 05var » vont être testés en mélange dans le cadre du projet ALTO.

Les plantes ont été testées au stade phénologique coïncidant avec la période de lutte optimale contre le puceron cendré, c'est-à-dire au début du printemps. Seuls les œillets d'Inde sont alors en fleur.

Tableau 1 : Les plantes de service utilisées pour les tests

Nom commun	Nom latin	Variété(s)	Famille
Œillet d'Inde / Tagète	<i>Tagetes patula</i>	Nana	Asteraceae
Basilic	<i>Ocimum basilicum</i>	Fin Vert	Lamiaceae
Romarin	<i>Rosmarinus officinalis</i>	« Esselte » « Voltz Splindler » « Pyramidal » « Upright » « Green ginger » « 05var 01 »	Lamiaceae
Menthe poivrée	<i>Mentha piperita</i>		Lamiaceae
Lavandin	<i>Lavandula x Intermedia</i>	Seguret	Lamiaceae

1.2. Production des plantes

Les plantes ont été cultivées, après semis ou à partir de jeunes plants (tableau 2), dans des pots de 1L remplis de terreau contenant un mélange de tourbe de sphaignes noire gelée et de tourbe blonde de sphaignes. Pour l'expérimentation en verger, 300 plants de tagète, basilic et ray-grass italien ont été rempotés en pots de 4L avant d'être placés dans le verger.

Pour le plantain, des semis décalés ont été réalisés pour avoir des plantes du même stade de développement. Les plants utilisés pour l'élevage et les tests avaient entre 6 et 8 semaines.

Pour éviter toute interaction entre les composés volatiles, les plantes aromatiques et les plantes hôtes ont été produites séparément dans deux serres et un tunnel (voir tableau 2). La température dans les serres est maintenue à $22 \pm 2^\circ\text{C}$, et l'hygrométrie à 50%. Le tunnel abritant certaines PdS est un tunnel plastique équipé de portes insect-proof, constituant un environnement semi-contrôlé. Les plantes ont été cultivées sans traitement phytosanitaire ni fertilisant. Elles ont été irriguées par un système de goutte-à-goutte à raison de 8 min par jour (quatre fois 2 minutes à un débit de 2L/heure), soit un apport d'eau de 27cL par plante par jour.

Tableau 2 : Conditions de culture des plantes utilisées pour les tests.

Plante	Origine des plantes	Emplacement de culture	Stade phénologique au moment des tests
Plantain	Semées à l'INRA	Serre 1	Végétatif
Ray-grass	Semées à l'INRA	Serre 2	Végétatif
Œillet d'Inde	Semées à l'INRA	Serre 2	En fleur
Basilic	Semées à l'INRA	Serre 2	Végétatif
Romarin « Green ginger »	Fournies par l'Itepmi	Tunnel	Végétatif
Romarin « 05var »	Fournies par l'Itepmi	Tunnel	Végétatif
Romarin « Pyramidal »	Fournies par l'Itepmi	Tunnel	Végétatif
Romarin « Upright »	Fournies par l'Itepmi	Tunnel	Végétatif
Romarin « Esselte »	Fournies par le CRIEPPAM	Tunnel	Végétatif
Romarin « Voltz Splindler »	Fournies par le CRIEPPAM	Tunnel	Végétatif
Menthe poivrée	Achetées en pépinière	Tunnel	Végétatif
Lavandin	Achetées en pépinière	Tunnel	Végétatif

2. Élevage des pucerons

Les pucerons utilisés lors de ces expérimentations sont tous issus de même clone parthénogénétique de *Dysaphis plantaginea* (DP16-121), initialement issu de la descendance d'une fondatrice provenant d'un verger du domaine INRA St Paul (Montfavet).

Pour faciliter le suivi et l'étude du comportement des pucerons, nous travaillons uniquement avec des pucerons aptères. Les femelles sont élevées sur leur hôte secondaire, le plantain, dans des cages hermétiques contenant chacune deux plants, correspondant à une cohorte d'âge connu (Figure 9). L'élevage se fait dans un insectarium en conditions contrôlées

(température de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ et photopériode de 16h de jour et 8h de nuit) afin d'obtenir uniquement des pucerons aptères se reproduisant par parthénogénèse.

Dans le but d'obtenir des individus de même âge, l'élevage des pucerons est synchronisé. Pour cela, nous déposons des feuilles de plantain sur un filtre humide, dans 4 boîtes de pétri. Dans chaque boîte, nous plaçons 40 femelles adultes. Au bout de 24h (ou 8h), les femelles sont retirées et placées dans de nouvelles boîtes. Les larves sont déposées sur des plants de plantain jusqu'à ce qu'elles atteignent le stade adulte. A la fin de la semaine, les femelles sont éliminées, et la semaine suivante, le protocole est reproduit avec d'autres femelles.

Des femelles adultes issues d'une cohorte de 24h et âgées de 10 à 14 jours ont été utilisées pour réaliser les tests d'olfactométrie.

Pour les tests de fécondité en boîte, des femelles issues d'une cohorte de 8h et âgées de 7 jours à J0 ont été utilisées, dans le but de réduire au minimum l'écart d'âge entre les femelles.



Figure 9 : à gauche, une cohorte de *D. plantaginea* sur plantain ; à droite, des larves (stade L1) de *D. plantaginea*

3. Tests de répulsion

3.1. Dispositif d'olfactométrie

Le principe général consiste à exposer des pucerons placés dans un olfactomètre, à un flux d'air porteur d'un mélange olfactif libéré par une ou plusieurs plantes, puis à mesurer le déplacement des pucerons pour estimer un indice de répulsion de ce mélange olfactif, en considérant le débit d'air et la durée d'exposition des pucerons.

L'olfactomètre utilisé verticalement est un olfactomètre tubulaire en dynamique (Figure 10). Il est formé d'un cylindre en verre de 15 centimètres de long et de 6cm de diamètre, séparé en son milieu par un verre fritté de 4cm de diamètre. Le compartiment du bas présente une forme plus évasée, facilitant le comptage des pucerons présents sur le fritté. Le dispositif est fermé par deux capuchons en verre, chacun relié hermétiquement au cylindre central par une pince circulaire.

L'olfactomètre ainsi assemblé est relié en partie haute par un tuyau en téflon à une enceinte en verre (60 x 60 x 60cm) qui contient les plantes à tester. L'atmosphère dans l'enceinte est en surpression grâce à une pompe qui envoie de l'air filtré dans la cage, à un débit de 8L/min. Une partie de l'air brassé de l'enceinte sort de la cage par le tuyau en téflon. Un débit-mètre permet de régler à 0.3L/min le débit d'air à l'entrée de l'olfactomètre. L'air traverse l'olfactomètre du haut vers le bas, puis est expulsé à l'extérieur de la pièce.

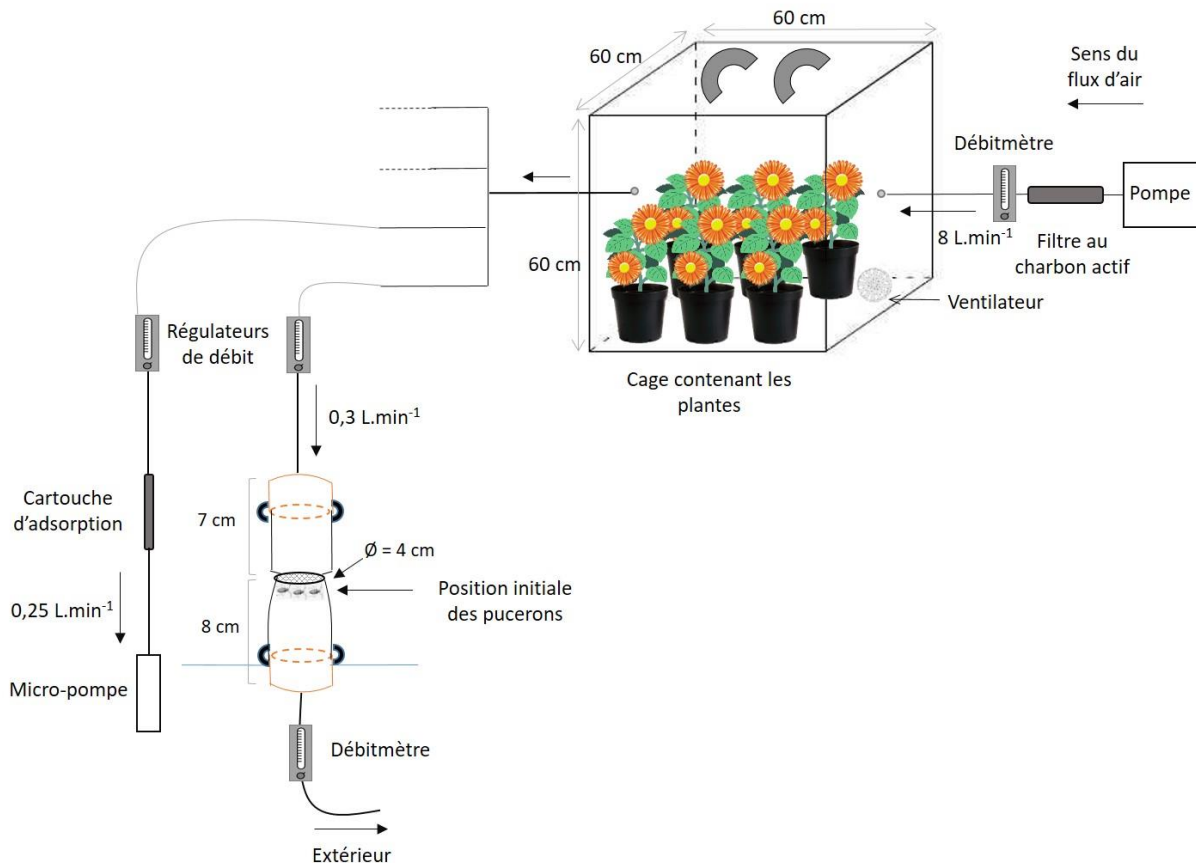


Figure 10 : schéma de l'olfactomètre tubulaire et représentation d'un prélèvement de COV.

3.2. Déroulement de l'expérimentation

Les tests de répulsion ont été effectués dans une salle ventilée en conditions contrôlées (22 ± 1 °C ; 60-70% d'humidité relative).

Six plantes sont transportées depuis la serre ou le tunnel et placées dans la cage ventilée une heure avant le début de l'expérimentation, pour permettre leur stabilisation. Pour limiter l'émission d'odeurs provenant du terreau et du pot, les pots sont entourés d'aluminium. De plus, pour limiter l'accumulation de COVs dans la cage pendant l'heure de stabilisation des plantes, un flux d'air filtré circule dans la cage, depuis la pompe vers l'extérieur. Les modalités testées sont référencées dans le tableau 3.

Tableau 3 : Les modalités testées lors des tests de répulsion.

Modalité testée	Nombre de plantes testées	Test
Air filtré	/	Témoin négatif
β -farnesène	20 μ L dilué dans 80 μ L d'éthanol pur	Témoin positif
Plantain	6	Plante hôte
Tagète	6	Effet espèce
Basilic	6	
Menthe poivrée	6	
Lavandin	6	
Romarin, variété « Esselte »	6	
Romarin, variété « Voltz Splindler »	6	
Romarin, variété « Pyramidal »	6	
Romarin, variété « Upright »	6	
Romarin, variété « Green ginger »	6	
Romarin, variété « 05var »	6	
Romarin mélange : « Green ginger », « 05var », « Pyramidal » et « Upright »	4	Mélange
Lavandin	1	Effet nombre
	2	
	6	

À la fin de la phase de stabilisation des plantes, 45 pucerons sont prélevés dans une cohorte à l'aide d'un pinceau fin, et sont placés sur la face inférieure du fritté selon leur géotactisme négatif (compartiment bas de l'olfactomètre). L'expérimentation est réalisée dans l'obscurité, de manière à stimuler le géotactisme négatif des pucerons et à éviter tout stimulus visuel.

À t₀, on branche directement le tuyau du haut à la pompe pour permettre la circulation d'un flux d'air à 300 mL/min à travers l'olfactomètre. Cet air est au préalable filtré et purifié par un filtre au charbon actif pour qu'aucun COV ne soit présent dans le flux d'air.

Commence une phase de stabilisation des pucerons de trente minutes (t_i), après quoi on prend une première photo de la position des pucerons « répondants », c'est-à-dire toujours présents sur le fritté. Cette photo est prise après ouverture de la partie basse de l'olfactomètre, qui est ensuite refermé délicatement et replacé en position de test. On connecte ensuite l'olfactomètre à la cage avec les plantes, l'air circulant à un débit de 300 mL/min. Au bout d'une heure (t_f), on prend une seconde photo des pucerons encore présents

sur le fritté (protocole adapté selon T. Dardouri, données non publiées). On considère que ces pucerons n'ont pas été perturbés par le flux de COV émanant des plantes. Les pucerons ne sont utilisés qu'une fois et sont ensuite éliminés en les plaçant dans un congélateur à -20°C. À la fin de l'expérience, l'olfactomètre et la cage en verre sont nettoyés au liquide vaisselle inodore, à l'eau distillée et à l'éthanol à 70°C, avant que les différentes parties de l'olfactomètre ne soient placées à l'étuve à 110°C pendant une heure.

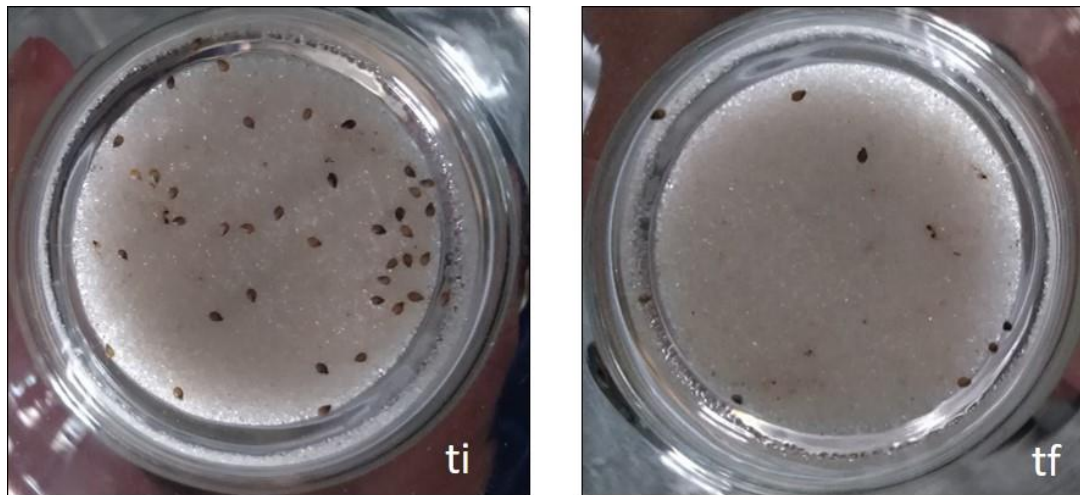


Figure 11 : Deux photos prises lors d'une expérimentation avec six romarins « Voltz Splindler ». Les pucerons comptabilisés sont sur la partie blanche (12/07, E. Dieudonné).

Le dispositif permet de découpler le flux d'air à la sortie de l'enceinte (Figure 10) et de réaliser simultanément deux répétitions avec les mêmes plantes. A la fin de l'expérimentation, les plantes sont replacées au tunnel ou à la serre et d'autres sont utilisées pour les prochains tests. Pour chaque traitement, six répétitions ainsi été réalisées (soit 18 plantes utilisées). Dans le cas du plantain, nous n'avons pu réaliser que 4 répétitions par manque de matériel végétal sain, suite à des attaques de thrips dans la serre. Le β -farnésène, phéromone sémiochimique utilisée comme signal d'alarme chez les pucerons, a été testé comme témoin positif. 100 μ L d'une solution contenant 20% de β -farnésène et 80% d'éthanol pur ont été déposés sur un papier filtre à l'aide d'une pipette, puis, à ti, ce papier a été déposé au centre de la cage.

3.3. Analyses statistiques

Le comptage du nombre de pucerons restant sur le verre fritté à ti (NBTI) et à tf (NBTF) est réalisé sur les photos avec le logiciel de mesure sur image Mesurim Pro (version 20-04-13).

Les différences entre NBTI et NBTF pour les modalités étudiées ont été analysées par une régression logistique (famille de lien binomiale) via le modèle généralisé de Rstudio (version 0.99.893). Un test de Tukey a ensuite été réalisé pour comparer les traitements deux à deux.

Les indices de répulsions (IR) selon les différentes modalités ont été représentés graphiquement sur Rstudio sous forme de boîtes à moustaches (boxplots). La formule utilisée pour calculer l'IR est la suivante :

$$IR = (NBTI-NBTF) /$$

4. Détermination de l'émission de COV par les plantes

4.1. Prélèvements

L'objectif des prélèvements de COV est de comparer les profils aromatiques des différentes plantes, d'identifier les COV majeurs émis par chaque plante et d'en quantifier l'émission. L'objectif finalisé est aussi de voir si on peut établir un lien entre la production olfactive des plantes dans l'enceinte et le comportement des pucerons dans l'olfactomètre.

En réalisant à plusieurs reprises un double prélèvement à l'entrée et à la sortie de l'olfactomètre, nous avons vérifié que le mélange de COV était qualitativement et quantitativement identique en ces deux points. Tous les prélèvements de COV ont donc été réalisés uniquement à l'entrée de l'olfactomètre en respectant strictement la procédure suivante.

Une fois l'émission de COV par les plantes stabilisée (soit au minimum une heure après introduction dans l'enceinte), une cartouche cylindrique Porapak® est branchée à la sortie du débit-mètre situé avant l'olfactomètre (Figure 10). Cette cartouche contient du Tenax, matériau adsorbant qui permet de capturer des ions et des molécules en phase gazeuse ou liquide, et donc le piégeage des COV émis par les plantes. L'air est aspiré par une micro-pompe (PAS-500 Micro Air Sampler) durant cinq minutes, dans l'obscurité. La cartouche est ensuite récupérée et stockée à +4°C, jusqu'à analyse des COV.

Trois prélèvements de COV ont été réalisés pour chaque plante, excepté pour les tagètes, testés avant la mise au point du protocole de prélèvement des COV.

4.2. Analyse des COV par GC-MS (Gas Chromatography – Mass Spectrometry)

Nous avons utilisé un thermodésorbeur PerkinElmer, et un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse Thermo scientific (Figure 11).



Figure 11 : Matériel utilisé pour l'analyse des COV. T : thermodésorbueur.

La chromatographie en phase gazeuse – Spectrométrie de masse (GC-MS) est une technique d'analyse et de quantification des composés organiques volatiles et semi-volatiles. La chromatographie permet la séparation des composés d'un échantillon, basée sur les différences d'affinité des composés pour une phase stationnaire et une phase mobile. La spectrométrie de masse va ensuite permettre la détection et l'identification des composés élués en fonction de leur rapport masse sur charge.

4.3. Lecture des chromatogrammes

L'interprétation des chromatogrammes a été effectuée avec le logiciel Xcalibur (Xcalibur 2.1.0 SP1 build 1160) et la plateforme internet Galaxy, qui contient de nombreuses données métabolomiques. Les spectres de masse ont été comparés avec une base de données internationales (NIST Mass Spectrometry Data Center, 1990). L'identification du composé est affinée par comparaison avec les indices de rétention de Kovats.

Un tableau contenant les COV détectés chez les plantes aromatiques sera présenté dans la partie résultats. Les quantités de COV y sont représentés en pourcentage de l'aire totale des composés (courant ionique total) et les COV principaux de chaque plante y sont mis en évidence. Les aires des composés données dans les tableaux sont celles obtenues par la plateforme Galaxy.

La concentration de l'eucalyptol, pour lesquels nous disposons de standards commerciaux, a été calculée en comparant l'aire du pic du composé avec l'équation de la droite de régression, obtenue avec différentes concentrations du composé commercial pur. Nous présenterons dans la partie résultats les quantités obtenues pour quatre variétés de romarin.

Les similitudes entre différentes plantes (plantain, basilic, lavandin, menthe poivrée et romarin « Esselte ») ont été mises en évidence par une analyse en composantes principales (ACP). L'ACP a été réalisée avec les aires des COV détectés par la plateforme Galaxy. Il a été fait de même pour les variétés de romarin.

5. Tests de fécondité

5.1. Description de l'expérimentation

L'objectif de ce test est d'étudier l'influence des COV émis par les PdS sur la fécondité des femelles de *D. plantaginea* élevées sur plantain. Au fond d'une boîte de pétri ronde de diamètre 15cm et hauteur 2.5cm, on place une feuille de plantain sur un gel d'agarose à 2%, face abaxiale (dorsale) vers le haut (Figure 12). Dans la deuxième moitié de la boîte, on place une fleur ou 3g de feuilles de la plante de service. Les modalités testées sont les suivantes :

- Une fleur de tagète
- 3g de feuilles de basilic
- 3g de feuilles de romarins : mélange des 4 variétés « Upright », « Green ginger », « Pyramidal » et « 05var »
- 3g de feuilles de menthe poivrée
- 3g de feuilles de lavandin

Pour le contrôle de l'expérimentation, on place une feuille de plantain seule dans la boîte (témoin). A J0 (vendredi), une larve âgée de 7 jours est déposée sur chaque feuille de plantain avec un pinceau fin, puis la boîte est retournée. A J3, quand les femelles sont âgées de 10 jours (lundi), elles atteignent le stade adulte et commencent à pondre. Les larves néonates sont comptées et éliminées, et ce tous les matins à la même heure pendant 5 jours (protocole adapté selon Dardouri et al 2017).

Chaque plante aromatique a été testée 30 fois (3 x 10 répétitions) simultanément avec une modalité témoin.

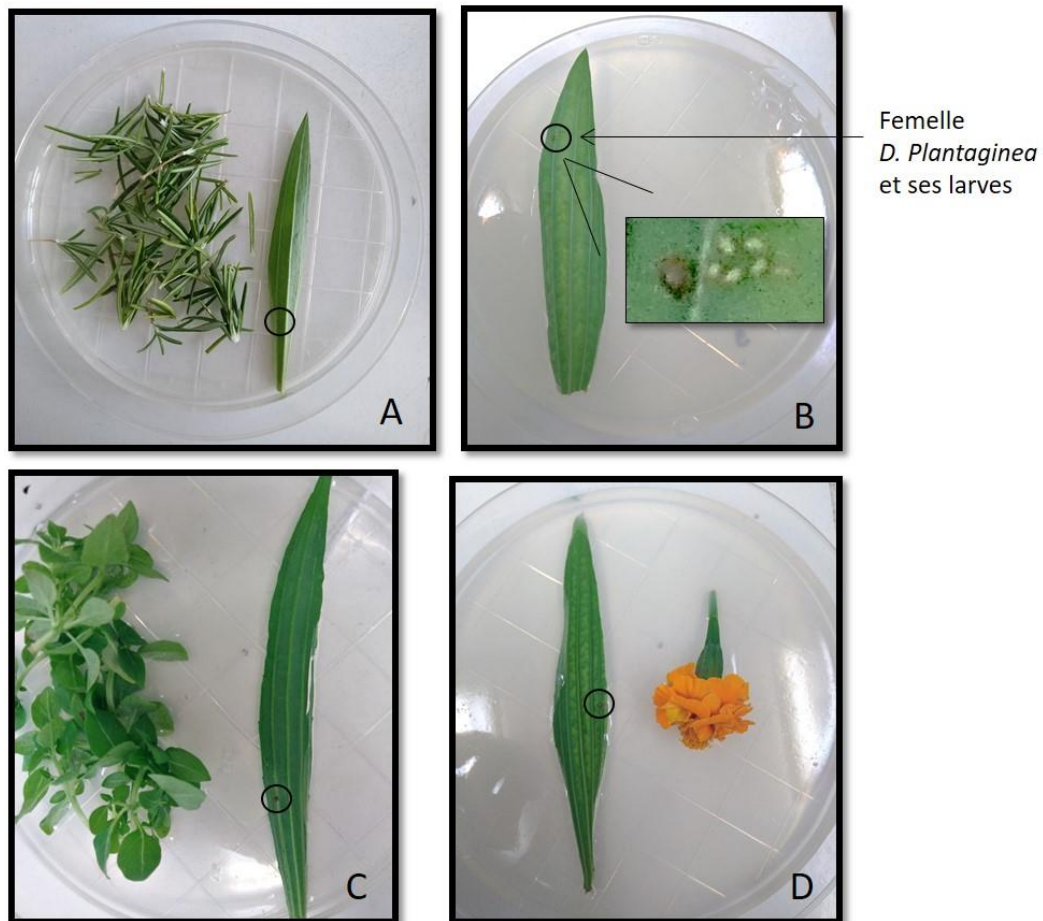


Figure 12 : Des exemples de tests de fécondité. A : mélange de feuilles des 4 variétés de romarin ; B : feuille de plantain seule (témoin) ; C : feuilles de basilic ; D : fleur d'œillet d'Inde.

5.2. Analyses statistiques

Nous avons choisi de comparer le nombre total de larves produites par les femelles en cinq jours pour les modalités étudiées. Les différences entre les traitements et leurs témoins respectifs ont été analysées par une régression log-linéaire (distribution de Poisson) via le modèle linéaire généralisé de Rstudio. Cette analyse a montré un effet du traitement sur la fécondité, mais l'interaction entre le traitement et la date n'étant pas négligeable, une régression a été réalisée pour chaque répétition. Les résultats sont représentés sous forme d'histogrammes.

Résultats

1. Tests de répulsion

1.1. Effet des plantes aromatiques sur le puceron cendré

La figure 13 représente les indices de répulsion du puceron selon les modalités expérimentales. On note une forte différence (facteur 8) entre l'IR de l'air (témoin négatif) et l'IR du β -farnesène (témoin positif). Alors que le plantain a un IR comparable à l'air, toutes les plantes aromatiques testées ont un IR significativement supérieur ($P < 0.001$). Le tagète, le basilic et le romarin (variété « Esselte ») présentent un effet répulsif plus modéré que la menthe poivrée et le lavandin qui ont un IR proche du β -farnesène.

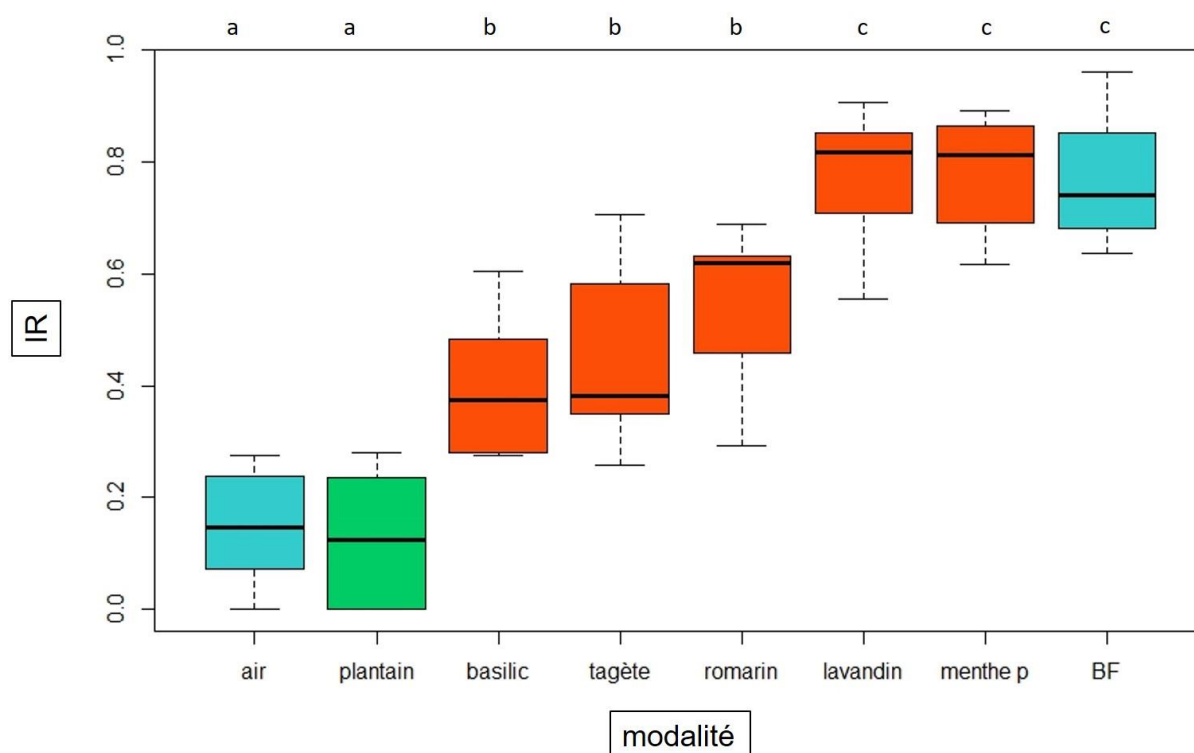


Figure 13 : Indices de répulsion de *D. plantaginea* en fonction de la plante étudiée. Les modalités en bleu représentent les témoins (BF : β -farnesène). Les modalités en orange représentent les plantes aromatiques (menthe p : menthe poivrée). Les moyennes ne partageant aucune lettre (ligne en haut du graphique) sont significativement différentes ($P < 0.01$).

1.2. Effet variétal du romarin

Les capacités répulsives de six variétés de romarin (« Upright », « 05var », « Green ginger », « Pyramidal », « Esselte » et « Voltz Splindler ») et d'un mélange de quatre variétés (« Upright », « 05var », « Green ginger » et « Pyramidal ») ont été mesurées (Figure 14). La variété « Upright » a un IR qui n'est pas significativement différent de celui de l'air et du

plantain, contrairement aux autres modalités testées ($P < 0.01$) qui ont un IR plus élevé. Les variétés « Green ginger » et « Voltz splindler » ont un IR comparable à celui du β -farnesène. Le mélange variétal testé présente un IR comparable au β -farnesène et sensiblement supérieur à celui de chacun des romarins qui le compose.

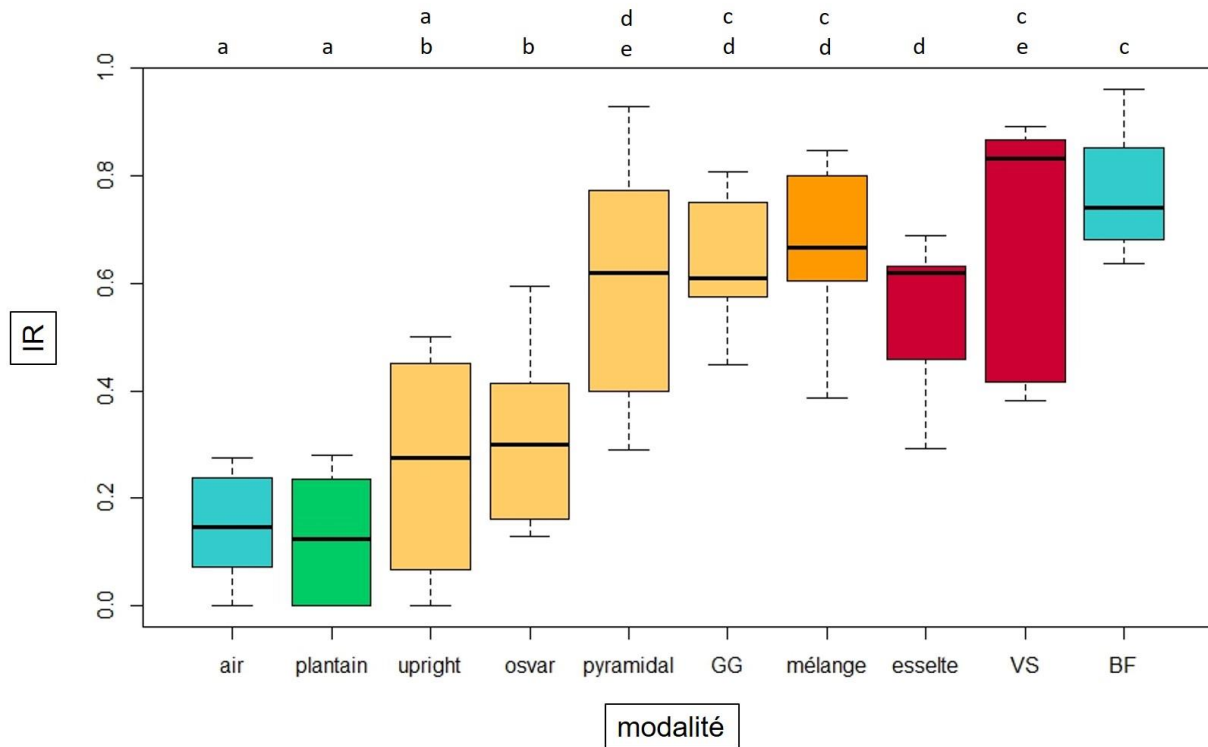


Figure 14 : Indices de répulsion de *D. plantaginea* en fonction de la variété de romarin testée. Les modalités en bleu représentent les témoins (BF : β -farnesène). Les variétés en rouge proviennent du CRIEPPAM (VS : Voltz Splindler). Les variétés en jaune proviennent de l'ITEPMAI (GG : Green ginger, 05var, pyramidal, upright). La modalité représentée en orange est le mélange des quatre variétés en jaune. Les moyennes ne partageant aucune lettre (ligne en haut du graphique) sont significativement différentes ($P < 0.01$).

1.3. Effet dose

Un effet dose a été recherché en réalisant des tests à l'aide de 2, 4 ou 6 lavandins placés dans l'enceinte en verre. La figure 15 représente les indices de répulsion du puceron selon ces 3 modalités

Dans les trois cas, le lavandin présente un IR comparable à celui du β -farnesène. On observe une augmentation sensible mais non significative de l'IR avec l'augmentation du nombre de plants.

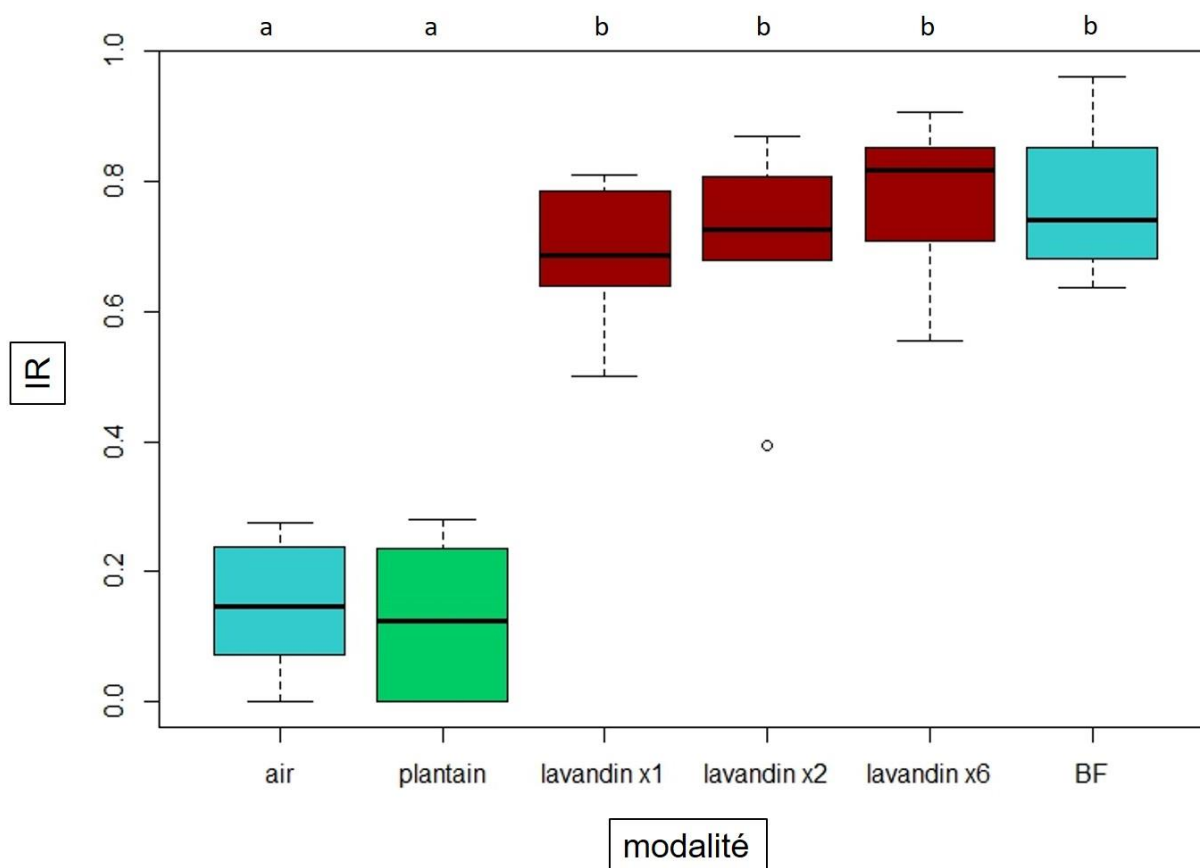


Figure 15 : Indices de répulsion de *D. plantaginea* en fonction de la modalité testée. Les modalités en bleu représentent les témoins (BF : β -farnésène). Lavandin x n : n plants de lavandins dans l'enceinte. Les moyennes ne partageant aucune lettre (ligne en haut du graphique) sont significativement différentes ($P < 0.01$).

2. Analyse des COV

2.1. COV émis par différentes plantes aromatiques

Le tableau 4 représente l'ensemble des COV identifiés chez les espèces végétales étudiées.

Au total, 94 COV ont été identifiés. Un total de 18, 58, 33 et 35 composés ont été respectivement identifiés chez le plantain, le basilic, le lavandin et la menthe poivrée. Les composés principaux émis par le plantain sont le carvone (27.7%), la piperitone (15.5%), le benzaldehyde (8.3%), l'octanal (7.3%) et le m-xylène (6.8%). Chez le basilic, les composés principaux sont l'eucalyptol (15.1%), le méthyleugenol (8.4%), le linalol (6.5%), le bornyl acetate (4.4%) et le β -pinène (4.2%). Chez le lavandin ont été majoritairement détectés l'eucalyptol (57.5%), le camphor (14.2%), le D-limonène (4.4%), l'O-cymène (3.7%) et le β -pinène (3.5%). Chez la menthe poivrée, ce sont le menthofuran (46.6%), le l-menthone (20.3%), le D-limonène (8.9%), l'eucalyptol (6.5%), le menthol-acetate (3.5%).

Un total de 30, 27, 29, 26, 36, 26 et 23 composés ont été respectivement identifiés chez les romarins « Green ginger », « Pyramidal », « Upright », « 05var 01 », mélange de romarins, « Voltz Splindler » et « Esselte ».

Certains de ces composés sont partagés par plusieurs espèces. Quinze composés sont détectés chez toutes ces plantes aromatiques : le D-limonene, l'eucalyptol, l'O-cymene, le β -pinene, le camphor, le méthyleugenol, le 5-Hepten-2-one, le xylène, le benzaldehyde, le terpinene, l'acetophenone, le nonanal, le neo-allo-ocimene, le caryophyllene et le γ -cadinene.

Tableau 4 : Pourcentages relatifs des COV détectés chez différentes plantes. 100% = somme des volatiles identifiés chez une espèce. Les COV sont listés selon leur temps de rétention (RT) en minutes. Les 5 composés majoritaires de chaque plante sont représentés en gras et en couleur. La somme des aires équivaut au courant ionique total généré par l'algorithme de la plateforme Galaxy.

COV	RT	Plantain	Basilic	Lavandin	Menthe poivrée	Romarin Green ginger	Romarin Pyramidal	Romarin Upright	Romarin Osvar 01	Mélange romarins	Romarin Voltz splindler	Romarin Essette
2-Cyclopenten-1-one, 2-methyl-	4,408			0,1								
Hexanal	5,366		0,7			3,1				0,7	0,1	
Ethylbenzene	6,181	3,7		0,4	0,3							
p-Xylene	6,302	2,9	1,7	0,2	0,2	10,6	3,0	0,4	2,3	1,1	0,4	0,3
3,4-Hexanedione	6,4											
m-Xylene	6,62	6,8	0,3	0,6	0,5	3,0				0,4	0,1	
Heptanal	6,844			0,2	0,1							
Cumene	7,052			0,1								
β-Thiulene	7,065					0,2		0,3		1,3	0,5	
lR-α-Pinene	7,236		2,0			4,7	23,3	7,5	17,0	27,7	26,1	40,3
α-Pinene	7,329	1,5		2,2	0,9		1,3	0,1	0,3	0,5	0,3	0,6
Hexanoic acid	7,52		1,1									
Camphene	7,533		1,6	1,3		2,3	5,1	4,8	5,3	9,8	17,9	12,3
Phenol	7,67		0,3									
Benzaldehyde	7,711	8,3	0,2	0,7	0,4					1,0	0,1	
β-Phellandrene	7,737			0,2	0,2							
β-Pinene	7,882		4,2	3,5	1,4		5,3	3,1	6,1	4,7	2,6	4,4
5-Hepren-2-one, 6-methyl-	7,883	4,9	0,2	0,6	0,2	0,6	2,0	0,8	2,1	0,2	0,2	0,3
4-Hexen-1-ol, acetate	8,188				3,4					0,9		
Hemimellitene	8,202				0,1							
Oxanal	8,206	7,3	0,3				4,2	0,6	6,2			0,8
α-Phellandrene	8,411			1,6	0,3	0,6	1,7	1,8	0,5	2,4	1,3	1,0
α-Terpinene	8,587			0,7	0,3	0,6	0,7	0,5	0,5	0,7	0,4	0,4
α-Cymene	8,712	2,3	3,8	3,7	1,2		6,8	9,8	3,9			4,1
D-Limonene	8,823	4,4	4,1	4,4	8,9	3,8	6,1	3,5	4,4	5,7	5,6	4,3
Eucalyptol	8,837		15,1	57,5	6,5		17,7	3,8	10,1	19,2	23,5	12,3
β-αis-Climene	8,909		1,1	1,8								
Benzeneacetaldehyde	9,122	0,9				1,0				0,1		
γ-Terpinene	9,343		0,7	0,7	0,6	1,0		0,8		1,5	0,8	
Acetophenone	9,581	4,5	0,2	0,4	0,4	5,4	1,0	0,2	1,9	0,6		0,3
(+)-4-Carene	9,87		0,9									
Terpinolene	9,915			0,6	0,2	0,5		0,2		0,7	0,2	
Linalol	10,01		6,5									
Undecane	10,027	3,4	0,1									
Nonanal	10,166		1,9	1,1	0,5	14,1	6,3	0,7	9,6		0,2	1,1
Perillene	10,326		1,2							2,5	0,2	
Neo-silvicolimene	10,494		0,7	0,5	0,1			0,1		0,3	0,2	
Oxalonic acid	10,949		0,2									
isoterpinolene	10,971			0,1								
Alcanfor	11,052		3,1									
Benzoic acid	11,411											
Camphor	11,435		3,2									
l-Menthone	11,435		0,4	14,2		15,1	5,7	57,6	15,9	13,0	18,7	15,2
l-Menthone	11,529				20,3							
Menthofuran	11,692				46,6							
Pinocaryone	11,702									0,1	0,1	
p-Menth-4-en-3-one	11,864				0,1							
p-Menth-8-en-3-one, trans-	11,951				0,5							
Terpinen-4-ol	12,156		0,9			0,4	0,3	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
Decanal	12,203		1,4			11,5	4,9	0,6	7,5	1,9	0,2	1,0
Sabinaketone	12,252			0,5								

L'ACP réalisée à partir des productions de COV de différentes plantes permet de différencier le plantain et la menthe poivrée, alors que le romarin, le lavandin et le basilic forment un même groupe (Figure 16).

La figure 16 représente l'ACP représentée pour les différentes plantes : le plantain, le basilic, le lavandin, la menthe poivrée et le romarin « Esselte ». L'ACP est représentée selon les axes 1 et 2, qui expliquent respectivement 38.36% et 20.17% de l'inertie totale. Au total, 58.53% de l'inertie totale sont expliqués selon ces axes. On peut distinguer trois grands groupes : un premier qui contient le romarin, le lavandin et le basilic, un autre qui contient le plantain et le dernier qui contient la menthe poivrée.

La figure 17 représente les COV selon les axes 1 et 2. L'eucalyptol a fortement contribué à la construction de l'axe 1, alors que le menthofuran le l-menthone, le carvone et le pulegone ont fortement contribué à la construction de l'axe 2.

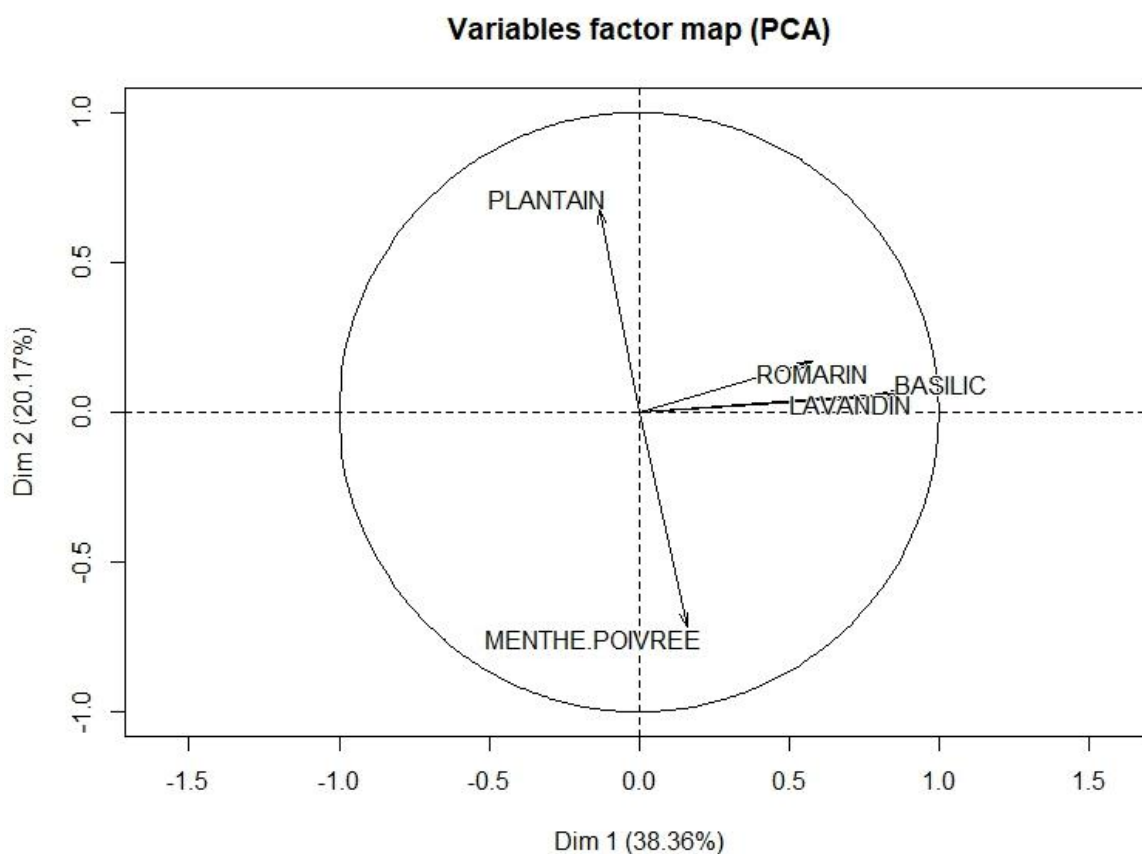


Figure 16 : ACP réalisée sur différentes plantes selon leur composition en COV (carte des espèces).

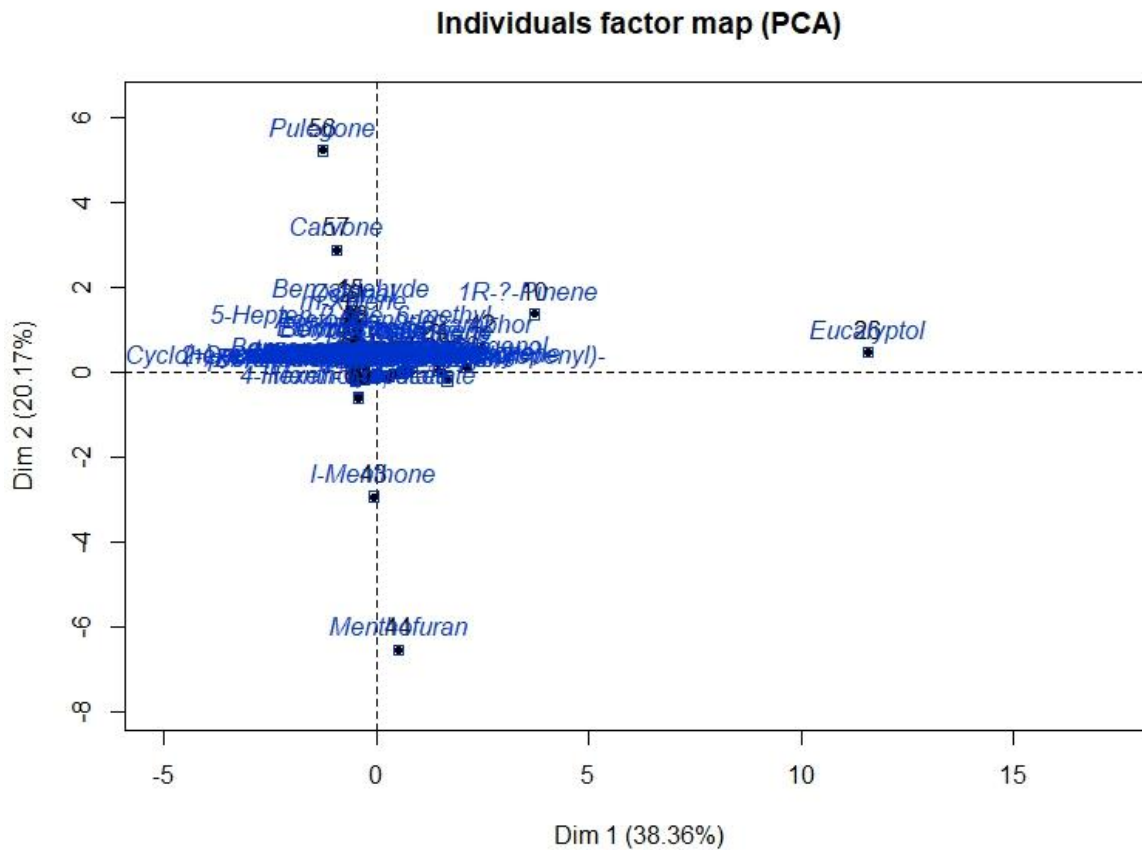


Figure 17 : ACP réalisée sur différentes plantes selon leur composition en COV (carte des COV).

2.2. COV émis par différentes variétés de romarin

Les cinq COV émis majoritairement diffèrent selon la variété de romarin (tableau 5). Ce sont les mêmes pour le romarin « Voltz Splindler » et le mélange de quatre variétés. La composition en COV du mélange théorique s'avère différente de la composition observée.

Tableau 5 : Pourcentages relatifs des principaux COV détectés chez différentes variétés de romarin. Le mélange romarins théorique est calculé avec les moyennes des quatre variétés le composant. 100% = somme des volatiles identifiés chez une espèce. Les COV sont listés selon leur temps de rétention (RT) en minutes. Les 5 composés majoritaires de chaque plante sont représentés en gras et en couleur.

COV	RT	Romarin Green ginger	Romarin Pyramidal	Romarin Upright	Romarin Osvar 01	Mélange romarins théorique	Mélange romarins	Romarin Voltz splindler	Romarin Esselte
p-Xylene	6,302	10,6	3,0	0,4	2,3	4,1	1,1	0,4	0,3
1R- α -Pinene	7,238	4,7	23,3	7,5	17,0	13,1	27,7	26,1	40,3
Camphene	7,533	2,3	5,1	4,8	5,3	4,3	9,8	17,9	12,3
Benzaldehyde	7,711	7,7				7,7	1,0	0,1	
β -Pinene	7,882		5,3	3,1	6,1	4,8	4,7	2,6	4,4
o-Cymene	8,712		6,8	9,8	3,9	6,8			4,1
D-Limonene	8,823	3,8	6,1	3,5	4,4	4,5	5,7	5,6	4,3
Eucalyptol	8,837		17,7	3,8	10,1	10,5	19,2	23,5	12,3
Nonanal	10,168	14,1	6,3	0,7	9,6	7,7	2,5	0,2	1,1
Camphor	11,435	15,1	5,7	57,6	15,9	23,6	13,0	18,7	15,2
Decanal	12,203	11,5	4,9	0,6	7,5	6,1	1,9	0,2	1,0
SOMME		6,4E+07	2,5E+08	3,4E+08	1,4E+08	2,0E+08	3,9E+08	3,4E+09	9,0E+08

L'ACP réalisée à partir des productions de COV des romarins permet de différencier Osvar 01, Upright et Green Ginger, alors que les variétés Pyramidal, Voltz Splindler et Esselte, ainsi que le mélange de romarins, forment un même groupe (Figure 18).

L'ACP est représentée selon les axes 1 et 2, qui expliquent respectivement 70.48% et 17.52% de l'inertie totale. Au total, 83% de l'inertie totale sont expliqués selon ces axes.

La figure 19 représente les COV selon les axes 1 et 2. L'eucalyptol, le 1R- α -pinene, le camphor et le camphene ont fortement contribué à la construction de l'axe 1. Le camphor et le nonanal ont fortement contribué à la construction de l'axe 2.

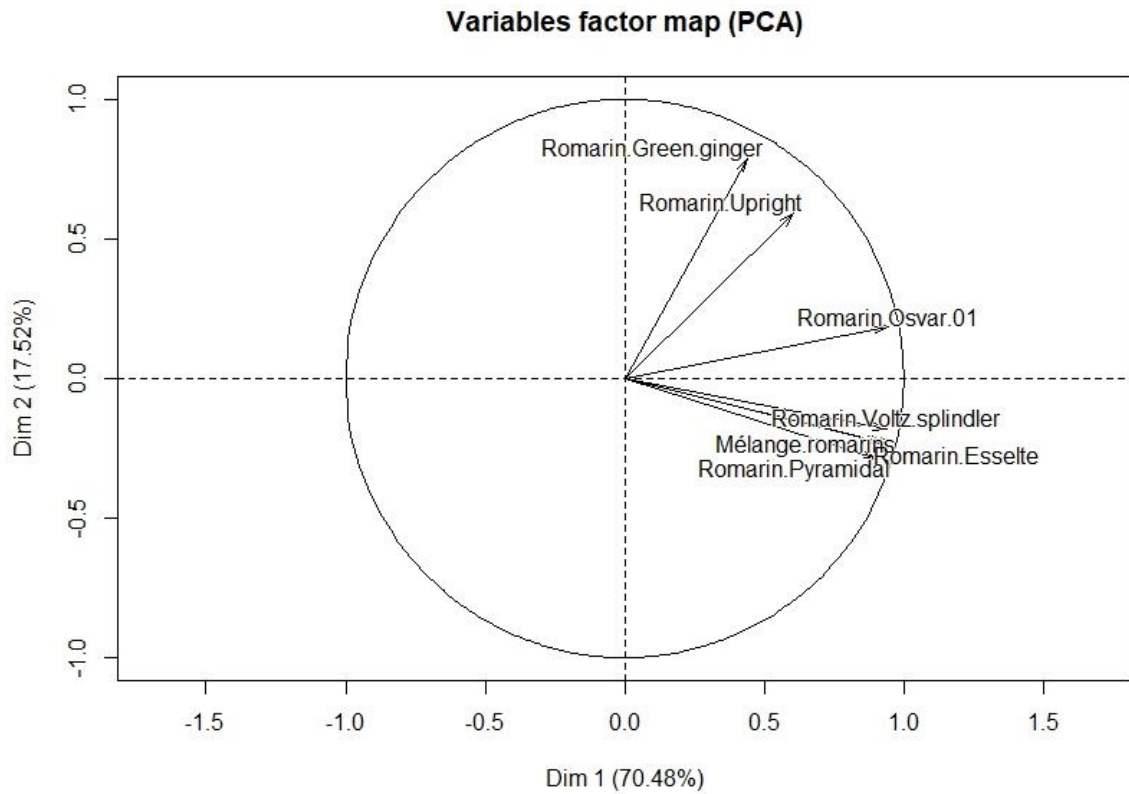


Figure 18 : ACP réalisée sur différentes variétés de romarin selon leur composition en COV (carte des variétés).

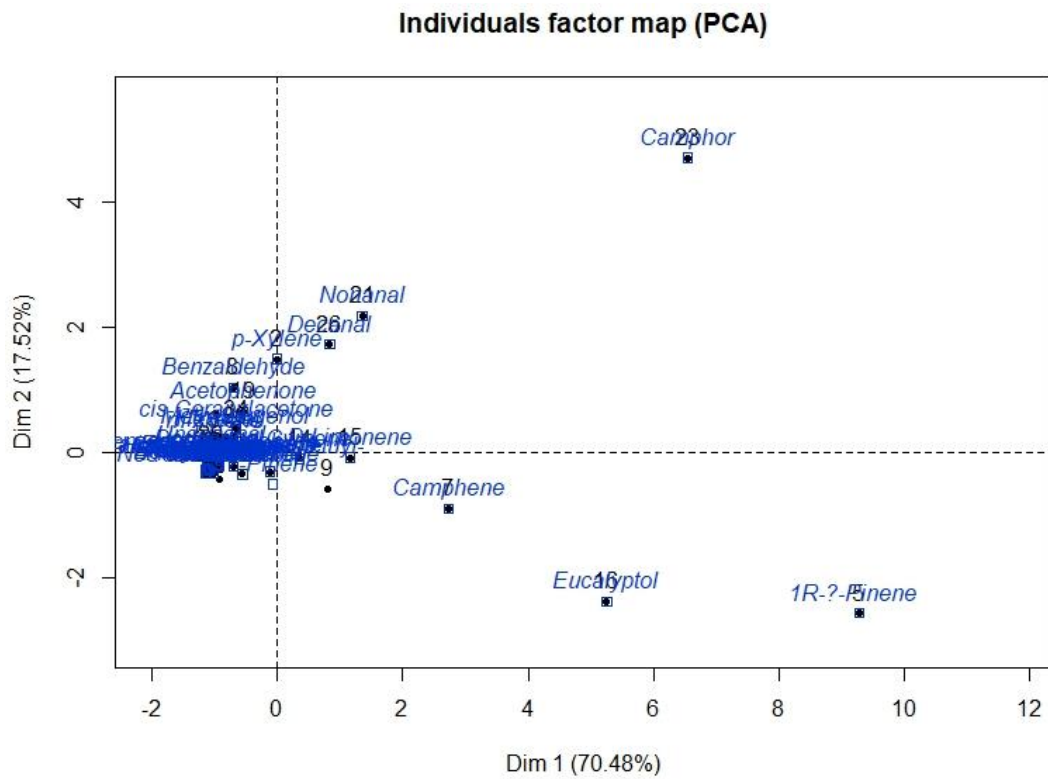


Figure 19 : ACP réalisée sur différentes variétés de romarin selon leur composition en COV (carte des COV).

2.3. Quantification d'un composé chez le romarin

Le tableau 8 représente les quantités d'eucalyptol en femtogrammes détectées dans quatre échantillons de romarin.

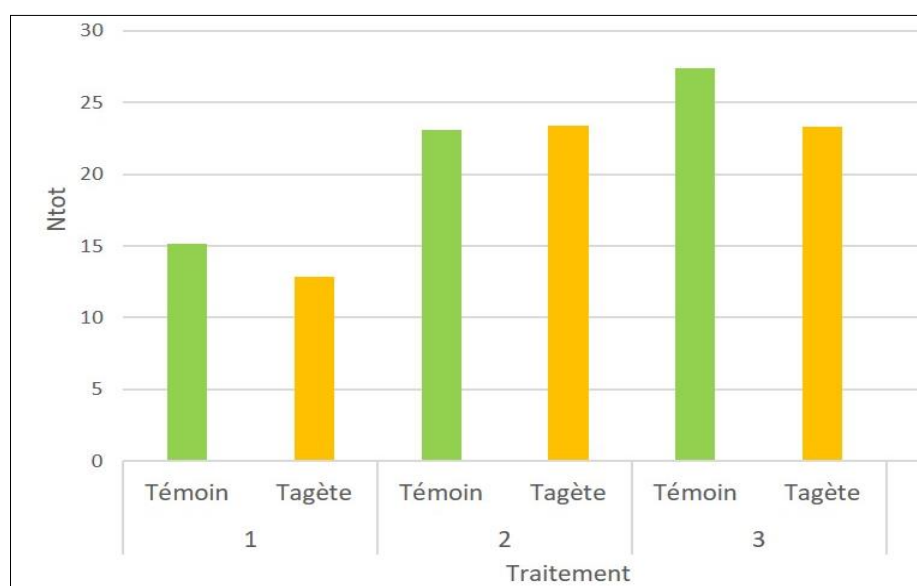
Tableau 8 : Quantification de l'eucalyptol pour quatre variétés de romarin.

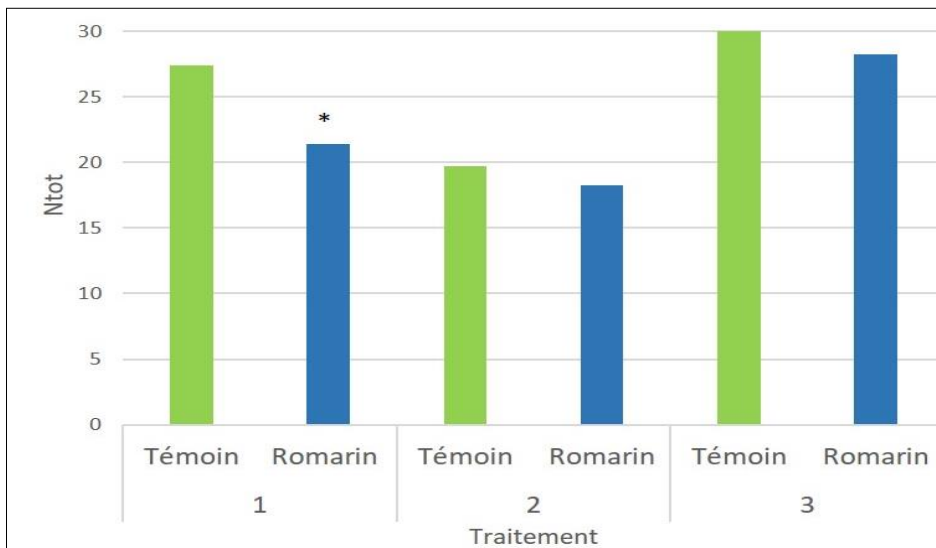
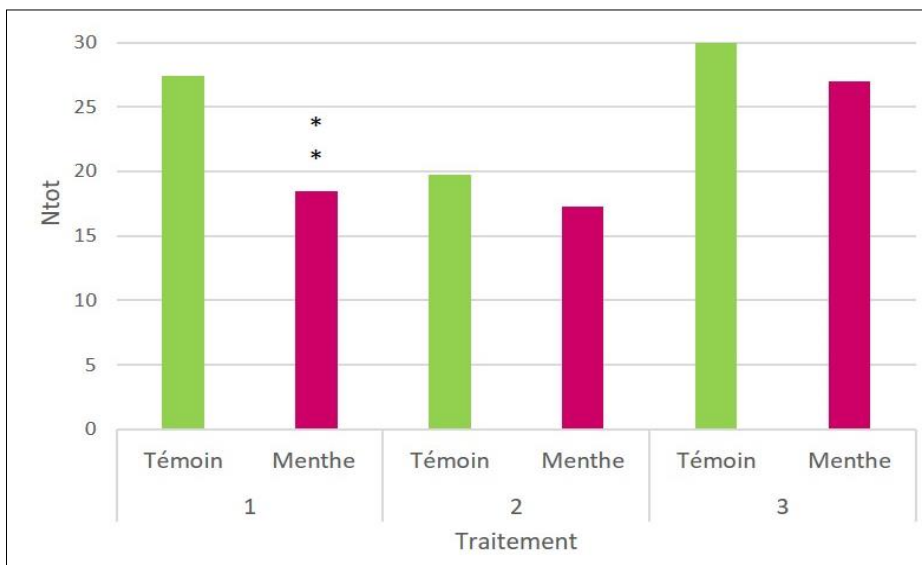
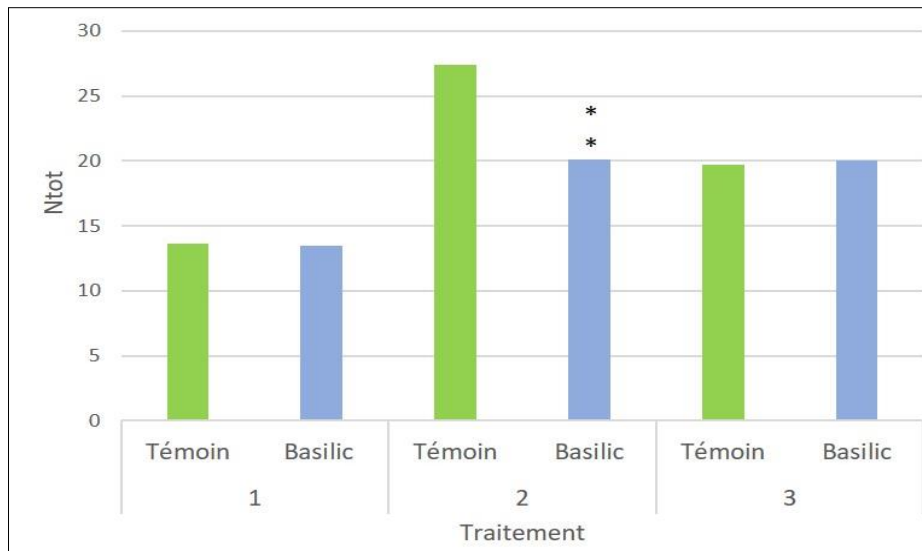
Variété	Quantité basse	Quantité moyenne	Quantité haute
Upright	1468	1901	2333
Pyramidal	6811	7184	7556
Osvar	592	1050	1508
Esselte	20756	21659	22561

Eucalyptol

3. Tests de fécondité

La figure 20 représente le nombre total de larves pondues selon les différents traitements et répétitions. On remarque que les résultats sont assez variables d'une répétition à l'autre. Même si les PdS ont globalement tendance à diminuer le nombre de larves pondues comparativement au lot témoin, cet effet est rarement significatif. C'est le cas pour le basilic et la menthe ($P < 0.001$), le romarin ($P < 0.01$) et le lavandin ($P < 0.05$), pour une des répétitions.





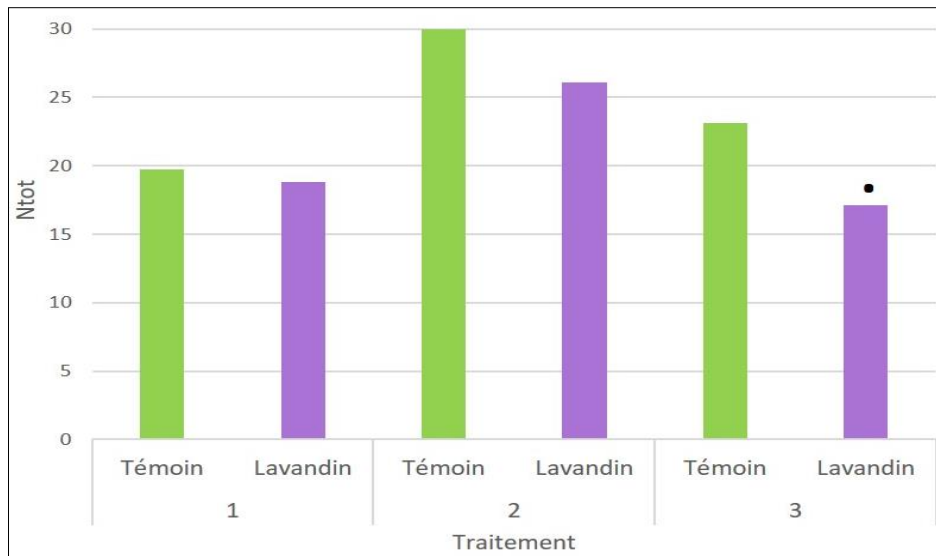


Figure 20 : Nombre total de larves produites selon le traitement à différentes dates. A chaque répétition, 10 répétitions ont été réalisées. Les astérisques indiquent une différence significative par rapport au témoin (. : 0.05, * : $P < 0.01$, ** : $P < 0.001$, *** : $P < 0$).

Discussion

Les objectifs de ce stage étaient les suivants :

- Identifier des plantes aromatiques susceptibles de limiter le développement des populations de *D. plantaginea* ;
- Tester l'efficacité des protocoles utilisés avec *M. persicae* sur *D. plantaginea* ;
- Voir s'il existe une certaine généralité dans les résultats obtenus avec les deux espèces.

1. Mises au point expérimentales

1.1. Validation des protocoles

Ce stage représentant le début des travaux de l'équipe PdS sur *D. plantaginea*, il présente un caractère exploratoire. Cette étude est donc basée sur des techniques et des connaissances acquises précédemment avec *M. persicae*. La première phase de mon stage a donc eu pour objectifs de tester les méthodes employées avec *M. persicae* sur *D. plantaginea*, et de les valider ou de les adapter.

Les premières semaines de travail ont consisté à mettre en place un élevage de *D. plantaginea* sur plantain, pour avoir des adultes disponibles en quantité. La méthode d'élevage utilisée pour *M. persicae* sur poivron a été adaptée. La technique consistait à faire pondre des femelles directement sur des plants de poivron, puis à les retirer après 24h pour laisser les larves sur le plant. Pour faciliter le repérage des femelles, nous les avons placées sur des feuilles, ce qui facilitait leur transfert sur d'autres feuilles après 24h. Celles-ci étaient ensuite déposées sur un plant, ce qui permettait aux larves de migrer sur la plante. Cette technique s'est avérée concluante et a d'ailleurs été adoptée par l'équipe pour un élevage de *M. persicae* sur poivron.

Dans un premier temps, nous avons essayé de caractériser l'effet répulsif des plantes aromatiques par des tests de préférence avec un olfactomètre en Y (Dardouri et al. 2017). Ce dispositif vertical est constitué d'un tube en forme de Y, dans lequel une tige en fer permet aux pucerons de grimper depuis l'entrée de l'olfactomètre jusqu'à la jonction, et d'y faire un choix entre deux modalités olfactives. Ces tests se sont avérés difficiles et peu probants avec les pucerons élevés sur plantain. En effet, l'olfactomètre en Y dont nous disposions avait été conçu pour être adapté à *M. persicae*, et semblait ne pas convenir à la taille des pucerons adultes de *D. plantaginea* élevés sur plantain. Les pucerons élevés sur pommier étant plus gros et plus vigoureux, nous avons donc mis en place une méthode d'élevage pour élever à l'insectarium des pucerons sur de jeunes plants de pommiers. Les essais réalisés avec ces pucerons ont été concluants, cependant nous ne disposions pas de suffisamment de pommiers (du fait de notre manque d'anticipation) pour produire les cohortes de pucerons nécessaires pour l'intégralité de nos tests. C'est pourquoi nous avons décidé de travailler avec les pucerons élevés sur plantain, mais en utilisant un nouvel olfactomètre.

1.2. Validation du dispositif d'olfactométrie

L'olfactomètre tubulaire en dynamique que nous avons utilisé est une conception récente de l'équipe PdS pour évaluer directement la capacité répulsive d'une plante sur le puceron. En effet, la plupart des olfactomètres décrits dans la littérature permettent de réaliser des tests de choix entre plusieurs odeurs et ainsi une appréciation indirecte de l'effet répulsif (Holtmann 1963 ; Hori 1998 ; Ameline et al. 2007). Ce nouvel olfactomètre a également été conçu pour tester l'effet de plantes entières non stressées, en fonctionnement « normal », alors que la grande majorité des essais en laboratoire sont réalisés à partir d'extraits de plantes ou d'huiles essentielles, voire d'organes isolés. Les essais préliminaires auxquels j'ai participé ont permis de valider le protocole expérimental tel qu'il a été décrit (nombre de plantes, nombre de pucerons, débit des flux d'airs, temps des différentes étapes, prélèvement des COV...).

Ainsi, ce dispositif s'est avéré pertinent pour caractériser le pouvoir répulsif de plantes aromatiques entières sur des adultes de *D. plantaginea* élevés sur plantain. Il nous a permis de faire un typage rapide de l'effet d'une dizaine de plantes aromatiques. La réponse attendue des pucerons au témoin positif (répulsion du β -farnésène) du témoin négatif (pas d'effet de l'air), comme l'absence d'effet du plantain ont permis de valider ce dispositif.

Le branchement de deux olfactomètres simultanément sur le circuit diminue le temps d'expérimentation nécessaire pour avoir des résultats, et on peut encore imaginer améliorer l'efficacité des tests en mettant en place les branchements nécessaires à l'ajout de deux olfactomètres supplémentaires.

Le dispositif permet également un prélèvement représentatif et rapide sur cartouche des COV libérés par les plantes.

Ce dispositif constitue donc une approche innovante et rapide pour caractériser la répulsion d'une plante et de composés individuels ou en mélange. Un article méthodologique est en cours de rédaction.

2. Identification de PdS répulsives pour *D. plantaginea*

En présence de plantain, les pucerons restés en position haute à t_f n'ont pas été plus nombreux qu'avec l'air, ce qui suggère que le puceron n'est pas attiré par l'odeur de sa plante hôte. Toutes les plantes testées sauf une variété de romarin (« Upright ») ont provoqué un comportement de fuite chez *D. plantaginea*, à des niveaux plus ou moins accentués. Ces variétés peuvent donc être considérées comme des plantes de service répulsives en conditions contrôlées, dans les quantités et aux stades phénologiques testés.

Nos résultats confirment la capacité répulsive du romarin, du basilic, du lavandin et de la menthe poivrée, déjà observée avec *M. persicae* (Ben Issa 2014). La menthe apparaît très répulsive, ce qui est cohérent avec la littérature (Mekuaninte et al. 2011 ; Ikeura et al. 2012 ; Parker et al. 2013). On observe cependant que le tagète a un effet répulsif direct, alors que les tests réalisés par Dardouri et al (2017) révélaient un effet répulsif indirect de cette même

variété de tagète, nécessitant l'association avec la plante hôte (poivron). Ce résultat révèle une sensibilité différente au message olfactif selon l'espèce de puceron et semble aller à l'encontre d'un effet générique de l'efficacité d'une PdS. Les interactions plantes-insectes sont cependant très complexes et, par exemple, un effet dose n'est pas à exclure pour expliquer ces différences. C'est une question à laquelle nous avons essayé de répondre en réalisant un test avec le lavandin. Le résultat n'est pas très probant puisque nous n'observons aucun effet significatif mais il serait intéressant d'élargir la gamme de concentrations testées pour établir des seuils d'efficacité d'une PdS. Ceci présente d'ailleurs beaucoup d'intérêt dans la perspective de concevoir des systèmes de cultures avec une densité de PdS appropriée.

La détection des COV a permis d'identifier une centaine de COV au total, dont la majorité font partie des monoterpènes et des sesquiterpènes. Nous n'avons pas pu identifier un ou plusieurs composés responsables de l'effet répulsif des plantes. L'ACP permet de différencier la menthe poivrée du romarin, du lavandin et du basilic. Certains des principaux COV émis par la menthe poivrée (menthofuran, l-menthone, menthol-acetate) sont spécifiques de la menthe et caractérisent son odeur reconnaissable.

En testant la répulsion de plusieurs variétés de romarin, nous avons également confirmé l'existence d'un effet variétal pouvant aller d'une absence d'effet (« Upright ») à un effet répulsif fort « Voltz Splindler »). Ces conclusions rejoignent celle de Dardouri et al (soumis) après des essais comparables réalisés sur *M. persicae*. Parmi les différentes variétés testées, le romarin « Voltz Splindler » s'était également avéré le plus répulsif. Dans notre étude, le mélange variétal réalisé s'est avéré plus répulsif que chacun des quatre romarins le composant. Ces différences d'efficacité peuvent être dues à des différences de composition ou de concentration de COV au sein des bouquets olfactifs des différentes variétés, modifiant leur effet sur le puceron (Hori 1998). En l'occurrence, l'effet répulsif semble être potentialisé par le mélange de COV, avec au final un IR comparable au B farnesène. Ceci est intéressant dans la perspective de l'utilisation de ce mélange de romarins dans les projets API-tree et Alto.

En absence de contact physique et visuel, il est évident que le message olfactif des PdS est à l'origine de leur effet répulsif. L'étude des mélanges produits dans des conditions analogues par ces différents romarins montrent des différences sensibles dans la composition et l'importance de certains composés. Cependant, aucune relation évidente ne peut être établie entre ces paramètres et la valeur des IR calculés. L'ACP réalisé à partir des compositions en COV permet de différencier certaines variétés, et en particulier d'isoler « Upright » et « 05var », les deux variétés peu ou pas répulsives. Il est cependant surprenant de constater la proximité entre « Upright » et la variété « Green ginger », qui s'est avérée répulsive.

L'importance de certains composés réputés répulsifs pourrait être une piste explicative, mais leur présence, parfois conséquente chez des plantes peu ou pas répulsives, contredit cette hypothèse. Ainsi le camphre, répulsif (Hori & Komatsu 1997 ; Hori 1998), est très présent chez la variété « Upright », non répulsive. Ceci nous amène à privilégier plutôt l'efficacité d'un mélange de COV plutôt que la somme des efficacités de plusieurs composés.

Il existe des variations importantes dans l'émission des COV, qui dépend de nombreux facteurs internes et externes à la plante (Fiers et al. 2013). Malgré la période de stabilisation des

plantes avant expérimentation, on observe une variation importante dans les réactions des pucerons exposés à une même plante.

La méthode d'identification des COV par GC-MS nous a permis d'identifier une centaine de COV émis par le plantain et les plantes aromatiques en conditions contrôlées. La détection des COV s'est avérée plus performante avec cartouche adsorbante qu'avec fibre SPME. Par exemple, pour la variété « Voltz Splindler », la fibre n'avait permis de détecter qu'une quinzaine de COV (Dardouri et al., soumis) alors que nous en avons détecté vingt-six avec la cartouche. Pour aller plus loin dans l'exploitation des COV, il faudrait arriver à exprimer la production en fonction de la masse de PdS. Notre dispositif le permet, puisque nous pouvons d'une part estimer la concentration d'un COV dans un mélange olfactif, grâce à la réalisation d'une gamme étalon à partir d'un standard pur du commerce (cf exemple de l'eucalyptol), et d'autre part ramener cette production à la masse de plante dans l'enceinte en considérant les débits d'air entrant et sortant. Ce travail fastidieux n'a pas pu être réalisé durant mon stage mais, il est programmé par l'équipe dans les prochains mois. On espère qu'il permettra de mieux comprendre le lien entre le niveau de production d'un ou plusieurs COV et la capacité répulsive d'une PdS.

3. Identification de PdS ayant un effet sur la fécondité de *D. plantaginea*

Même si ces tests sont peu probants, ils suggèrent un effet du basilic, de la menthe, du romarin et du lavandin sur la fécondité de *D. plantaginea*. La grande variabilité des résultats peut en partie s'expliquer par une perturbation des niveaux de ponte des pucerons sur plantain, suite à une attaque de thrips lors de leur production en serre. En effet, les plantains attaqués ont pu libérer des composés de défense perturbant la fécondité des pucerons (Turlings 2006), limitant les différences avec les PdS. Lors de nos tests de répulsion, nous avons d'ailleurs constaté que des plantains attaqués par les thrips devenaient répulsifs. Au demeurant, cet incident, s'il nous prive de répétitions de témoins (tests de répulsion avec plantains sains), nous apporte des informations intéressantes sur la capacité d'une plante hôte à modifier son métabolisme suite à une attaque par un ravageur. En l'occurrence, il semble que le plantain ait modifié sa production de COV, ce qui reste à vérifier par l'analyse (données non analysées dans ce mémoire).

L'effet du tagète, du basilic, du romarin et de la lavande sur la fécondité des femelles de *M. persicae* sur poivron a été mis en évidence par Ben Issa (2014), qui avait réalisé des essais en enceintes climatiques avec des plantes entières. Sánchez Chopa & Descamps (2012) avaient montré une diminution de la fécondité des femelles de *Metopolophium dirhodum* en présence d'huiles essentielles de romarin. Il est donc nécessaire de renouveler nos tests de fécondité avec du matériel végétal sain pour s'assurer que la baisse de la fécondité est bien un moyen d'apprécier l'efficacité des PdS sur le développement de *Dysaphis*.

Conclusion et perspectives

Les travaux réalisés au cours de ce stage ont permis d'identifier des PdS capables de perturber le comportement de *D. plantaginea* en conditions contrôlées. . Après les travaux réalisés sur *M. persicae* par l'équipe PdS de PSH, ces recherches ont permis d'homologuer les aspects techniques du travail avec une seconde espèce de puceron (*D. plantaginea*), et également de valider un nouveau prototype d'olfactomètre conçu par l'équipe. Au regard de la majorité des études sur des PdS entières effectuée au champ (Collier et al. 2003 ; Basedow et al. 2006 ; Lai et al. 2011), notre approche expérimentale, en conditions contrôlées, avec ses nouveaux outils et protocoles, s'avère innovante. Elle constitue un moyen de typage simple, efficace, rapide et reproductible des PdS, pour évaluer leurs performances. En l'occurrence, elle répond à notre attente de sélectionner des PdS destinées à l'expérimentation en verger. Débarrassées de la pression environnementale, les études en laboratoire facilitent également la compréhension des mécanismes biochimiques mis en jeu dans les interactions plantes-insectes. Celles-ci sont très complexes et le rôle évident des COV reste trop mal connu. C'est pourtant une des clés pour optimiser l'efficacité des PdS. L'identification et la quantification des COV libérés par les PdS, en considérant les conditions de production, constitue une étape dans la compréhension des mécanismes. Pour aller plus loin, par exemple dans la compréhension du pouvoir répulsif d'une plante, il serait judicieux de tester l'effet de composés individuels et en mélange sur le comportement du puceron. Une technique comme l'électroantennographie permet d'aller plus encore plus loin en traçant dans un mélange olfactif, des signaux volatils captés par un puceron et non détectés en GC-MS. Cette réalité témoigne de toute la complexité des échanges plantes-insectes et de la difficulté d'identifier le ou les COV responsable(s) d'un effet répulsif.

Les travaux réalisés sur la fécondité de *D. plantaginea* n'ont pas mis en évidence d'effet hautement significatif des PdS, comme cela a pu être fait avec *M. persicae* par Ben Issa et al (2016) en enceinte climatique et plus récemment avec ce même type de dispositif en boîte par Dardouri et al (2017). Compte tenu des problèmes rencontrés dans la production de plants de plantains sains, nous pensons nécessaire de renouveler ces tests. On peut également envisager de tester ces PdS en enceinte climatique, en utilisant des clip-cages (cf. annexe) pour faciliter le suivi de ponte des femelles.

À présent, l'équipe souhaite poursuivre mon travail de screening en testant d'autres plantes d'intérêt selon la littérature. Par exemple, l'ail s'est avéré efficace face à plusieurs espèces de pucerons (Potts & Gunadi 1991 ; Amarawardana et al. 2007 ; Mutiga et al. 2010), il serait donc intéressant d'étudier son effet sur le puceron cendré. Ben Issa (2014) a également montré un effet indirect des PdS sur le poivron, qui devenait répulsif pour *M. persicae* après avoir été placé pendant plusieurs jours à proximité de PdS sous serre. Il serait intéressant de tester ce pré-conditionnement sur le plantain mais aussi le pommier, ou encore de tester en olfactomètre l'effet d'un mélange plantain-PdS ou pommier-PdS sur *D. plantaginea*. La phase exploratoire du stage a montré la possibilité et la pertinence d'un élevage de *D. plantaginea* sur pommier qui permettrait d'utiliser l'olfactomètre en Y. Il serait ainsi intéressant de confronter les résultats obtenus avec les 2 types d'olfactomètres, ce qui constituerait un test de validation supplémentaire de l'olfactomètre tubulaire.

L'effet indirect d'une PdS sur le métabolisme de la plante hôte peut aussi provoquer un effet anti-appétant chez le puceron (T Dardouri, communication personnelle). Des techniques d'étude de cet effet existent, comme l'électropénétrographie (EPG), qui permet de suivre le mouvement du stylet du puceron, de sorte à savoir quand il se nourrit (Backus et al. 2016). Des tests EPG peuvent également être envisagés pour expliquer l'effet des PdS sur la fécondité de *D. plantaginea*.

Lors d'études en conditions contrôlées, il est difficile d'appréhender le volet agronomique des PdS. Le screening que nous avons réalisé nous a permis d'identifier des PdS d'intérêt : la menthe poivrée, le lavandin et le romarin Voltz Splindler semblent être des choix pertinents pour réaliser des études en verger. Il faudra toutefois adapter le choix de plantes d'intérêt aux conditions de culture, aux contraintes et aux objectifs de production du verger. Il sera alors nécessaire de prendre en compte les caractéristiques de la PdS : hauteur, vitesse de croissance, sensibilité aux ravageurs et aux facteurs environnementaux, irrigation nécessaire, etc. Par exemple, si la menthe poivrée est efficace dans certaines conditions, est-elle efficace à tout âge ? À quelle densité ? Quels sont les inconvénients possibles à sa présence en verger ? Les réponses à ces questions pourront nous guider pour établir les meilleures conditions d'introduction de ces PdS lors des essais en verger à venir dans le cadre des projets API-Tree et Alto.

Références bibliographiques

A

Albert, L. (2017). Régulation naturelle du puceron cendré et aménagements agro-écologiques : l'exemple des vergers cidricoles du nord-ouest de la France. 241pp.

Altieri, M.A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. In *Invertebrate Biodiversity as Bioindicators of Sustainable Landscapes*, M.G. Paoletti, ed. (Amsterdam: Elsevier), pp. 19–31.

Amarawardana, L., Bandara, P., Kumar, V., Pettersson, J., Ninkovic, V., and Glinwood, R. (2007). Olfactory response of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) to volatiles from leek and chive: potential for intercropping with sweet pepper. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science* 57, 87–91.

Ameline, A., Couty, A., Dugravot, S., Campan, E., Dubois, F., and Giordanengo, P. (2007). Immediate alteration of *Macrosiphum euphorbiae* host-plant selection behaviour after biotic and abiotic damage inflicted to potato plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 123, 129–137.

Andow, D.A. (1991). Vegetational Diversity and Arthropod Population Response. *Annual Review of Entomology* 36, 561–586.

Angeli, G., and Simoni, S. (2006). Apple cultivars acceptance by *Dysaphis plantaginea* Passerini (Homoptera: Aphididae). *J Pest Sci* 79, 175–179.

Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., and Cabras, P. (2006). Chemical Composition, Seasonal Variability, and Antifungal Activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* Essential Oils from Stem/Leaves and Flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 4364–4370.

Atti-Santos, A.C., Pansera, M.R., Paroul, N., Atti-Serafini, L., and Moyna, P. (2004). Seasonal Variation of Essential Oil Yield and Composition of *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) from South Brazil. *Journal of Essential Oil Research* 16, 294–295.

B

Backus, E.A., Lin, P.A., Chang, C.J., and Shih, H.T. (2016). Electropenetrography : a new diagnostic technology for study of feeding behavior of piercing-sucking insects. *Journal of Taiwan Agricultural Research* 65, 219–237.

Baker, A.C., and Turner, W.F. (1916). MORPHOLOGY AND BIOLOGY OF THE GREEN APPLE APHIS. *Journal of Agricultural Research* 58.

Banks, J.E., and Ekbom, B. (1999). Modelling herbivore movement and colonization: pest management potential of intercropping and trap cropping. *Agricultural and Forest Entomology* 1.

Basedow, T., Hua, L., Aggarwal, N. (2006). The infestation of *Vicia faba* L.(*Fabaceae*) by *Aphis fabaz* (Scop.) (*Homoptera : Aphididae*) under the influence of *Lamiaceae* (*Ocimum basilicum* L. and *Satureja hortensis* L.). *Journal of Pest Science* 79, 149-154.

Ben-Issa, R. (2014). Etude de l'effet de plantes de service (PdS) sur l'installation d'une population du puceron *Myzus persicae* (Hemiptera Aphididae): mise en évidence du rôle des composés organiques volatils (COV). 185pp.

Ben-Issa, R., Gautier, H., Costagliola, G., and Gomez, L. (2016). Which companion plants affect the performance of green peach aphid on host plants? Testing of 12 candidate plants under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 160, 164-178.

Ben-Issa, R., Gomez, L., Gautier, H., Ben-Issa, R., Gomez, L., and Gautier, H. (2017a). Companion Plants for Aphid Pest Management. *Insects* 8, 112.

Ben Issa, R., Gautier, H., and Gomez, L. (2017b). Influence of neighbouring companion plants on the performance of aphid populations on sweet pepper plants under greenhouse conditions. *Agricultural and Forest Entomology* 19, 181–191.

Blackman, R.L., and Eastop, V.F. (2000). Aphids on the world's crops: an identification and information guide. *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide*.

Blommers, L.H.M., Helsen, H.H.M., and Vaal, F.W.N.M. (2004). Life history data of the rosy apple aphid *Dysaphis plantaginea* (Pass.) (Homopt., Aphididae) on plantain and as migrant to apple. *Journal of Pest Science* 77.

Bonnemaison, L. (1959). Le puceron cendré du pommier (*Dysaphis plantaginea* Pass.)—Morphologie et biologie—Méthodes de lutte. *Annales de l'Institut National de La Recherche Agronomique, Série C, Epiphyties* 10, 257–322.

Brown, A.E. (2008). Variability in abundance of the rosy apple aphid (*Dysaphis plantaginea*), the role of its alternate host (*Plantago major*), and potential control strategies in organic apple orchards in British Columbia - UBC Library Open Collections.

Bruce, T.J.A., Birkett, M.A., Blande, J., Hooper, A.M., Martin, J.L., Khambay, B., Prosser, I., Smart, L.E., Wadhams, L.J. (2005). Response of economically important aphids to components of *Hemizygia petiolata* essential oil. *Pest Management Science* 61, 11.

C

Calvet, R. (2015). Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricole, 635pp.

Campbell, C.A.M., Dawson, G.W., Griffiths, D.C., Pettersson, J., Pickett, J.A., Wadhams, L.J., and Woodcock, C.M. (1990). Sex attractant pheromone of damson-hop aphid *Phorodon humuli* (Homoptera, aphididae). *J Chem Ecol* 16, 3455–3465.

Castillo, L., Gonzáles-Coloma, A., Gonzáles, A., Diaz, M., Santos, E., Alonso-Paz, E., Bassagoda, M.J., and Rossini, C. (2009). Screening of Uruguayan plants for deterrent activity against insects. *Industrial Crops and Products* 29, 235-240.

Chesnais, Q. (2016). Intégration de la Cameline au sein des agro-écosystèmes : des relations multi-trophiques complexes. 231 pp.

Cicoella, A. (2008). Les composés organiques volatils (COV) : définition, classification et propriétés. *Revue des Maladies Respiratoires* 25, 155–163.

Collier, R.H., and Finch, S. (2003). The effect of increased crop diversity on colonisation by pest insects of brassica crops. British Crop Protection Council: Farnham, UK 439–444.

Cruz de Boelpaep, M.O., Filipe, N.M., and Afonso, V.C. (1987). Dynamique des populations aphidiennes en verger de pommiers. Leurs fluctuations saisonnières dans la province de Beira-Baixa (Portugal) en fonction des facteurs de l'environnement. *La Défense Des Végétaux* 246, 16.

Cunningham, S.J. (1998). *Great Garden Companions: A Companion-Planting System for a Beautiful, Chemical-Free Vegetable Garden*. Rodale books, 256pp.

D

Dardouri, T., Gautier, H., Costagliola, G., and Gomez, L. (2017). Integrated Protection of Fruit Crops 123, 71-78.

De Berardinis, E., Baronio, P., and Baumgärtner, J. (1994). The effect of aphid (*Dysaphis plantaginea* pass., Hom., Aphididae) feeding on apple fruit growth. *Ecological Modelling* 72, 115–127.

Deletre, E., Martin, T., Campagne, P., Bourguet, D., Cadin, A., Menut, C., Bonafos, R., and Chandre, F. (2013). Repellent, Irritant and Toxic Effects of 20 Plant Extracts on Adults of the Malaria Vector *Anopheles gambiae* Mosquito. *PLoS ONE* 8.

Deletre E., Chandre, F., Williams, L., Duménil, C., Menut, C. and Martin, T. (2015). Electrophysiological and behavioral characterization of bioactive compounds of the *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon winterianus*, *Cuminum cyminum* and *Cinnamomum zeylanicum* essential oils against *Anopheles gambiae* and prospects for their use as bednet treatments. *Parasit Vectors* 8.

Dib, H. (2010). Rôle des ennemis naturels dans la lutte biologique contre le puceron cendré, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera aphididae) en vergers de pommiers. 252pp.

Dib, H., Simon, S., Sauphanor, B., Capowiez, Y. (2010). The role of natural enemies on the population dynamics of the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera: Aphididae) in organic apple orchards in south-eastern France. *Biological Control* 55, 97-109.

Dixon, A.F.G. (1977). *Aphid Ecology: Life Cycles, Polymorphism, and Population Regulation*. *Annual Review of Ecology and Systematics* 8, 329–353.

Dixon, A.F.G. (1998). *Aphid ecology: an optimisation approach*. Chapman and Hall.

Dudareva, N., and Negre, F. (2005). Practical applications of research into the regulation of plant volatile emission. *Current Opinion in Plant Biology* 8, 113–118.

Dudareva, N., Klempien, A., Muhlemann, J.K., and Kaplan, I. (2013). Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytologist* 198, 16–32.

F

Fiers, M., Lognay, G., Fauconnier, M.L., and Jijakli, M.H. (2013). Volatile Compound-Mediated Interactions between Barley and Pathogenic Fungi in the Soil. *PLoS ONE*.

Finch, S., and Collier, H. (2012). The influence of host and non-host companion plants on the behaviour of pest insects in field crops. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 142.

Forrest, J.M.S. (1987). GALLing aphids. Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control World Crop Pests, Vol 2A, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, Pays-Bas. 341-354.

Forrest, J.M.S., and Dixon, A.F.G. (1975). The induction of leaf-roll galls by the apple aphids *Dysaphis devecta* and *D. plantaginea*. *Annals of Applied Biology*, 81.

Foster, S.P., Harrington, R., Dewar, A.M., Denholm, I., Devonshire, A.L. (2002). Temporal and spatial dynamics of insecticide resistance in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Pest Management Science* 59, 895-907.

G

Gershenzon, J., McConkey, M.E., and Croteau, R.B. (2000). Regulation of Monoterpene Accumulation in Leaves of Peppermint. *Plant Physiology* 122, 205–214.

González-Coloma, A., Martín-Benito, D., Mohamed, N., García-Vallejo, M.C., and Soria, A.C. (2006). Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochemical Systematics and Ecology* 34, 609–616.

Grechi, I., Sauge, M-H., Sauphanor, B., Hilgert, N., Senoussi, R., and Lescouret, F. (2008). How does winter pruning affect peach tree–*Myzus persicae* interactions? *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 128.

Guitton, Y. (2010). Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula*: aspects évolutifs et physiologiques. 255pp.

H

Heil, M. (2010). Within-Plant Signalling by Volatiles Triggers Systemic Defences. In *Plant Communication from an Ecological Perspective*, F. Baluška, and V. Ninkovic, eds. (Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg), pp. 99–112.

Hendel-Rahmanim, K., Masci, T., Vainstein, A., and Weiss, D. (2007). Diurnal regulation of scent emission in rose flowers. *Planta* 226, 1491–1499.

Hokkanen, H.M.T. (1991). Trap Cropping in Pest Management. *Annual Review of Entomology* 36, 119–138.

Holtmann, H. 1963. Untersuchungen zur Biologie der Getreide-Thysanopteren. Teil II. Z.

Angew. Entomol. 51:285–299.

Hori, M. and Komatsu, H. (1997). Repellency of Rosemary Oil and Its Components against the Onion Aphid, *Neotoxoptera formosana* (TAKAHASHI) (Homoptera, Aphididae). *Applied Entomology and Zoology* 32, 303-310.

Hori, M. (1998). Repellency of Rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in a greenhouse. *Journal of Chemical Ecology* 24, 1425-1432.

Hori, M. (1999). Antifeeding, settling inhibitory and toxic activities of labiate essential oils against the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera : Aphididae). *Applied Entomology and Zoology* 34.

Hurej, M. (2000). Trap plants and their application in plant protection against pests. *Progress in Plant Protection* 40, 249–253.

I

Ikeura, H., Kobayashi, F., and Hayata, Y. (2012). Repellent Effect of Herb Extracts on the Population of Wingless Green Peach Aphid, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Agricultural Science* 4, 139-144.

Inserm (2013). Pesticides : Effets sur la santé. Rapport. Paris : Inserm (Expertise collective). 1001pp.

J

Johnson, C.B., Kazantzis, A., Skoula, M., Mitteregger, U., and Novak, J. (2004). Seasonal, populational and ontogenic variation in the volatile oil content and composition of individuals of *Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*, assessed by GC headspace analysis and by SPME sampling of individual oil glands. *Phytochemical Analysis* 15, 286–292.

L

Lai, R. You, M., Lotz, L., Vasseur, L. (2011). Response of green peach aphids and other arthropods to garlic intercropped with tobacco. *Agronomy Journal* 103, 856-863.

Lathrop, F.H. (1928). The Biology of Apple Aphids. *The Ohio Journal Of Science*, 18, 177-204.

Lombaert, E., Boll, R., and Lapchin, L. (2006). Dispersal strategies of phytophagous insects at a local scale: adaptive potential of aphids in an agricultural environment. *BMC Evolutionary Biology*. 6-75.

Lu, W., Hou, M., Wen, J., and Li, J. (2007). Effects of plant volatiles on herbivorous insects. *Plant Protection*.

M

Mathews, C.R., Bottrell, D.G., and Brown, M.W. (2004). Habitat manipulation of the apple orchard floor to increase ground-dwelling predators and predation of *Cydia pomonella* (L.)

(Lepidoptera: Tortricidae). *Biological Control* 30, 265–273.

Mekuaninte, B., Yemataw, A., Alemseged, T., and Nagappan, R. (2011). Efficacy of *Melia azedarach* and *Mentha piperata* plant extracts against cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae). *World Applied Science Journal* 12, 2150-2154.

Miñarro, M., and Dapena, E. (2007). Resistance of Apple Cultivars to *Dysaphis plantaginea* (Hemiptera: Aphididae): Role of Tree Phenology in Infestation Avoidance. *Environmental Entomology* 36, 1206–1211.

Muñoz-Bertomeu, J., Ros, R., Arrillaga, I., and Segura, J. (2008). Expression of spearmint limonene synthase in transgenic spike lavender results in an altered monoterpene composition in developing leaves. *Metabolic Engineering* 10, 166–177.

Mutiga, S.K., Gohole, L.S., and Auma, E.O. (2010). Effects of integrating companion cropping and nitrogen application on the performance and infestation of collards by *Brevicoryne brassicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 134, 234–244.

N

Nicolas, A., Dagbert, T., Goff, G.L., and Hance, T. (2015). La lutte biologique contre le puceron cendré du pommier par des lâchers d'auxiliaires en verger. 34pp.

Ninkovic, V., Dahlin, I., Vucetic, A., Petrovic-Obradovic, O, Glinwood, R., and Webster, B. (2013). Volatile Exchange between Undamaged Plants - a New Mechanism Affecting Insect Orientation in Intercropping. *PLoS ONE* 8.

P

Parker, J.E., Snyder, W.E., and Rodriguez-Saona, G.C.H. and C. (2013). Companion Planting and Insect Pest Control. *Weed and Pest Control - Conventional and New Challenges*.

Pichersky, E., Noel, J.P., and Dudavera, N. (2006). Biosynthesis of Plant Volatiles: Nature's Diversity and Ingenuity. *Science* 311, 808–811.

Pichersky, E., and Gershenzon, J. (2002). The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology* 5, 237–243.

Pickett, J.A., Wadhams, L.J., Woodcock, C.M., and Hardie, J. (1992). The Chemical Ecology of Aphids. *Annual Review of Entomology* 37, 67–90.

Pollier, A. (2016). Interactions entre végétation des habitats semi-naturels, pratiques agricoles et contrôle biologique des ravageurs des cultures - Optimisation de l'approche bande fleurie. 251pp.

Potting, R.P.J., Perry, J.N., and Powell, W. (2005). Insect behavioural ecology and other factors affecting the control efficacy of agro-ecosystem diversification strategies. *Ecological Modelling* 182, 199–216.

Potts, M.J., and Gunadi, N. (1991). The influence of intercropping with *Allium* on some insect

populations in potato (*Solanum tuberosum*). *Annals of Applied Biology* 119.

Powell, G., Tosh, C.R., and Hardie, J. (2006). HOST PLANT SELECTION BY APHIDS: Behavioral, Evolutionary, and Applied Perspectives. *Annual Review of Entomology* 51, 309–330.

Q

Qubbaj, T., Reineke, A., and Zebitz, C.P.W. (2005). Molecular interactions between rosy apple aphids, *Dysaphis plantaginea*, and resistant and susceptible cultivars of its primary host *Malus domestica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115.

R

Raguso, R.A. (2008). Wake Up and Smell the Roses: The Ecology and Evolution of Floral Scent. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39, 549–569.

Rasmann, S., Köllner, T.G., Degenhardt, J., Hiltbold, I., Toepfer, S., Kuhlmann, U., Gershenzon, J., and Turlings, T.C.J. (2005). Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature* 434, 732–737.

Rousselin, A. (2017). Contribution des pratiques culturales (irrigation et fertilisation azotée) à la gestion des populations de pucerons en verger fruitier: Cas des systèmes pêcher - puceron vert du pêcher (*Prunus persica* - *Myzus persicae*) et pommier - puceron cendré (*Malus domestica* - *Dysaphis plantaginea*). 144.

S

Sánchez Chopa, C., and Descamps, L.R. (2012). Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest. *Pest Management Science* 68, 1492–1500.

Sauvion, N., Calatayud, P.A., Thiéry, D., Marion-Poll, F. (2013). Interactions insectes-plantes. Editions Quae, 662pp.

Shrivastava, G., Rogers, M., Wszelaki, A., Panthee, D.R., and Chen, F. (2010). Plant Volatiles-based Insect Pest Management in Organic Farming. *Critical Reviews in Plant Sciences* 29, 123–133.

Simon, S., Bouvier, J-C., Debras, J-F., Sauphanor, B. (2010). Biodiversity and pest management in orchard systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 30, 139-152.

Schröder, R., and Hilker, M. (2008). The Relevance of Background Odor in Resource Location by Insects: A Behavioral Approach. *BioScience* 58, 308-316.

T

Tang, G.B., Song, B.Z., Zhao, L.L., Sang, X.S., Wan, H.H., Zhang, J., and Yao, Y.C. (2013). Repellent and attractive effects of herbs on insects in pear orchards intercropped with aromatic plants. *Agroforestry Systems* 87, 273-285.

Thorsteinson, A.J. (1960). Host Selection in Phytophagous Insects. *Annual Review of Entomology* 5, 193–218.

Tomova, B.S., Waterhouse, J.S., and Doberski, J (2005). The effect of fractionated Tagetes oil volatiles on aphid reproduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115, 153–159.

Turlings, T.C., Tumlinson, J.H., Lewis, W.J. (1990). Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* 250, 1251-1253.

Turlings, T.C., and Ton, J. (2006). Exploiting scents of distress: the prospect of manipulating herbivore-induced plant odours to enhance the control of agricultural pests. *Current Opinion in Plant Biology* 9, 421–427.

U

Uvah, I.I.I., and Coaker, T.H. (1984). Effect of mixed cropping on some insect pests of carrots and onions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 36, 159–167.

V

Van Dam, N.M., Harvey, J.A., Wäckers, F.L., Bezemer, T.M., van der Putten, W.H., and Vet, L.E.M. (2003). Interactions between aboveground and belowground induced responses against phytophages. *Basic and Applied Ecology* 4, 63–77.

Van Emden, H., Eastop, V.F., Hughes, R.D., and Way, M.J. (1969). The Ecology of Myzus persicae. *Annual Review of Entomology* 14, 197-270.

Visser, J.H., and Avé, D.A. (1978). GENERAL GREEN LEAF VOLATILES IN THE OLFACTORY ORIENTATION OF THE COLORADO BEETLE, LEPTINOTARSA DECEMLINEATA. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 24.

Voirin, B., and Bayet, C. (1996). Developmental changes in the monoterpene composition of *Mentha x piperita* leaves from individual peltate trichomes. *Phytochemistry* 43, 573–580.

W

Wyss, E., and Daniel, C. (2004). Effects of autumn kaolin and pyrethrin treatments on the spring population of *Dysaphis plantaginea* in apple orchards. *Journal of Applied Entomology* 128, 147–149.

Sitographie

Communication PAC : COMMUNICATION DE LA COMMISSION AU PARLEMENT EUROPÉEN, AU CONSEIL, AU COMITÉ ÉCONOMIQUE ET SOCIAL EUROPÉEN ET AU COMITÉ DES RÉGIONS. La PAC à l'horizon 2020: Alimentation, ressources naturelles et territoire - relever les défis de l'avenir.

https://ec.europa.eu/agriculture/sites/agriculture/files/cap-post-2013/communication/com2010-672_fr.pdf. Dernière date de consultation : 14/06/2018.

Ecophyto : Écophyto - Réduire et améliorer l'utilisation des phytos | Alim'agri. <http://agriculture.gouv.fr/ecophyto>. Dernière date de consultation : 06/08/2018.

Encyclop'aphid. Encyclop-aphid : l'encyclopédie des pucerons. Turpeau, E., Hullé, M., and Chaubet, B. <https://www6.inra.fr/encyclopedie-pucerons/Especes/Pucerons/Dysaphis/D.-plantaginea>. Dernière date de consultation : 09/08/2018

Ephy-ANSES. E-phy : Le catalogue des produits phytopharmaceutiques et de leurs usages, des matières fertilisantes et des supports de culture autorisés en France.

https://ephy.anses.fr/resultats_recherche/produits?f%5B%5D=usg%3A4388&uop=or&f%5B%5D=list_type_usage%3A20100401000000000001&origin=Y3VsdHVyZTE9UG9tbWllciZjdWxOdXJlMj0mbnVpc2libGUxPVB1Y2Vybn25zJm51aXNpYmxlMj0mbW9kZT0mZiU1QjAINUQ9bGlzdF90eXBIX3VzYWdlJTNBmAxMDA0MDEwMDAwMDAwMDAwMDE%3D. Dernière date de consultation : 03/09/2018.

Ephytia hypp : Ephytia : identifier / connaître / maîtriser. Jaloux, B. <http://ephytia.inra.fr/fr/C/16405/Hypp-encyclopedie-en-protection-des-plantes-Characteristiques-du-ravageur-et-de-ses-degats> . Dernière date de consultation : 10/08/2018.

Annexe

Contribution à une étude expérimentale en verger de pommiers

1. Mise en place du verger expérimental

Dans le cadre du projet API-Tree, des plantes aromatiques ont été placées au printemps dans le verger de pommier Ariane pour étudier la régulation naturelle du puceron cendré en leur présence. Nous avons profité de cette opportunité pour estimer la faisabilité d'un test de fécondité des pucerons au verger.

Six lots de deux pommiers ont été sélectionnés pour chaque modalité (basilic, tagète et ray-grass italien). Il y a donc en tout 18 lots, soient 36 arbres, à étudier. Les pommiers ont été sélectionnés en fonction de leur état et de leur position dans le verger. Entre le 16 et le 18 avril, nous avons placé 6 fois 50 pots de chaque modalité au pied d'un lot de pommiers, ce qui représente un total de 300 pots pour chaque modalité. Le ray-grass italien sert ici de témoin.

L'objectif de ce test, réalisé en mai à l'aide de clip-cages, est d'étudier l'effet de la présence de ces plantes sur la fécondité du puceron cendré. Les pucerons utilisés dans ces expérimentations ont directement été prélevés au verger.

2. Étude de faisabilité d'un test de fécondité au verger

2.1. Conception et installation des clip-cages

Pour observer la fécondité d'un même puceron pendant plusieurs jours, nous avons utilisé des « clip-cages » (Figure 1). Il s'agit de petites cages rondes qui se clipsent autour d'une feuille de pommier. Celles que nous avons utilisées s'inspirent de Chesnais, 2016. Elles ont été conçues puis utilisées avec succès par T. Dardouri durant sa thèse pour suivre sous tunnel la fécondité du puceron vert *Myzus persicae*, élevé sur poivron, en présence ou non de PdS (data non publiées). Une clip-cage est constituée d'une enceinte de 25 mm de diamètre et de 7 mm de hauteur, recouverte par une grille en maille de polyéthylène. L'enceinte s'ouvre et se ferme grâce à une pince à cheveux. La clip-cage se positionne donc sous la feuille, puis se clipse de manière à y enfermer le puceron. Cela permet à la fois de suivre les femelles et d'empêcher l'attaque de prédateurs.

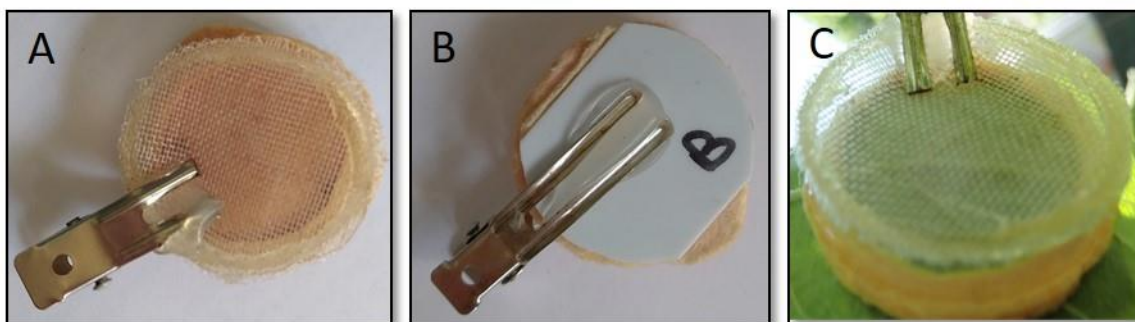


Figure 1 : photos de clip-cages. A : de face ; B : de dos ; C : sur une feuille de pommier (photos : E. Dieudonné).

Pour chacune des deux répétitions, nous avons placé 4 clip-cages par arbre (deux côté Nord et deux côté Sud), ce qui représente 48 cages par traitement, et donc au total 144 cages qui ont toutes été contrôlées, voire réparées avant usage.

2.2. Protocole de suivi de la fécondité

Pour suivre la fécondité des femelles, on procède à un comptage des larves néonates dans les clip-cages. Ce comptage débute dès qu'une larve néonate est observée dans la cage, et s'effectue un jour sur deux pendant deux semaines. A la suite du comptage, les larves sont éliminées pour ne laisser que la femelle adulte dans la cage. Le rayon d'action des PdS étant limité (Ben Issa et al. 2017b), les clip-cages sont placées sur les feuilles basses de l'arbre, à deux hauteurs différentes : entre 50 cm et 1m de hauteur par rapport aux plantes aromatiques (hauteur A), et entre 1m et 1m50 des plantes aromatiques (hauteur B).

2.3. Conclusions

Lors du test de faisabilité d'un essai sur la fécondité de pucerons en verger, nous avons fait différents constats.

Après avoir placé des clip-cages seules sur des feuilles de pommier pendant deux semaines, les feuilles n'étaient pas endommagées et nous avons constaté que les cages restaient bien en place, malgré des conditions météorologiques pas toujours clémentes (beaucoup de mistral et de fortes pluies en avril et en mai). De plus, en déposant des femelles à l'intérieur des clip-cages, nous avons bien constaté que celles-ci ont créé un blocage efficace de la sortie des femelles adultes, qui se nourrissaient sur la feuille et pondaient normalement.

Cependant, nous avons fait face à plusieurs problèmes :

Tout d'abord, ne pouvant pas utiliser les pucerons élevés sur plantain pour ce test, nous avons utilisé des pucerons directement prélevés au verger. Avec le climat très pluvieux de cette année, les pucerons ailés sont apparus à la fin du mois de mai et ils ont donc quitté le verger tôt dans l'année (début juin), ce qui ne nous a laissé qu'un créneau d'un mois pour faire nos tests.

D'autre part, la feuille de pommier est plus petite et moins lisse que celle de poivron. Ses nervures centrales bombées empêchent la clip-cage de bien coller à la feuille, ce qui créé des

petits espaces entre la feuille et la cage. Bien que ces espaces ne permettent pas aux femelles adultes de sortir de la cage, cela n'a pas empêché les larves de s'échapper. De plus, lors de la période d'abondance des forficules et des larves de coccinelle, mi-mai, nous avons retrouvé plusieurs prédateurs à l'intérieur des clip-cages.

Nous concluons donc sur la faisabilité de faire pondre un puceron isolé dans une cage fixée sur une feuille de pommier en verger. Cependant, des adaptations sont indispensables pour mener à terme ce test de fécondité. Ainsi, le type de clip-cages utilisé n'est pas adapté à des tests en verger, sur feuilles de pommier. Pour améliorer ce dispositif, nous proposons d'utiliser des clip-cages plus petites, que nous placerions sur un côté de la feuille, en évitant ainsi la nervure centrale. Une autre solution serait de concevoir des cages formées d'un petit sac en toile de moustiquaire, qui entourerait entièrement la feuille. Nous préconisons également de démarrer les tests début avril pour avoir un nombre de répétitions suffisantes.

3. Étude de faisabilité d'un test de prédation au verger

3.1. Matériels et méthodes

Cette expérimentation s'inscrit dans le cadre du projet API-Tree, et vise à évaluer l'effet de l'installation des plantes aromatiques sur le taux de prédation de *D. plantaginea* en verger.

Pour cela, nous avons placé des « cartes de prédation » dans le verger, formées d'un morceau de ruban adhésif double face collé sur un morceau de papier vert (Figure 2). Entre le 15 mai et le 15 juin, des pucerons adultes, prélevés au verger, ont été collés sur ces cartes, à raison de trois femelles par carte (n0). Ces cartes sont ensuite collées sur la face dorsale de feuilles de pommier. L'expérimentation a été répétée trois fois. De la même manière que pour les clip-cages, pour chaque répétition, nous avons placé quatre cartes par arbre : deux côté Nord et deux côté Sud, avec à chaque fois une carte placée à hauteur A et une carte à hauteur B. Cela représente 48 cartes par traitement, et donc au total 144 cartes.

Le nombre de pucerons restants sur la carte est ensuite compté au bout de 24 (n1), 48 (n2) et 72 heures (n3).



Figure 2 : à gauche, une carte de prédation collée sur une feuille de pommier. À droite, un forficule juvénile (*f. auricularia*) consommant un puceron sur une carte. (Photos : E.Dieudonné)

Les différences entre n_0 , n_1 , n_2 et n_3 pour les différentes modalités (ray-grass, tagète et basilic) ont été analysées par une régression logistique (famille de lien binomiale) via le modèle généralisé de Rstudio (version 0.99.893).

3.2. Résultats et conclusions

Nous n'avons trouvé aucune différence statistique entre les taux de prédation des différentes modalités. Cependant, la troisième répétition n'a pas pu être prise en compte à cause de fortes pluies pendant toute la durée de l'expérimentation, ce qui a donc limité le nombre de données collectées. En outre, les tests ont été réalisés un peu tardivement alors que les pucerons quittaient déjà l'hôte primaire.

Techniquement, nous avons constaté la faisabilité de ce test en verger. Pour les années suivantes, il serait intéressant de réaliser cette expérimentation pendant toute la durée de présence du puceron sur pommier (début avril à mi-juin), dans l'idée de suivre l'évolution de la prédation pendant cette période, et d'étudier l'effet de la présence des plantes aromatiques au verger.