



**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)**

Refka Ben Issa

► **To cite this version:**

Refka Ben Issa. 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). Agronomie. Université d'Avignon, 2014. Français. NNT : 2014AVIG0658 . tel-01079443

HAL Id: tel-01079443

<https://theses.hal.science/tel-01079443>

Submitted on 2 Nov 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

Présentée pour obtenir le grade de **Docteur en Sciences**
de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

Spécialité : Sciences Agronomiques

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)

par Refka BEN ISSA

Soutenue le 1^{er} Juillet 2014 devant le jury composé de

Anne-Marie CORTESERO	Professeure à l'Université de Rennes 1	Rapporteur
Alain RATNADASS	Directeur de Recherches CIRAD, Montpellier	Rapporteur
Arnaud AMELINE	Maître de conférences à l'UPJV, Amiens	Examineur
Mohammed EL MAATAOUI	Professeur à l'Université d'Avignon	Examineur
Laurent GOMEZ	Ingénieur de Recherches INRA, Avignon	Directeur de thèse
Hélène GAUTIER	Directrice de Recherches INRA, Avignon	Directrice de thèse

Ecole Doctorale : Sciences et Agrosciences, Avignon

Remerciements

Je suis reconnaissante envers mon pays la Tunisie qui grâce à son soutien financier m'a permis de continuer mes études en France.

Je souhaite tout d'abord remercier de tout cœur mes directeurs de thèse Hélène Gautier et Laurent Gomez qui m'ont accueilli dans leur équipe et ont su me guider tout au long de cette thèse. Merci Hélène pour ces enrichissantes discussions, ta réactivité, ton enthousiasme, ta disponibilité durant la phase de rédaction et ton soutien aussi bien moral que financier. Ce manuscrit ne serait pas ce qu'il est sans tes suggestions pertinentes. Merci Laurent pour la confiance que tu m'as accordée dès le début de notre collaboration, ton encadrement et tes conseils avisés. Merci aussi pour ta bonne humeur et ton optimisme contagieux.

Je remercie les membres du jury, Anne-Marie Cortesero, Alain Ratnadass, Arnaud Ameline et Mohamed El Maataoui qui ont accepté de juger mon travail.

Je tiens également à remercier Guy Costagliola pour sa participation à ce travail par les discussions partagées et par son aide importante dans la méthodologie employée. Mon travail n'aurait pas pu être réalisé sans l'aide de Michel, Valérie, Guillaume, Juliette, Vincent, Jean Philippe et José ainsi que tous ceux qui ont contribué au bon déroulement de cette thèse. Je vous remercie du fond du cœur. Je remercie vivement Marie-Hélène Sauge, Alexandra Schoeny pour leurs conseils et regards critiques. Un merci particulier à Pierre Valsesia qui, à ses heures perdues, a résolu les problèmes informatiques auxquels j'étais confronté.

J'adresse un grand merci à Emilie, Rémy, Virginie, Patricia, Delphine, Jean Charles, Mitra, Mariline, Hong Hai, Emmanuelle, Gaëlle... pour leur bonne humeur, les rires et les bons moments que je garde en mémoire. Je remercie Odile, Christine (kiki), qui ont été toujours là pour me relancer dans les périodes difficiles.

Merci à mes amis d'avoir été et d'être toujours là pour moi : merci à ma deuxième sœur Amina pour nos délires et tous les bons moments passés ensemble, Je remercie Klieo pour son soutien moral tout au long de cette thèse malgré l'éloignement, merci à Julie, ma colocataire du bureau, pour son aide précieuse et sa jovialité. Merci aussi à Hajer, Rihem, Hadhami,

Houda, Mohamed. Votre amitié reste gravée dans ma mémoire. Un merci particulier à Hassan pour son écoute et son soutien incessant.

Un énorme Merci à ma famille qui bien que ne comprenant pas toujours ce que je faisais, m'a toujours soutenue et encouragée. Je remercie vivement ma cousine, son mari et la petite Lyna pour les bons week-ends passés à Marseille.

Pour finir, les mots ne suffisent pas pour exprimer tout ce que je ressens envers ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans ce challenge malgré la distance : MES PARENTS. Si je suis là c'est grâce à vous. Beaucoup disent que vous pouvez être fiers de moi, c'est plutôt moi, qui suis fière de vous, cette thèse vous est dédiée...

Sommaire

Chapitre I : Introduction générale	1
Présentation du contexte de l'étude	1
Synthèse bibliographique	5
1. Les pucerons	5
1.1. Taxonomie	5
1.2. Biologie générale	5
1.3. Dégâts	7
1.4. Système sensoriel des pucerons	8
1.4.1. Les organes de vision	8
1.4.2. Les organes d'olfaction	9
1.4.3. Les organes de gustation	10
1.5. Processus de sélection d'une plante hôte	11
1.5.1. Localisation de l'habitat	12
1.5.2. Localisation de l'hôte	13
1.5.3. Acceptation de l'hôte	14
1.5.4. Rôle de l'olfaction dans le comportement de choix	15
2. Les plantes de service offrent des perspectives prometteuses pour lutter contre les pucerons	17
2.1. Concept	17
2.2. Le rôle des plantes de service dans la régulation des pucerons	18
2.2.1. Les plantes qui améliorent la lutte biologique de conservation	20
2.2.2. Les plantes pièges qui attirent les ravageurs loin de la culture principale	22
2.2.3. Les plantes qui perturbent le comportement de sélection de la plante hôte	24
2.2.3.1. Masquage de l'odeur de la plante hôte	24
2.2.3.2. La répulsion par les volatils émis par la plante de service	26
2.2.3.3. Des exemples d'association de plantes de service avec les cultures efficaces contre le puceron	29
2.2.4. Les plantes qui changent le profil de la plante hôte	30
2.2.4.1. Importance des signaux chimiques entre plantes	30
2.2.4.2. Effets de la plante de service sur la plante hôte	31
2.3. Nature des médiateurs chimiques	33
Présentation du travail de thèse	36
Chapitre II : Matériels et méthodes	38
1. Matériels	38
1.1. Le puceron vert du pêcher	38
1.2. La plante hôte	39
1.3. Les plantes de service	40
2. Méthodes	41
2.1. Elevage des pucerons	41
2.2. Prélèvement des COV	42
2.2.1. La Micro extraction en phase solide "SPME "	42
2.2.2. Dispositifs expérimentaux	43
2.2.2.1. Le dispositif de prélèvement statique	43
2.2.2.2. Le dispositif de prélèvement dynamique	44
2.2.3. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse: la GC-MS	45
2.2.3.1. La chromatographie en phase gazeuse (GC)	45
2.2.3.2. Programme thermique	46
2.2.3.2. La spectrométrie de masse (MS)	46
2.2.4. Traitements des données	47
2.2.4.1. Identification des composés volatils	47

2.2.4.2.	Quantification des composés volatils	48
2.3.	Les essais en enceintes climatiques	48
2.4.	Les essais sous tunnels	51
2.4.1.	Acquisition du matériel	51
2.4.2.	Combinaisons testées	51
2.4.3.	Déroulement de l'essai	53
2.4.4.	Prélèvement et identification des COV émis par les PdS	53
Chapitre III : Quelles sont les plantes de service qui peuvent affecter l'installation du puceron vert du pêcher : étude en conditions contrôlées		55
Présentation de l'étude		55
Résumé		57
Abstract		58
1.	Introduction	59
2.	Experimental methods	60
2.1.	Plants	60
2.2.	Insects	61
2.3.	Growth chamber tests	61
2.4.	Volatile compounds analysis	62
2.5.	Statistical analysis	64
3.	Results	65
3.1.	Number of nymphs	65
3.2.	Survival of females	65
3.3.	Daily fecundity	71
3.4.	Volatile compounds analysis	74
4.	Discussion	78
References		82
Chapitre IV : Etude de deux mécanismes d'action d'une plante de service : effet direct sur le puceron ou indirect via des modifications de la plante hôte		89
Présentation de l'étude		89
Résumé		91
1.	Introduction	92
2.	Matériels et méthodes	96
2.1.	Matériels	96
2.2.	Méthodes	96
2.2.1.	Test de préférence de puceron (<i>Myzus persicae</i>) : effet des volatils émis par une plante de service sur les réponses d'orientation du puceron	96
2.2.1.1.	Objectif	96
2.2.1.2.	Dispositif expérimental	96
2.2.1.3.	Protocole expérimental	98
2.2.2.	Effet du pré-conditionnement du poivron avec les plantes de service sur l'installation d'une population de puceron	101
2.2.2.1.	Objectif	101
2.2.2.2.	Pré-conditionnement du poivron	101
2.2.2.3.	Prélèvements des composés volatils	102
2.2.2.4.	Effet du pré-conditionnement sur la performance de <i>Myzus persicae</i>	103
2.2.3.	Test de préférence du puceron (<i>Myzus persicae</i>) : effet des composés volatils émis par une plante de poivron pré-conditionnée sur les réponses d'orientation du puceron	103
2.2.3.1.	Objectif	103
2.2.3.2.	Protocole expérimental	103
2.2.4.	Analyses statistiques	104
3.	Résultats	104
3.1.	Test de préférence du puceron (<i>Myzus persicae</i>) : effet des volatils émis par une plante de service sur les réponses d'orientation du puceron	104

3.2. Test de préférence du puceron (<i>Myzus persicae</i>) : effet des volatils émis par une plante de poivron pré-conditionnée avec une plante de service sur les réponses d'orientation du puceron-----	107
3.3. Effet du pré-conditionnement du poivron avec les plantes de service sur l'installation d'une population de puceron -----	108
3.4. Analyse des COV -----	115
4. Discussion -----	118
Références bibliographiques-----	125
Chapitre V : Etude de l'effet de la présence d'une plante de service sur l'installation des pucerons sur leur plante hôte sous tunnels -----	130
<i>Présentation de l'étude</i> -----	130
<i>Résumé</i> -----	132
<i>Abstract</i> -----	133
1. Introduction -----	134
2. Material and methods -----	136
2.1. Intercropping experiments -----	136
2.1.1. Plants -----	136
2.1.2. Insects -----	136
2.1.3. Experimental set up -----	136
2.2. Distance experiment -----	139
2.3. Volatile organic compounds (VOC) measurements -----	140
2.3.1. VOC collecting dynamic system-----	140
2.3.2. VOC sampling-----	140
2.3.3. VOC Analysis -----	141
2.3. Statistical analysis-----	141
3. Results-----	142
3.3. Intercropping experiments -----	142
3.3.1. Survival -----	142
3.3.2. Fecundity -----	142
3.4. Distance experiment -----	145
3.5. VOCs measurements -----	147
4. Discussion -----	148
References-----	152
Discussion générale -----	156
Conclusions et Perspectives -----	164
Références bibliographiques -----	167

Chapitre I : Introduction générale

Introduction générale

Présentation du contexte de l'étude

Les pucerons constituent un des groupes d'insectes les plus nuisibles au monde. Ce sont des ravageurs redoutables qui infestent la plupart des cultures (Dawson et al. 1990; Dixon 1977; Dong et al. 2011). Leur nuisance est amplifiée par leur formidable pouvoir de multiplication et leur capacité de dispersion qui permettent aux pucerons d'envahir très rapidement une culture (Blackman et Eastop 1984; Blackman et Eastop 2007). Ces insectes sont également les principaux vecteurs de virus végétaux (Emden et al. 1969). Les dégâts qu'ils causent peuvent être très importants et posent de réels problèmes économiques aux producteurs du fait que ces ravageurs peuvent affaiblir les cultures et les rendre impropres à la consommation (Dancewicz et Gabry 2008; Francis et al. 2004; Lai et al. 2011; Pavela et al. 2009).

Pour combattre ce ravageur, la lutte chimique à base d'aphicides systémiques est essentiellement utilisée et assure un contrôle effectif des populations. Cependant, l'utilisation accrue des insecticides au sein des écosystèmes pose souvent de nombreux problèmes environnementaux tels que la pollution du sol, la contamination de l'air, et le contournement des résistances (Devonshire et al. 1998; Foster et al. 2002). Par ailleurs, les producteurs doivent se conformer d'une part à des mesures législatives de plus en plus restrictives sur les prescriptions d'emplois des produits phytosanitaires et d'autre part aux souhaits des consommateurs concernant l'innocuité des produits alimentaires (Amarawardana et al. 2007; Yano 2006).

Pour répondre à ces exigences, différentes méthodes de lutte alternatives à la lutte chimique sont actuellement à l'étude, en particulier dans le cadre du plan Ecophyto 2018 qui appelle à repenser la gestion de la santé des cultures en concevant des systèmes de production moins dépendants des méthodes de lutte chimique et visant une réduction de 50 % de l'utilisation des pesticides en 2018 par rapport à la consommation actuelle. Parmi ces méthodes, on peut citer : la lutte biologique contre les ravageurs, l'emploi de variétés résistantes ou tolérantes, etc.

L'introduction de plantes compagnes ou « de service » (PdS) en association avec les cultures à protéger, présente aujourd'hui une alternative prometteuse pour la lutte contre les ravageurs

(Cunningham 1998; Mutiga et al. 2010; Parker et al. 2013; Spellman et al. 2006). Ce type de compagnonnage a pratiquement disparu, et seule une minorité de producteurs, engagés dans des itinéraires techniques à bas niveaux d'intrants, le pratique (Flowerdew 1997; Matson et al. 1997). Mais l'intensification des systèmes de culture et la monoculture ont entraîné l'augmentation du recours aux intrants et aux produits phytosanitaires pour maintenir les rendements. Dans ces systèmes, la diversité végétale à l'échelle de l'exploitation est réduite à une espèce, plantée uniformément et symétriquement (Jaloux 2011). Ce type de système est désormais remis en question à cause de l'impact négatif sur la qualité du sol et des eaux, l'érosion, la pollution et la perte de biodiversité (Malézieux et al. 2009). Des systèmes d'associations culturales alternatifs, basés sur la gestion raisonnée d'espèces au sein d'une même exploitation, peuvent au contraire présenter de nombreux avantages et représenter des solutions à développer pour réduire les intrants et assurer un meilleur respect de l'environnement.

Des travaux réalisés sur différentes cultures ont montré l'efficacité de l'introduction de certaines plantes de service pour réduire les populations de ravageurs. Ces travaux ont permis d'identifier différents modes d'action des PdS. Nous allons détailler les principaux modes d'action décrits dans la littérature pour aider à lutter contre les pucerons.

Il est connu que les pucerons et les insectes herbivores en général exploitent les informations olfactives pour sélectionner leurs plantes hôtes. Les pucerons utilisent les volatils libérés dans l'atmosphère afin de localiser une plante qui correspond à leur spectre d'hôte (Bruce et al. 2005b; Chapman et al. 1981; Francis et al. 2004; Nottingham et Hardie 1993; Park et Hardie 1998; Pickett et al. 1992; Visser et Piron 1997). L'interprétation de ces informations dépend grandement du contexte général dans lequel ces volatils sont émis. Cependant, la présence de plantes d'espèces différentes avec une plante hôte au sein d'une même exploitation induit la présence de volatils non hôtes et par conséquent peut modifier l'environnement de la plante hôte et les rendre moins détectables (Amarawardana et al. 2007; Beizhou et al. 2012; Lai et al. 2011). Dès lors, nous avons pensé que l'effet bénéfique des plantes de service sur la protection des plantes cultivées pourrait s'expliquer en partie par une perturbation de l'information olfactive dégagée par ces plantes et perçue comme odeurs non hôtes par les pucerons.

Toutefois, malgré les nombreuses études qui montrent l'efficacité d'utilisation de composés volatils, des huiles essentielles et des extraits des plantes de service (Dagar et al. 2011; Gonzalez-Coloma et al. 2006; Hori 1998; Ikeura et al. 2012; Munneke et al. 2004; Pavela 2006; Tomova et al. 2005), le rôle des volatils issus de la plante vivante demeure incertain (Finch et Collier 2012). En outre, les mécanismes expliquant les différents résultats issus de ces travaux n'ont pas été identifiés. Ils font principalement appel à l'hypothèse du potentiel répulsif, dissuasif et anti appétant des substances volatiles qu'elles dégagent vis à vis des insectes (Ikeura et al. 2012; Régnault-Roger 1997). Il serait donc aberrant de généraliser les interprétations dans la mesure où les auteurs ne donnent pas d'explications claires et concises sur les mécanismes en jeu. Parmi les causes pouvant expliquer cette ambiguïté, i) la présence de plusieurs interactions environnementales en conditions naturelles qui peuvent affecter les relations plante-insecte (Andow 1991) et rendent l'hypothèse difficile à interpréter ii) l'incertitude concernant le rôle des volatils sur le comportement de choix des plantes par les pucerons (Potting et al. 2005; Vargas et al. 2005).

Par conséquent, une meilleure connaissance de l'écologie et du comportement de l'insecte en présence de ces plantes en conditions contrôlées pourrait permettre de bien cibler le choix de ces plantes afin d'étudier leur effet avant de promouvoir leur utilisation dans des systèmes de culture. C'est dans ce contexte, que lors de ce travail, nous nous sommes intéressés aux composés volatils produits par les plantes de services vivantes et leur impact sur l'installation et la dynamique d'une population de pucerons en conditions contrôlées.

Bien que les effets de composés volatils sur le comportement du puceron demeurent mal compris, les effets évoqués pourraient être directs ou indirects. Directs, sur les pucerons provoquant leur fuite, leur mortalité ou encore leur faible 'fitness', ou indirects sur la plante hôte modifiant son profil et la rendant moins attractive (Glinwood et al. 2004; Heil et Karban 2010). Il est néanmoins important, une fois que nous avons confirmé l'implication des COV émis par la plante de service vivante dans la perturbation du comportement des pucerons, de comprendre **quels sont les mécanismes susceptibles de provoquer ces effets et quel est le COV ou l'ensemble de COV gouvernant les relations entre les pucerons, la plante de service et la plante hôte?**

L'efficacité d'une plante de service *via* les COV dépend de plusieurs facteurs notamment sa capacité d'émettre suffisamment de volatils affectant le comportement de l'insecte cible, la

densité ou la distance à partir de laquelle elle peut agir. La question à laquelle nous confrontons nos résultats théoriques est la suivante: **Pouvait-on dans des conditions de culture sous serre ou tunnel atteindre des concentrations en COV suffisantes pour qu'elles affectent les dynamiques de développement des pucerons?**

Ce sont autant de questions que j'ai tenté d'aborder dans ce travail de thèse pour espérer pouvoir décrire au mieux le comportement d'un ravageur d'importance économique en présence d'une plante de service et pour ensuite envisager un moyen de lutte préventive efficace.

Synthèse bibliographique

1. Les pucerons

1.1.Taxonomie

Les pucerons appartiennent à l'ordre des Hémiptères et au sous ordre des Sternorrhynques. Ils constituent la super famille des *Aphidoidea* qui est répartie en trois familles: les *Phylloxeridae*, les *Adelgidae* et les *Aphididae* à laquelle appartiennent la plupart des pucerons (Blackman et Eastop 1984). Les pucerons sont extrêmement répandus dans le monde et surtout dans les régions tempérées. On compte au total 4700 espèces de pucerons dont 600 en France. Les pucerons sont des insectes piqueurs suceurs qui s'alimentent exclusivement de sève phloémienne (Blackman et Eastop 1994).

1.2.Biologie générale

Les pucerons présentent une variété de cycles de développement, associant des modes de reproduction sexuée et asexuée en relation étroite avec le spectre de leurs hôtes (Dixon 1998). Les pucerons sont hétérométaboles (à métamorphose incomplète) et hémimétaboles (les stades larvaires ressemblent au stade adulte). Ils sont plurivoltins (présentent plusieurs générations par an). En effet, la majorité des genres de pucerons se nourrissent sur des hôtes appartenant au même genre ou à la même espèce: ils sont dits monophages. Par contre d'autres se nourrissent sur des végétaux de familles différentes: ce sont les polyphages. Leur cycle de développement est généralement holocyclique, c'est-à-dire caractérisé par une phase sexuée alternée d'une phase asexuée où les générations ne comportent que des femelles parthénogénétiques. Cette parthénogénèse permet aux pucerons de se multiplier très rapidement (Ahuja et al. 2010; Riba et Silvy 1989).

En automne, les males et femelles sexués s'accouplent sur leur plante hôte. Une fois fécondées, ces dernières pondent leurs œufs. L'œuf rentre en diapause, constituant une forme de résistance aux conditions climatiques défavorables de l'hiver (notamment le froid). Le cycle de vie débute au printemps lorsque les œufs éclosent et donnent des femelles parthénogénétiques appelées fondatrices (Lombaert et al. 2006; Müller et al. 2001). Généralement, l'éclosion de l'œuf coïncide avec le débourrement des bourgeons. Au fil du temps et lorsque la densité de pucerons augmente, des femelles ailées apparaissent ce qui favorise la migration vers d'autres plantes hôtes établissant ainsi de nouvelles colonies (Blackman et Eastop 1994; Dixon 1998). On observe chez quelques espèces de pucerons la

disparition de la phase de reproduction sexuée et l'enchaînement des générations asexuées tout au long de leur cycle, elles sont dites anholocycliques (Blackman et Eastop 2000).

On définit deux groupes de pucerons en fonction des plantes hôtes sur lesquelles ont lieu les différentes phases de reproduction (sexuée/asexuée). Les espèces dites monœciques réalisent tout leur cycle de développement sur une seule espèce de plante (une ou plusieurs espèces d'herbacées ou d'arbres similaires d'un point de vue botanique). Les espèces dioéciques ou hétéroéciques se développent sur des hôtes différents d'un point de vue botanique et alternent entre hôte primaire (souvent des plantes ligneuses) et hôte secondaire (ces derniers présentent seulement 10% des espèces de pucerons). La phase de reproduction sexuée et les premières générations asexuées produites au printemps ont lieu sur l'hôte primaire, puis les individus se dispersent sur des hôtes secondaires où se déroule la majeure partie de la reproduction asexuée jusqu'à ce que les morphes sexués retournent sur l'hôte primaire (Figure 1.1).

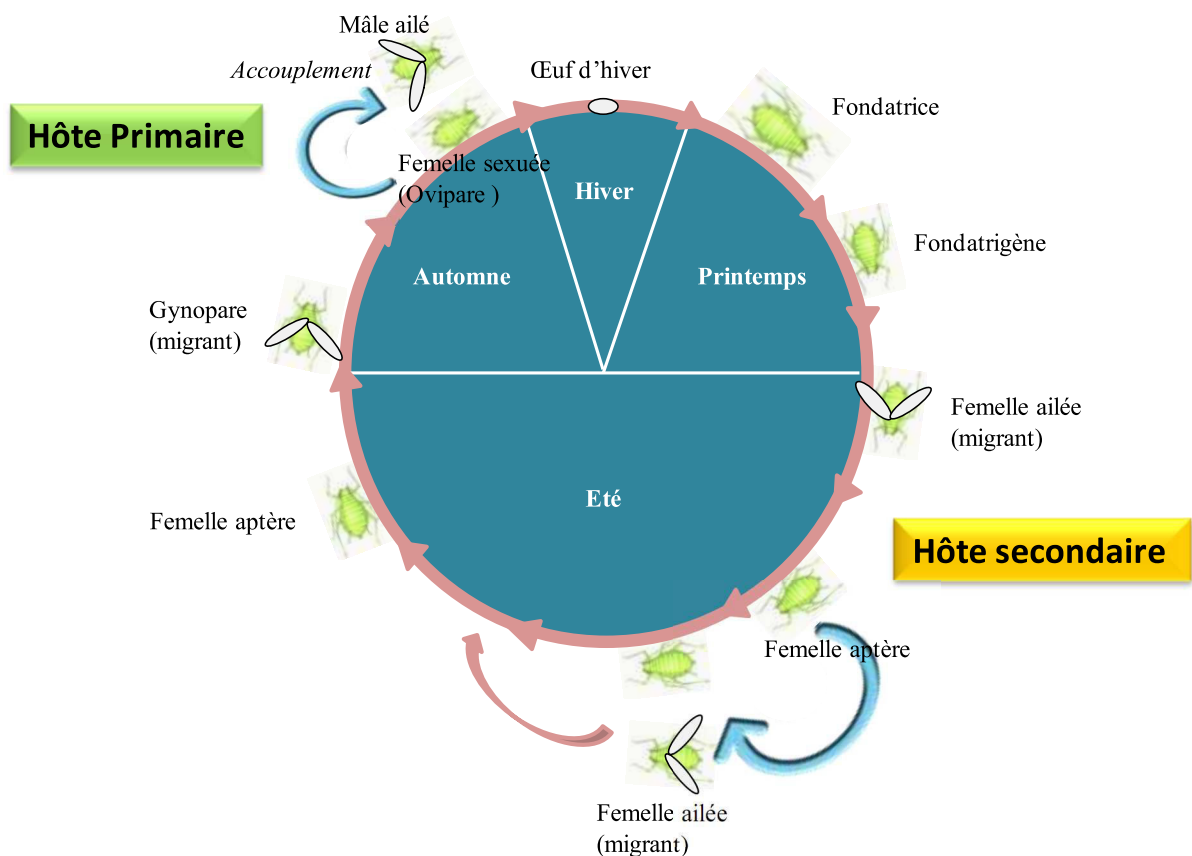


Figure 1.1 : Cycle annuel de vie d'un puceron hétéroécique holocyclique (Dixon, 1998)

On distingue 4 stades larvaires (de L1 à L4) qui durent entre 7 à 10 jours selon le climat et la disponibilité en ressources alimentaires. La durée de vie d'un puceron est de l'ordre de 20 à 30 jours en moyenne (Dixon 1997). Les morphes aptères ont un rôle essentiellement reproductif afin d'assurer la survie de la population. Les morphes ailées sont nécessaires pour la dispersion et la colonisation de nouveaux habitats (Miyazaki 1987; Powell et Hardie 2000). Selon Dixon (1998) l'aptitude d'un clone dépend de l'équilibre entre les deux morphes. La plasticité phénotypique et la capacité d'une population de pucerons à engendrer au sein du même clone des individus aptères et ailés dépendent des conditions du milieu. Ainsi, les individus ailés apparaissent lorsque la densité de la colonie augmente, entraînant une limitation des ressources ou lorsque la qualité de la plante hôte est insuffisante (présence de certaines substances chimiques, qualité nutritive anti-appétante, etc.) (Dixon 1998; Francis et al. 2004; Lombaert et al. 2006; Müller et al. 2001; Pavela et al. 2009).

1.3.Dégâts

Les pucerons sont des insectes extrêmement répandus dans le monde. En effet, une espèce végétale sur quatre peut être attaquée par des pucerons (Dixon 1998). A cause de leur mode d'alimentation qui est purement phloémien, ces insectes induisent moins de dégâts visibles que les insectes phytophages en général, néanmoins leur infestation peut causer des changements physiologiques profonds au niveau de la plante. En effet, à cause de l'injection de salive toxique, les symptômes les plus visibles se manifestent souvent sous forme de modification de morphologie des tissus végétaux, comme l'enroulement, la crispation et le cloquage des feuilles. Ces dégâts réduisent les surfaces exposées à la lumière et la photosynthèse et par conséquent induisent l'affaiblissement général de la plante (Emden et al. 1969). Le prélèvement extensif de la sève phloémienne en présence d'une population importante de pucerons peut ainsi freiner la croissance de la plante et amplifier son épuisement général. En plus, la piqûre de certaines espèces de pucerons peut entraîner des déformations cellulaires et provoquer ainsi la formation de galles (Miles 1989; Wool 2004). D'autres dégâts indirects sont liés au miellat rejeté par les pucerons. Ce miellat n'est pas toxique en lui-même, mais sa sécrétion extensive et sa présence à la surface de la plante obstrue les stomates, entrave la respiration et gêne la photosynthèse entraînant par conséquence la déshydratation et le dessèchement des feuilles (Comeau 1992). Le miellat constitue aussi un milieu favorable au développement de champignons saprophytes, agents de fumagines, qui forment, en conditions humides, un enduit noir superficiel, parfois très

abondant qui souille les organes consommables et les rend impropres à la commercialisation. Les dégâts les plus redoutables causés par les pucerons sont liés à leur capacité de transmission et de dissémination de virus phytopathogènes. Les pucerons constituent ainsi le plus important groupe d'insectes vecteurs de virus, en transmettant plus de 275 virus (Nault 1997). *Aphis gossypii*, par exemple, est vecteur de 44 virus. Le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) est capable de transmettre une centaine de maladies virales sur un large spectre d'hôtes (Blackman et Eastop 1984). La simple insertion du stylet dans les tissus de la plante peut entraîner la transmission des particules virales. Le risque est amplifié lorsque les pucerons vecteurs sont polyphages et susceptibles d'héberger plusieurs virus et de les transmettre aux autres plantes visitées. Ainsi, les pucerons peuvent être à l'origine de contaminations virales à différentes échelles (parcelle, région, pays, continent) (Dancewicz et Gabry 2008; Lai et al. 2011; Pavela et al. 2009). La propagation de nombreuses maladies chez les plantes-hôtes comme la jaunisse nanisante de l'orge (JNO) ou la mosaïque de la pomme de terre (virus Y) pouvant provoquer des pertes de rendement totales.

1.4.Système sensoriel des pucerons

La sélection de la plante hôte résulte d'interactions complexes entre la présence d'indicateurs environnementaux et la chimio réception détectée au niveau de la plante sélectionnée (Andersson 2007). Pour sélectionner leurs hôtes, les insectes ont besoin d'un système sensoriel adapté aux différentes phases de ce processus. Ils utilisent plus particulièrement la vision, l'olfaction et le goût pour s'informer de l'identité et de la qualité de la plante.

1.4.1. Les organes de vision

Les pucerons possèdent deux sortes d'yeux. Des yeux composés primaires qui apparaissent dès le premier stade larvaire et sont conservés chez l'adulte. Ces yeux sont composés de 3 ommatidies et captent seulement les variations de l'intensité lumineuse. Des yeux composés secondaires, qui se développent durant la vie larvaire et représentent l'organe principal de vision (Figure 1.2). Ils sont beaucoup plus larges et constitués de nombreuses ommatidies (Kring 1977). Les morphes ailées se distinguent des larves et des adultes aptères par la présence de trois ocelles frontales (Figure 1.2) (Gao et al. 2000). Les récepteurs basiques de la perception de la lumière sont les cellules photoréceptrices localisées au niveau de la rétine des yeux secondaires (Menzel 1979). Les pucerons perçoivent des images colorées grâce à trois types de cellules photoréceptrices qui ont été identifiés avec un pic de sensibilité à 530nm

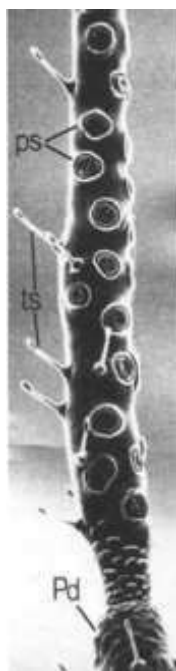
pour le vert, 320-330 nm pour l'UltraViolet, et 440-480 nm pour le bleu (Kirchner et al, 2005). Döring et Chittka (2007) ont montré la préférence des pucerons pour le jaune tout en montrant que cette couleur joue via un effet additionnel de luminosité. D'autres récepteurs extra-oculaires qui servent d'horloge biologique ont été identifiés chez les pucerons (Hardie et Nunes, 2001). Le puceron vert du pêcher est la seule espèce qui a été physiologiquement testée pour plusieurs sensibilités spectrales (Kirchner et al. 2005).



Figure 1.2 : Organe de vision du puceron

1.4.2. Les organes d'olfaction

Chez les pucerons, la composition des antennes varie de 3 à 6 segments selon le stade de développement. Il existe deux types de sensilles olfactives : les rhinaries primaires et les rhinaries secondaires (Figure 1.3). Les rhinaries primaires sont localisées sur la partie distale des deux derniers segments antennaires à tous les stades de développement de l'insecte et toutes les morphes. Les rhinaries secondaires sont localisées sur les troisième et quatrième segments antennaires, et on ne les trouve généralement que chez les adultes et en nombre plus important chez les morphes ailées (Bromley et al. 1979; Pickett et al. 1992). Selon plusieurs études, les odeurs des plantes sont détectées par les deux types de sensilles olfactives (Hardie et al. 1994; Visser et al. 1996). Certaines études ont montré l'implication des rhinaries primaires dans la détection de certains composés volatils [exemple : (E)-2-hexenal] (Park et Hardie 2002; Pickett et al. 1992). Selon Park et Hardie (2002). Les rhinaries secondaires chez les mâles ne sont pas sensibles aux odeurs des plantes mais plutôt aux phéromones sexuelles.



Rhinarie secondaire de *Nasonovia ribis-nigri*
Pd: pédicelle; ts: rhinarie trichoïde;
ps: rhinarie secondaire



Rhinarie primaire de *Macrosiphum euphorbiae*
cf: bordure cuticulaire

Figure 1.3 : Organe olfactif du puceron (Rhinaries) (Bromley et al. 1979)

1.4.3. Les organes de gustation

Une fois le puceron sur la plante, il commence à explorer la surface foliaire en utilisant différents mécanorécepteurs. Grâce aux sensilles localisées à l'extrémité de leur labium, les pucerons explorent la surface foliaire durant une courte durée afin de détecter leur zone préférentielle de piqûre. D'autres sensilles situées à l'extrémité des antennes et au niveau des tarses leur permettent d'évaluer la composition chimique de surface (Pickett et al, 1992). Les pièces buccales des pucerons sont formées principalement de quatre stylets fins et flexibles : deux stylets maxillaires entourés de deux stylets mandibulaires (Brault et al. 2010; Douglas 2003). Ces stylets coulissent dans une gouttière dorsale du labium, organe de longueur variable suivant les espèces (Figure 1.4).

Les stylets sont accolés l'un à l'autre sur toute la longueur du rostre. Les stylets maxillaires possèdent des invaginations et excavations sur leur face interne ménageant l'existence de deux canaux, un canal alimentaire (1-2 μm de diamètre) conduisant la nourriture aspirée des cellules végétales au tube digestif et un canal salivaire (0,2-0,4 μm de diamètre) conduisant la salive expulsée par les glandes salivaires jusqu'à l'endroit où le stylet a pénétré dans la plante.

Ces deux canaux sont séparés sur presque toute la longueur des stylets et fusionnent en un canal commun à l'extrémité du faisceau (Brault et al, 2010). Pendant les périodes de repos, les stylets sont enfermés dans le labium. Les stylets permettent aux pucerons d'effectuer des piqûres dans les plantes et d'atteindre le phloème.

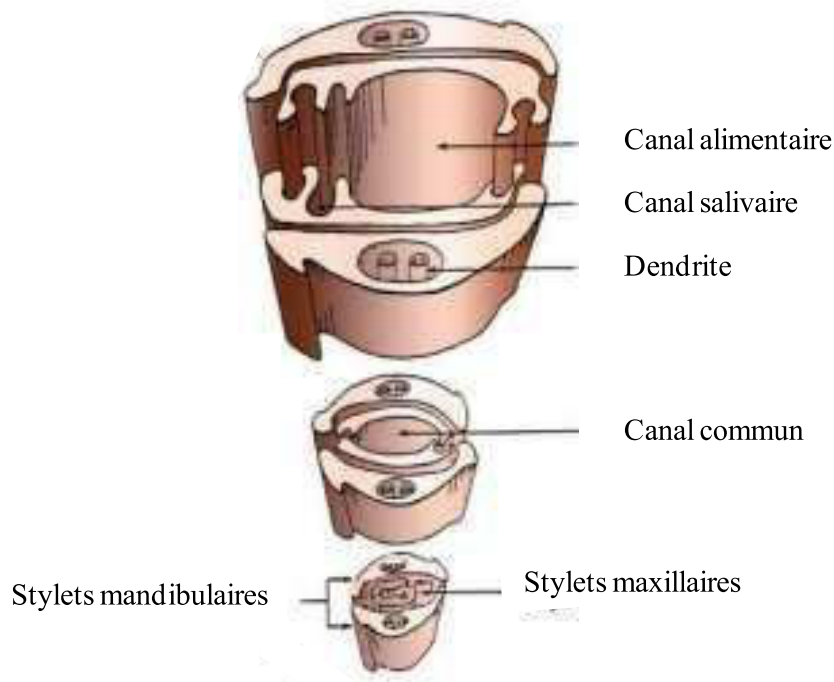


Figure 1.4 : Représentation schématique des pièces buccales d'un puceron (d'après Brault et al. 2010)

1.5.Processus de sélection d'une plante hôte

Les pucerons font partie des premiers insectes qui apparaissent très tôt dans la saison. En général, chaque morphe a une fonction très spécifique (Powell et Hardie 2000). Le processus d'infestation commence au printemps par l'apparition des pucerons adultes ailés qui sont venus de leurs refuges d'hiver et colonisent des nouvelles plantes (Hodgson 1991). Les aptères sont moins appropriés à la recherche d'hôtes, car ils se développent déjà sur leur plante hôte et ne peuvent migrer que vers des plantes voisines (Hodgson 1991). Leur fonction principale est la reproduction et le développement de la colonie. Les ailés se dispersent sur de longues distances grâce à leurs paires d'ailes fonctionnelles et ils sont plus adaptés à supporter le manque de nourriture pendant de longues périodes (Dixon 1998). La production d'individus

ailés dans la colonie représente un coût de construction pour l'élaboration et le développement des ailes qui se fait au détriment de leur fécondité (Dixon, 1998).

La sélection d'une plante hôte chez les insectes phytophages comporte plusieurs étapes allant de la localisation d'un habitat à l'échelle du paysage jusqu'à la sélection d'un microsite de ponte à l'échelle de la plante hôte (Figure 1.5). Ce processus peut être subdivisé en trois étapes: localisation de l'habitat, localisation de l'hôte et acceptation de l'hôte (Andersson 2007; Finch et Collier 2000). A l'occasion de ce processus, les stimuli externes positifs et négatifs interagissent avec des facteurs internes et externes à l'insecte, et la balance entre ces informations va entraîner l'acceptation ou le rejet de la plante hôte (Andersson 2007).

1.5.1. Localisation de l'habitat

L'habitat, selon Lawrence (2005), est l'environnement au sein duquel un organisme peut vivre normalement. Il est défini par les caractéristiques physiques de son environnement et/ou de la végétation dominante ou par d'autres caractéristiques biotiques stables. Plusieurs recherches ont été focalisées sur l'étude de l'habitat au niveau du paysage (Broad et al. 2008; Jeanneret et al. 2003; Mathews et al. 2004; Schooley et Wiens 2003). Mais, il est difficile d'établir les principes généraux de la localisation de l'habitat pour les insectes polyphages dans la littérature. Ce manque d'information réside peut-être dans la difficulté de déterminer exactement le temps et la distance par rapport à la plante hôte à partir de laquelle la sélection de l'hôte doit être considérée comme localisation de l'habitat ou localisation de l'hôte (Andersson 2007).

Un insecte peut localiser un habitat approprié soit par un mouvement aléatoire, soit par l'usage des informations captées par son système sensoriel. Les signaux visuels et olfactifs sont déterminants dans ce processus et leur importance relative a été examinée dans plusieurs expérimentations (Li et al. 2010; Liu et al. 2001). En effet, Les pucerons répondent fortement aux couleurs vert et jaune (Bernays et Chapman 1994) pour la localisation d'une plante hôte adéquate à distance. D'autres repères visuels peuvent également intervenir tels que la forme, la taille de la plante (Dunn 1969; Gibson et Rice 1989). La perception des substances volatiles par les pucerons a été montrée au cours de plusieurs expériences en laboratoire (Nottingham et al. 1991; Nottingham et Hardie 1993) ou en plein champ (Chapman et al. 1981) induisant des réponses comportementales différentes (vol, marche).

1.5.2. Localisation de l'hôte

Au sein d'un habitat favorable, l'insecte peut localiser une espèce de plante appropriée. Le stimulus chimique joue un rôle majeur dans la phase de localisation de l'hôte. Les insectes sont généralement sensibles aux aspects chimiques de leur environnement particulièrement à ceux de leur plante hôte ou ceux liés à l'accouplement (Pickett et al. 1992). Pour sélectionner leurs hôtes, les insectes ont développé des mécanismes naturels en utilisant ces indicateurs environnementaux (Andersson et al. 2007). L'orientation vers une plante dépend de la présence des attractifs et des répulsifs qu'elle peut émettre et la confrontation des pucerons à ces facteurs peut établir le degré d'accès à leur plantes hôtes (Will et Van Bel 2006). Ainsi, la décision de déclencher la colonisation, s'alimenter et pondre est basée sur la perception de stimuli positifs et négatifs (Andersson 2007; Renwick 1989). Andersson (2007) trouve que les insectes qui sont capables de détecter et répondre aux composés volatils des plantes non hôtes, les utilisent comme des signaux négatifs dans le choix de leurs plantes hôtes. Les insectes sont ainsi capables de détecter une large gamme d'odeurs : leurs récepteurs sont très sensibles aux odeurs spécifiques et la sélection d'une plante hôte change avec leurs phases de développement et leurs préférences (Schoonhoven et al. 2005). Des stimuli visuels comme la couleur, la taille (Dunn 1969), le contraste avec le sol (Smith 1976) peuvent être utilisés par le puceron pour localiser sa plante hôte et discriminer entre plante hôtes et plantes non hôtes (Gish et Inbar 2006). Au cours d'un test de choix, *Macrosiphoniella artemisiae* est capable de localiser sa plante hôte (*Artemisia arborescens*) grâce à ses caractéristiques visuelles (Gish et Inbar, 2006). Une fois que le puceron se trouve sur la feuille, il restreint sa zone de recherche et entame une séquence comportementale pour évaluer la qualité de la plante choisie et tester son adéquation avec son spectre d'hôtes. C'est une phase d'exploration qui entraîne des mouvements antennaires d'avant et d'arrière ainsi qu'une application régulière du labium visant à percevoir les caractéristiques physicochimiques de la surface foliaire (Powell et al. 1999). Des stimuli inhibiteurs ou stimulants peuvent être perçus : notamment des composés volatils (Storer et al. 1996) ou des composés chimiques de surface et en fonction des informations qui lui parviennent, le puceron décide de poursuivre ses investigations ou de quitter la plante (Harmel et al. 2008).

1.5.3. Acceptation de l'hôte

Après la perception et l'analyse des propriétés physicochimiques de surface, le puceron teste la composition des tissus de la plante. Pour cela, il insère ses stylets dans les tissus végétaux

et procède à une série de prélèvements extracellulaires mais également des prélèvements intracellulaires. Ces prélèvements jouent un rôle déterminant dans l'acceptation ou le rejet de la plante (Powell et al. 1999; Powell et al. 2006). Selon Klingauf (1987), la composition et la concentration de la sève phloémienne sont les principaux paramètres d'acceptation finale de la plante. Toutefois, des études analytiques et comportementales dédiées comme l'électropénéthrographie (EPG) n'ont pas permis de confirmer cette théorie. Par exemple les travaux réalisés par Tosh et al. (2002) ont montré que, même avant d'avoir atteint le phloème, plusieurs femelles d'*A. fabae*, arrivent à déposer leurs larves par simple insertion des stylets aux niveau des tissus extracellulaires. On peut conclure que l'acceptation de la plante est stimulée non pas par des signaux strictement phloémiens mais avant tout par la perception des composés volatils émis en surface des plantes et des signaux perçus dans les cellules périphériques qui bordent les vaisseaux phloémiens (Tosh et al. 2002).

La phénologie et la physiologie de la plante varient avec l'environnement et l'âge de la plante (Schoonhoven et al, 1998). Ceci induit une variation de la disponibilité et de la qualité des ressources fournies pour l'insecte et peut avoir un effet sur la taille des adultes, leur fitness et les taux de croissance larvaire. Pour avoir la meilleure probabilité de survie et de reproduction, le choix de la plante va être déterminant (Awmack et Leather 2002).

Les pucerons sont tributaires de la qualité nutritionnelle et surtout des composés chimiques secondaires produits par les plantes comme des signaux de reconnaissance de leurs plantes hôtes (Eigenbrode et al. 2002; Powell et Hardie 2000). La spécialisation de pucerons joue un rôle important lors du processus d'acceptation de la plante hôte. L'acceptation, dans ce cas, est stimulée par la perception d'un ou de quelques composés secondaires particuliers. Par exemple, lorsqu'une plante hôte (*V. fabae*) est traitée avec la sinigrine, un glucosinolate spécifique des crucifères, ce dernier peut jouer le rôle d'un phagostimulant spécifique pour *Brevicoryne brassicae* et d'anti-appétant pour *Acyrtosiphon pisum* (Gabrys et al. 1997). De même, la présence de la phlorizine, un flavonoïde glucoside présent chez le pommier, stimule la prise alimentaire du puceron vert du pommier, *Aphis pomi*, mais inhibe la prise alimentaire de *A. agathonica* et *M. persicae*, non spécialistes (Pickett et al. 1992). D'autres types de composés sont aussi impliqués et la décision finale de l'acceptation ou du rejet de la plante dépend des contacts chimiques et de l'interaction des composés volatils stimulants et dissuasifs. Ainsi, les composés toxiques des plantes peuvent interrompre l'alimentation (De Kogel et al. 2000). Les composés phénoliques, tel que le flavon-3-01 catechin, un précurseur de composés polyphénoliques chez le rosier, a un effet dissuasif sur *Macrosiphum rosae*

(Pickett et al. 1992). Toutefois l'acceptation chez les pucerons généralistes dépend à la fois des métabolites primaires et secondaires (Herrbach 1985; Powell et al. 2006).

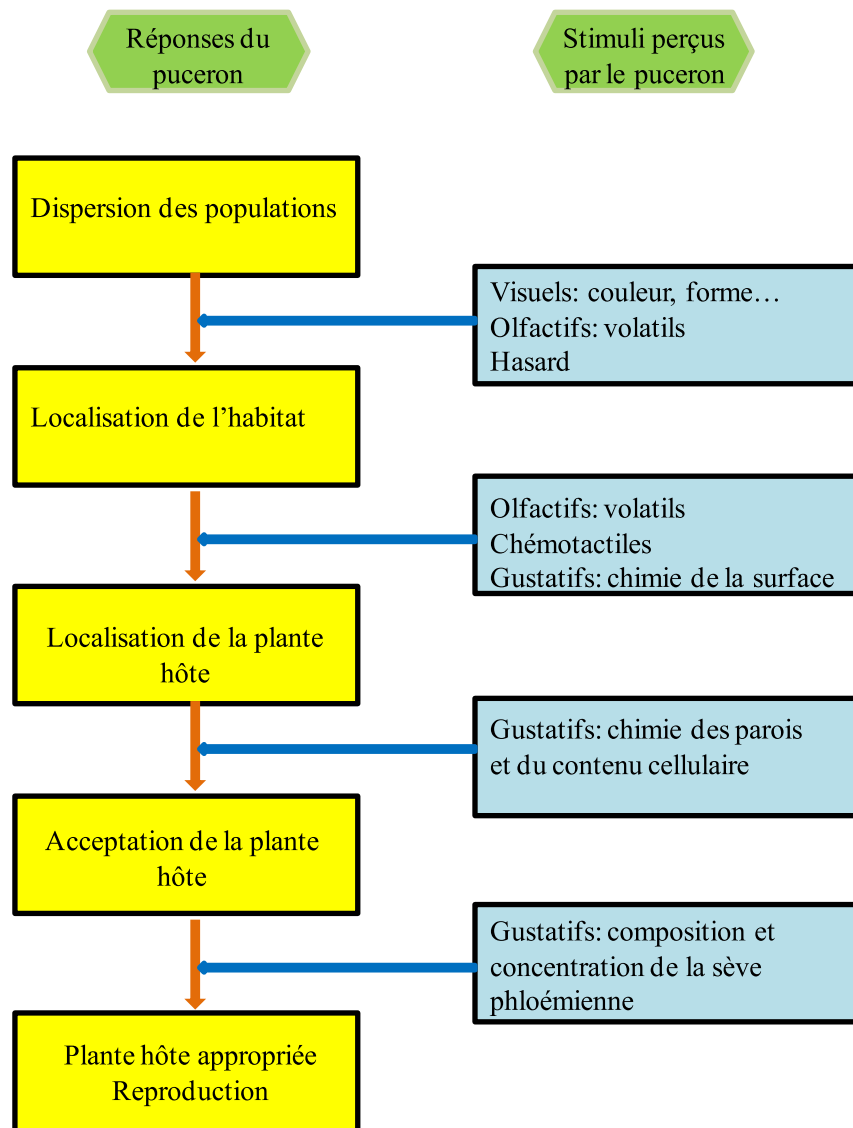


Figure 1.5 : Schéma général du processus de sélection de la plante hôte chez le puceron

1.5.4. Rôle de l'olfaction dans le comportement de choix

L'olfaction est la modalité sensorielle majeure durant les deux premières étapes du processus de sélection de la plante hôte, alors que la chimio réception domine la troisième (Anderson 2007). Cependant, on a longtemps négligé le rôle des odeurs des plantes dans le processus de sélection par le puceron (Herrbach 1985). Certains auteurs, comme Finch et Collier (2012) ont conclu que les plantes hôtes sont sélectionnées après l'atterrissage et après le contact chimique avec les plantes. Des études en plein champ ont montré notamment une égalité du

taux d'atterrissage sur plantes hôtes et sur des plantes non hôtes pour les gynopares et les virginopares ailés de *M. persicae* et *A. fabae*, et pour les virginopares ailés de *Brachycaudus prunicola* (Muller, 1962 cité par Nottingham et al 1991). De plus, pour Potting et al. (2005), les pucerons, à l'analogie des thrips et des aleurodes ont une aptitude très limitée à contrôler leur direction de vol et leur dispersion est typiquement passive et aléatoire.

Toutefois, en 1970, Pettersson a réussi à montrer que les morphes sexuées de *Rhopalosiphum padi* sont attirées par l'odeur d'extraits de leurs plantes hôtes. Depuis, les travaux mettant en évidence le rôle, *a priori* majeur, de l'olfaction dans l'écologie chimique du puceron (Campbell et al. 1990; Nottingham et Hardie 1993; Park et Hardie 1998; Pickett et al. 1992; Visser et Piron 1997) et son utilisation comme critère de sélection de plante hôte se sont multipliés (Bruce et al. 2005b; Campbell et al. 1990; Chapman et al. 1981; Dixon 1998; Francis et al. 2004).

Chez les pucerons, les odeurs sont détectées par la première et la deuxième rhinarie des antennes (Hardie et al. 1994; Visser et al. 1996). Toutes les réponses de ces neurones récepteurs peuvent être étudiées avec la technique de l'électroantennogramme (EAG). Cette dernière permet de distinguer les composés volatils détectés et ainsi joue un rôle dans la discrimination entre les odeurs émises par les plantes hôtes et non hôtes. Visser et al. (1996) ont testé la sensibilité et la réaction des pucerons à 35 composés volatils de plantes. Ils ont trouvé que les réponses de l'électroantennogramme diffèrent d'une espèce à une autre, résultat qu'a été confirmé par Park et Hardie 1998.

Les études en laboratoire et en plein champ ont montré que les composés volatils influencent l'orientation et le comportement des pucerons ailés et non ailés (Nottingham et al. 1991; Pettersson 1970; Pettersson 1973), avant le contact de la plante hôte (Storer et al. 1996). La réponse est analogue que les pucerons soient ailés ou non (Visser et Piron 1997). D'autres essais ont montré que les pucerons pouvaient se comporter différemment selon que les plantes étaient infectées ou non par un virus. Ainsi, Eigenbrode et al. (2002) ont observé que les plantes infectées par PLRV (le virus de l'enroulement de la pomme de terre) produisent des composés volatils qui attirent *M. persicae*.

Dans un mélange d'orge, le comportement des pucerons à l'égard d'une variété est affecté par la présence d'une autre variété (Ninkovic et al. 2002). Des tests de choix ont montré que les aptères de *M. persicae* peuvent détecter la présence de leur prédateur *Propylaea japonica* sur la base de facteurs olfactifs et visuels et adapter leur comportement pour réduire le risque de prédation (Li et al. 2010). Le puceron noir de la fève (*A. fabae*) est repoussé par les isothiocyanates et les myrténals, des composés présents chez la famille des *Brassicaceae*

(Agelopoulos et al. 1999). Ce puceron peut détecter et utiliser ces composés pour éviter une large gamme de plantes non hôtes et les écosystèmes où ces plantes hôtes sont susceptibles d'être présentes. Ainsi les dérivés terpénoïdiques présentent un signal général inadéquat pour les insectes qui préfèrent les angiospermes (Riba et Silvy 1989).

2. Les plantes de service offrent des perspectives prometteuses pour lutter contre les pucerons

2.1. Concept

Depuis plusieurs décennies, les agriculteurs mettent en œuvre des techniques agricoles empiriques visant à protéger et améliorer la biodiversité au sein des parcelles cultivées (Riba et Silvy 1989). Ainsi par exemple, l'association de culture (compagnonnage) est une pratique ancienne et traditionnelle qui permet de favoriser les interactions biologiques bénéfiques entre elles (Cunningham 1998; Sarker et al. 2009; Vandermeer 1992) et générer différents agro-services environnementaux (Malézieux et al. 2009). L'efficacité de ces pratiques empiriques a été renseignée à travers une longue série d'observations transmises d'une génération à l'autre. Ainsi, ces connaissances empiriques basées sur la stratégie de test / erreur (Gadgil et al. 1993; Morales et Perfecto 2000) ont permis de répertorier une richesse énorme d'associations de composition très diverse et généralement d'efficacité variable (Riba et Silvy 1989).

Recueillir toutes ces informations sur les savoir-faire traditionnels est nécessaire mais il est également important de comprendre quels sont les services écologiques fournis par ces pratiques (Morales et Perfecto 2000). Aujourd'hui, la mise en place d'associations entre cultures connaît un regain d'intérêt dans le monde, compte tenu de leur potentiel en termes de lutte contre les ravageurs et de traitement des déséquilibres entraînés par l'utilisation des produits chimiques et les pratiques agricoles modernes telle que la monoculture intensive.

On peut ainsi définir l'association entre cultures comme un système consistant à cultiver deux cultures principales sur un même terrain, les deux cultures étant récoltées en même temps (Riba et Silvy 1989; Vandermeer 1992). Un autre type d'association consiste à associer une culture principale et une culture dite «auxiliaire» qui ne sera pas récoltée. Dans ce cadre la plante «compagne» est également appelée «plante de service» car elle est susceptible de jouer un rôle bénéfique dans le fonctionnement de l'agro-système. Le concept de «service» a cependant un spectre très vaste. Ainsi, selon Malézieux et al. (2009), il correspond à l'introduction dans les systèmes de culture de plantes cultivées en association ou en rotation

culturelle, afin d'apporter différents services agro-environnementaux, tels que la régulation des bio-agresseurs, l'amélioration ou la restauration de la fertilité des sols, le contrôle des adventices ou la réduction des processus érosifs.

Dans le cadre de ce travail de thèse, je me suis intéressée au rôle potentiel de plantes de service dans la régulation des bio-agresseurs et plus particulièrement des pucerons. Dans cette étude, le terme plante de service désigne toute plante différente de la plante hôte (appelée aussi plante non hôte) ayant le potentiel quand elle est cultivée à proximité de la plante hôte de protéger cette dernière contre les insectes ravageurs et plus particulièrement contre les pucerons.

2.2. Le rôle des plantes de service dans la régulation des pucerons

Les plantes de service peuvent interagir de différentes façons sur le patho-système plante-ravageur-auxiliaire (Figure 1.6):

- soit en attirant les ennemis naturels et en favorisant notamment leur développement (Malézieux et al. 2009; Mathews et al. 2004).
- soit en inhibant la colonisation, l'alimentation et /ou la reproduction du bio-agresseur (piégeage, répulsion, effet biocide...) (Lopez et Shepard 2007).
- soit en stimulant les mécanismes de défense de la plante hôte (Shrivastava et al. 2010).

La partie suivante, présente différents mécanismes d'interaction entre plantes de service et composants du système plante-bio-agresseur-auxiliaire. Ces mécanismes décrits dans la littérature sont basés sur des stimuli sensoriels: olfactifs (composés volatils en particulier) et visuels.

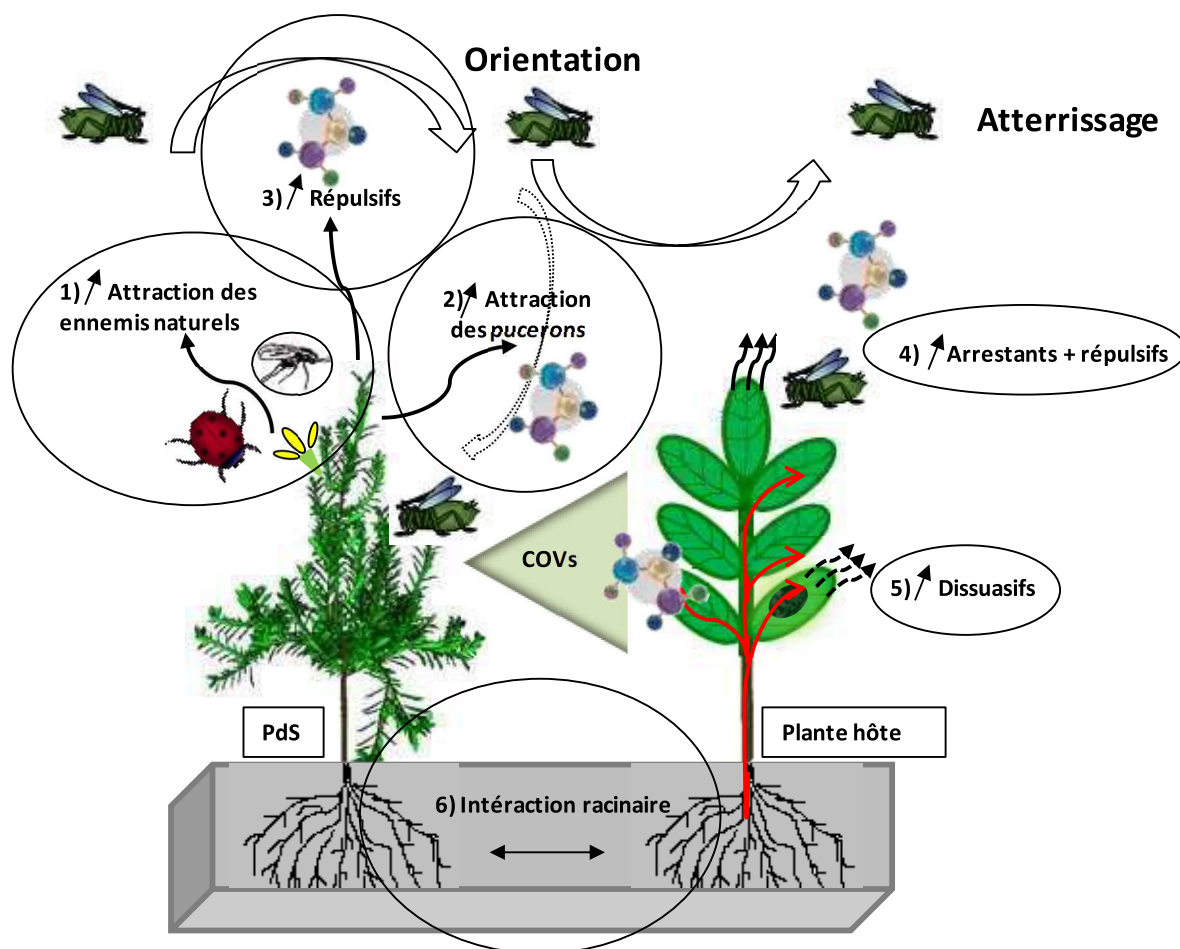


Figure 1.6 : Différents mécanismes d'interaction entre plantes de service et composants du système plante-bio-agresseur-auxiliaire. COV répulsif : un composé chimique qui affecte l'orientation des insectes et les repousse loin du matériel végétal, il est perçu par les récepteurs olfactifs sans contact avec la plante (Dethier et Browne 1960). COV arrestant : un composé chimique qui suspend et ralentit la vitesse de locomotion d'un insecte, il est perçu par les récepteurs olfactifs et sans contact avec la plante (Andersson 2007). COV dissuasif : un composé chimique qui inhibe l'alimentation, l'accouplement ou la reproduction d'un insecte, il est perçu par les récepteurs gustatifs au moment de l'atterrissage sur la plante (Månsson 2005).

2.2.1. Les plantes qui améliorent la lutte biologique de conservation

Une des solutions utilisée dans plusieurs agro-écosystèmes pour limiter le développement des populations de ravageurs consiste à favoriser les populations d'ennemis naturels dans le cadre de la gestion de l'environnement et de la préservation de la biodiversité. Il est important de noter que les pucerons ont une large gamme d'ennemis naturels comprenant à la fois des

prédateurs (*Syrphidae*, *Coccinellidae*, *Miridae*, *Chrysopidae*) et des parasitoïdes (*Aphelinidae*, *Encyrtidae*). Malgré leur efficacité indéniable, quand les conditions ne sont pas favorables les ennemis naturels n'arrivent pas à arrêter la croissance exponentielle des populations de pucerons (Miñarro et al. 2005). En effet, plusieurs facteurs limitent leur abondance, tels que l'usage des pesticides, le manque de sources de nourriture et de plantes hôtes tout au long de la saison (Simon et al. 2010). Ainsi l'amélioration des conditions d'habitat des ennemis naturels pourrait être une solution efficace pour préserver les ennemis naturels et renforcer le contrôle biologique (Figure 1.7). Plusieurs études ont montré que l'installation de plantes de service peut fournir des hôtes ou des réservoirs alternatifs pour les ennemis naturels ce qui pourrait augmenter et favoriser leur développement et par conséquent contrôler durablement les populations d'insectes (Andow 1991; Beizhou et al. 2010; Costello et Altieri 1995; Landis et al. 2000; Mizutani et al. 2010; Simon et al. 2010).



Figure 1.7: Utilisation de plante de service à fleurs afin d'améliorer l'efficacité des ennemis naturels dans les systèmes de culture.

La relation entre la qualité de l'habitat et l'abondance des ennemis naturels a été démontrée dans de nombreux systèmes. En effet, l'habitat est un facteur important pour le maintien et l'efficacité des prédateurs dans les systèmes agricoles. L'importance de cette composante pour les ennemis naturels est liée à leur besoin d'abri et d'un microclimat favorable à leur croissance et leur survie (Mathews et al. 2004). Les plantes de service peuvent représenter une source supplémentaire de nectar et de pollen (Adedipe et Park 2010; Beizhou et al. 2010; MacLeod 1992; Spellman et al. 2006), ressources essentielles pour maintenir les performances optimales des ennemis naturels en favorisant leur survie, et en améliorant leur

fécondité et leur longévité (Landis et al. 2000). Ainsi, dans différents systèmes agricoles, la pulvérisation de la nourriture comme le nectar et le pollen a été utilisée comme un complément alimentaire, tandis que la mise en place de plantes à fleurs pourrait fournir des ressources alimentaires plus stables et ce tout au long de la saison (Landis et al. 2000). En culture de coton, cette technique a montré l'attraction de plusieurs ennemis naturels appartenant à plusieurs familles (*Coccinellidae*, *Melyridae*, *Lygaeidae* et *Chrysopidae*) (Mensah 1997).

Les signaux olfactifs et visuels jouent un rôle important pour attirer les ennemis naturels dans une zone cible. Ainsi, certains ennemis naturels sont attirés par les composés volatils émis par les plantes ce qui leur permet indirectement de localiser leurs proies (les ravageurs de ces plantes). Schaller et Nentwig (2000) ont trouvé que les odeurs des extraits de feuilles de vinettier (*Berberis vulgaris*) et de boutons floraux de camomille (*Tripeurospermum inodorum*) possèdent une forte attractivité aux coccinelles (*Coccinella septempunctata*). La reconnaissance des composés volatils permettrait ainsi de réduire le temps de recherche des proies. Les indices visuels ont également un rôle important dans l'attraction des ennemis naturels. Dans des tests de préférence visuelle, Adedipe et al. (2010) ont mis en évidence que la coccinelle asiatique (*Harmonia axyridis*) préfère nettement le jaune par rapport aux couleurs blanc, bleu, rouge, orange et vert.

Des études ont comparé le potentiel de différentes plantes de service dans la préservation et l'attraction des ennemis naturels des pucerons. Colley et Luna (2000) ont ainsi testé 11 plantes à fleurs en association avec une culture de maïs (*Zea mays*) pour renforcer le contrôle biologique contre les pucerons. Ils ont trouvé un nombre significativement élevé de syrphes et de parasitoïdes dans les parcelles en association avec la coriandre (*Coriandrum sativum*) et le fenouil (*Foeniculum vulgare*). En Nouvelle-Zélande, l'association de la coriandre (*Coriandrum sativum*) dans des parcelles de choux a entraîné une augmentation de la densité de syrphes et par conséquent une diminution précoce du nombre des pucerons. (White et al. 1995) ont rapporté que la phacélie à feuilles de tanaïs (*Phacelia tanacetifolia*, Benth) représente une ressource de pollen qui attirerait les syrphes et ainsi réduirait l'incidence des pucerons (*Brevicoryne brassicae* et *Myzus persicae*) sur la culture de choux. L'usage de plantes de service comme la sarriette (*Satureja hortensis*) et le basilic (*Ocimum basilicum*) dans les vergers de poiriers contribue également à l'apparition précoce d'ennemis naturels (*Coccinella septempunctata*, *Phytoseiulus persimilis* et *Chrysoperla sinica*) et une réduction de l'abondance d'*Aphis citrocola* (Beizhou et al. 2010).

2.2.2. Les plantes pièges qui attirent les ravageurs loin de la culture principale

Parfois, une plante voisine peut être choisie parce qu'elle attire les ravageurs et les éloigne de la culture principale (Hokkanen 1991; Hooks et Johnson 2003; Mayse 1983). Ces plantes sont appelées «plantes pièges». L'utilisation de ces plantes en association avec des cultures est connue depuis des siècles pour protéger les cultures contre les insectes et cette pratique a été exploitée dans de nombreux systèmes agricoles traditionnels (Hokkanen 1991; Hurej 2000; Shelton et Badenes-Perez 2006; Talekar et Shelton 1993).

Le principe des plantes pièges repose sur la différence d'attractivité vis-à-vis du ravageur de certaines plantes par rapport à la culture principale (Banks et Ekbom 1999) (Figure 1.8). Cette différence d'attractivité peut être utilisée pour favoriser le regroupement des populations de ravageurs sur ces plantes pièges et de favoriser ensuite leur contrôle par une méthode spécifique plus localisée (lâchers d'auxiliaires, effeuillage...). En complément de sa plus forte attractivité, la plante piège doit avoir certaines caractéristiques : elle doit occuper un petit espace et être plantée plus tôt que la culture principale (Hurej 2000).

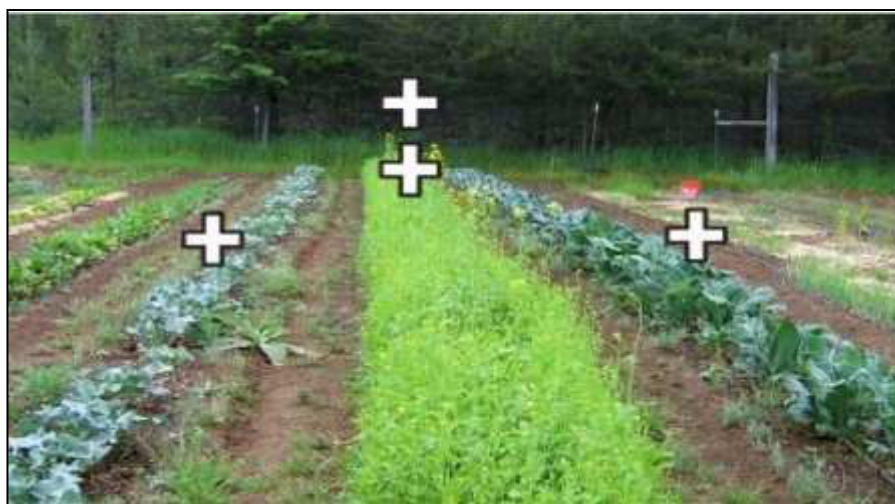


Figure 1.8: La moutrade (plante piège) est associée avec une culture de brocoli (plante cible).

Dans ce cas la plante piège designée par (++) qui est plus attractive que la culture cible (+) permet d'attirer les insectes et de les éloigner de la culture cible (Parker et al. 2013)

Selon Banks et Ekbom (1999), ces plantes sont plus faciles à localiser par les insectes qui peuvent montrer une préférence marquée pour certaines espèces, cultivars ou même un certain stade de développement de la plante. Toute la plante ne sera pas nécessairement attirante pour l'insecte, il peut s'agir d'un organe particulier (bourgeons, fleurs) à un stade donné de la

plante (Banks et Ekbohm 1999) qui serviront d'abri temporaire. Pour maintenir la présence de ces abris au cours de la saison il peut être nécessaire de réaliser des semis décalés pour maintenir les plantes de service au bon stade. Une réduction de l'infestation d'une culture de brocoli (*Brassica oleracea*) par le puceron cendré du chou (*B. brassicae*) a été observée dans les essais où cette culture est associée avec la moutarde (*Brassica hirta*). L'effet semble lié à une plus grande attractivité de la moutarde pour ce puceron (Kloen et Altieri 1990). L'utilisation de plantes pièges fait partie des méthodes de gestion des ravageurs. Les plantes pièges sont également utilisées pour étudier l'écologie de certaines espèces d'insectes et déterminer leur dispersion, leur période d'hibernation, leur survie hivernale, et les dates d'émergence de printemps (Hokkanen 1991).

Dans différentes études, des plantes pièges ont été utilisées selon une stratégie de type « push-pull » en association avec des médiateurs chimiques (semiochemicals). Ces derniers repoussent les ravageurs loin de la culture, et en même temps, les ravageurs sont attirés par les plantes pièges (Pickett et al. 1997). Dans certains cas, les plantes pièges sont utilisées selon une stratégie couplant attraction et destruction des ravageurs (Foster et Harris 1997; Shelton et Badenes-Perez 2006). Les plantes pièges peuvent être considérées aussi comme des leurres, elles sont attirantes mais elles causent la mort des ravageurs par la production de toxines (ex : la pyréthrine), ou la réduction de leur fécondité par l'absence, la faible quantité ou le déséquilibre de certains nutriments essentiels aux ravageurs (Atsatt et O'Dowd 1976; Shelton et Badenes-Perez 2006). Des expériences récentes ont mis en évidence un mécanisme de ce genre avec une attraction de *M. persicae* pour le colza, et la réduction de sa densité sur une culture de chou (Le Guigo et al. 2010). L'efficacité des plantes pièges peut être renforcée par le fait que la progéniture de l'insecte attiré ne peut pas survivre sur ces plantes. Par exemple, la teigne des crucifères (*Plutella xylostella*) préfère au brocoli ou au chou la barbarée commune (*Barbarea vulgaris*) pour pondre ses œufs. En revanche, les larves n'arrivent pas à survivre sur cette plante (Shelton et Nault 2004). Ceci est attribué à la présence de saponines triterpénoïdes, aliments dissuasifs, dans les feuilles de *B. vulgaris* (Shinoda et al. 2002).

Bien que l'utilisation de plantes pièges ait montré une grande efficacité contre plusieurs insectes principalement ceux des brassicacées (Hooks et Johnson 2003) tels que la teigne des choux (*Plutella xylostella*) (Srinivasan et Krishna Moorthy 1992), la mouche du chou (*Delia radicum*) (Rousse et al. 2003), jusqu'à présent elle n'est pas extrêmement développée pour lutter contre les pucerons, dont la colonisation est décrite comme essentiellement passive et

aléatoire (Potting et al. 1997). Ces auteurs suggèrent que les plantes pièges jouent un rôle de barrière quand elles sont plus hautes que la culture principale et plantées sur les bordures des cultures. Cependant, quelques études ont montré l'efficacité de ces plantes contre les pucerons et la transmission de virus. Par exemple, en Malaisie, Hussein et Samad (1993) ont montré que l'utilisation de maïs (*Zea mays*) ou d'aubergine (*Solanum melongena*) comme plantes pièges en association avec une culture de piment (*Capsicum annuum*) en plein champ a réduit l'incidence d'*Aphis gossypii* et, par conséquent, les dommages causés par le virus de la marbrure nervaire du piment (PVMV).

2.2.3. Les plantes qui perturbent le comportement de sélection de la plante hôte

Au cours des deux dernières décennies, l'importance de l'écologie chimique sur le comportement des ravageurs a été mise en évidence témoignant du rôle crucial des composés organiques volatils (COV) générés par les plantes (D'Alessandro et Turlings 2006). Plusieurs études ont montré que la présence de plantes qui émettent des composés volatils différents de ceux de la plante hôte pourrait rendre l'ensemble de la parcelle moins attractif (Atsatt et O'Dowd 1976; Tahvanainen et Root 1972).

Bien que les effets de composés volatils émis par les plantes demeurent mal compris, plusieurs mécanismes ont été proposés tels que le masquage de l'odeur de la plante hôte ou l'effet répulsif des COV.

2.2.3.1. Masquage de l'odeur de la plante hôte

Dans la nature, les pucerons sont exposés à une variété de stimuli volatils et ils utilisent principalement l'odeur de leur plante hôte pour localiser leur habitat. Le concept de masquage des odeurs de la plante hôte a été proposé par Tahvanainen et Root (1972) pour expliquer le rôle de composés chimiques de la famille des Solanacées sur la capacité des altises (phytophages spécialistes des Brassicacées) à trouver leurs plantes hôtes. Il peut être défini comme «une résistance par association» où la plante hôte va bénéficier des défenses des plantes voisines. Ce concept a été également repris par d'autres chercheurs tels que Thiery et Visser (1986). Ils ont trouvé que les réponses d'orientation des Doryphores (*Leptinotarsa decemlineata*) sont neutres quand l'odeur de leur plante hôte (la pomme de terre : *Solanum tuberosum*) est mélangée avec celle de la tomate (*Lycopersicon hirsutum*) ou du chou (*Brassica oleracea*).

Selon Visser et Avé (1978), le masquage est une perturbation de l'attractivité d'un mélange de COV liée à la modification artificielle de la proportion relative des composés. Ainsi, l'odeur de plante de service pourrait interférer avec celle de la plante hôte et changer en conséquence la nature chimique des informations perçues par les insectes. Une autre définition a été proposée par Yamasaki et al. (1997), une substance masquante étant définie comme un agent inhibiteur des mouvements de locomotion des pucerons vers une source attractive.

Le masquage du profil de la plante hôte a été proposé aussi par Zhang et Schlyter (2004) pour expliquer la réduction de l'incidence des pucerons dans les agro-écosystèmes et est considéré comme une méthode alternative de protection contre ces insectes. Cette technique de protection repose sur l'usage de plantes de service émettrices de composés volatils qui, mélangés à ceux des plantes hôtes, empêchent les ravageurs d'identifier leurs plantes hôtes.

Les mécanismes qui expliquent l'interférence entre la plante hôte et la plante de service sont inconnus. Cependant, en utilisant des composés répulsifs, ces mécanismes ont été attribués à une neutralisation des réponses comportementales (Schröder et Hilker 2008). Des tests olfactifs réalisés sur le puceron de l'oignon (*Neotoxoptera formosana*) montrent que l'odeur de ses plantes hôtes *Allium fistulosum* et *Allium tuberosum* devient non attractive quand elle est combinée avec l' α -pinène issu de l'huile de romarin (*Rosmarinus officinalis*). Les auteurs suggèrent que l' α -pinène masque le profil de la plante hôte et perturbe le comportement du puceron (Hori et Komatsu 1997). Par ailleurs, l' α -pinène, testé seul, avait un effet répulsif vis-à-vis du puceron. Des recherches analogues (Nottingham et al. 1991) ont rapporté des résultats similaires vis-à-vis du puceron noir de la fève (*A. fabae*) en utilisant le 3-butényle isothiocyanate ou 4-pentényle isothiocyanate issus respectivement de la sarriette (*Satureja hortensis*) et du thym (*Thymus vulgaris*). Des composés, qui ne suscitent aucune réaction comportementale, lorsqu'ils sont présentés seuls, ont également montré leur potentiel de masquage de l'odeur de la plante hôte (Thiery et Visser 1986; Yamasaki et al. 1997). Par conséquent, le test d'incidence de composés isolés sur le comportement du puceron ne suffit pas pour prédire quelle sera l'incidence de ce composé lorsqu'il sera associé à l'odeur de la plante hôte sur la réponse comportementale du puceron.

Feng et Yang (2011) ont montré que la perception du puceron vert du rosier (*Macrosiphum rosirvorum*) de composés volatils d'œillet d'inde (*Tagetes patula*) en mélange avec l'odeur de sa plante hôte (*Rosa chinensis*) rend cette dernière moins attractive. Ils ont suggéré que les COV émis par l'œillet d'Inde avaient masqué le profil de la plante hôte et par conséquent

affecté la sélection de la plante hôte. Hori et Kmatsu (1997) ont reporté des résultats similaires sur le puceron de l'oignon (*Neotoxoptera formosana*) en présence de COV émis par le romarin (*R. officinalis*). Toutefois, très peu d'études ont testé la plante de service entière pour argumenter cette hypothèse. Une démonstration directe de cette hypothèse de masquage d'odeur de la plante hôte a été réalisée en situation confinée sur le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) par Amarawardana et al. (2007).

Ils ont montré que *M. persicae* était moins attiré par sa plante hôte (le poivron, *capsicum annuum*) lorsque celle-ci était associée avec une plante de ciboulette (*Allium schoenoprasum*). Le poivron est devenu même répulsif après exposition de 5 jours à l'odeur de la ciboulette. L'explication proposée est que les composés volatils de la ciboulette ont adhéré à la surface foliaire du poivron masquant ainsi l'odeur de la plante hôte (Amarawardana et al, 2007).

L'interaction entre une plante hôte et une plante non hôte peut générer de nouvelles odeurs méconnaissables par les pucerons. Selon les quantités et la qualité des composés émis par ces deux types de plantes, la perception d'odeur par le puceron peut induire des réponses comportementales différentes. Plusieurs revues ont étudié quels étaient les processus impliqués dans la perception des odeurs chez les insectes et les vertébrés (Hildebrand et Shepherd 1997; Visser 1986; Zhang et Schlyter 2003). Duchamp-Viret et al. 2003 ont montré la complexité des interactions entre les composés volatils en mélange avec des effets soustractifs ou synergiques. Selon ce constat, si deux odeurs (plante hôte et plante de service) interagissent par suppression, l'une peut inhiber la perception de l'autre et peut la masquer. Si les deux odeurs interagissent de façon synergique, la perception de l'odeur se renforce et devient plus attractive. Cependant, à haute concentration, Duchamp-Viret et al. (2003) ont montré que la synergie peut se transformer en une suppression partielle.

2.2.3.2. La répulsion par les volatils émis par la plante de service

Les plantes de service répulsives ont été définies comme des plantes non hôtes voisines qui perturbent le comportement des insectes et limitent leur incidence sur les plantes hôtes (Figure 1.9). Cependant l'effet répulsif de ces plantes n'était pas soutenu expérimentalement. Finch et Collier (2000) ont proposé une approche biologique appelée «l'atterrissage approprié/ inapproprié». Cette approche est basée sur le fait que les insectes sont sensibles aux composés volatils émis par leur plante hôte et que ceux des plantes non hôtes restent «chimiquement neutres» (Collier et al. 2003; Finch et Collier 2012).

Ils suggèrent que durant la localisation de la plante hôte, l'insecte atterrit indifféremment sur les plantes et s'il arrive sur une plante non hôte (atterrissage inapproprié) et après avoir inspecté la plante il redécolle, soit quitte la parcelle, soit atterrit de nouveau. Il aurait donc plus de chances de se perdre ou de mourir. Le temps nécessaire pour atterrit enfin sur une plante hôte réduit le temps passé à se reproduire et induire des dégâts (Finch et Collier 2012).

Cependant, plusieurs recherches ne supportent pas cette hypothèse. Logiquement, si un insecte peut détecter l'odeur de sa plante hôte, les récepteurs de leur systèmes olfactifs peuvent aussi détecter les odeurs des plantes non hôtes. Certains auteurs, comme Schoonhoven et al. (2005) ont montré la capacité des insectes à détecter la différence entre les odeurs de leur plante hôte et celles des plantes non hôtes ainsi que l'importance de la répulsion dans la diminution de l'incidence des herbivores sur les cultures (Bruce et al. 2005b).

Les composés volatils répulsifs sont définis comme des composés chimiques qui repoussent les ravageurs et les laissent loin de l'environnement de leur plante hôte. Les composés répulsifs font partie des composés de défense des plantes qui empêchent les ravageurs de localiser leur plante hôte et leur habitat habituel (Astall et O'Dowd 1976). Actuellement, plus de 1000 composés répulsifs ont été identifiés tels que les terpenoides et les benzénoïdes (Turlings et al. 1990; Zhang et Schlyter 2004).

Plusieurs composés volatils ont été considérés comme des composés volatils non hôtes. L'efficacité de ces volatils a été testée sur plusieurs espèces de pucerons y compris les généralistes (Hori et al. 1998) et les spécialistes (Nottingham et al. 1991). Ces tests ont montré qu'en présence de ces composés, le puceron peut annuler sa destination et changer sa direction de vol. Ces composés volatils tels que le β -ocimène (Farmer 2001) et le 6-méthyl-5-hepten-2-one (de Vos et Jander 2010) peuvent également exister chez la plante hôte, mais en faibles quantités, et être émis par les plantes en cas d'attaque (Turlings et al. 1990 ; Zhang et Schlyter 2004).

Une série d'expériences a été effectuée au champ (extraits et huiles essentielles) et en laboratoire avec des études électro-physiologiques (Électro-antennographie) et comportementales (olfactométrie, tunnel de vol) pour mettre en évidence les composés utilisés par les pucerons pour prendre une décision. Ces études ont permis d'identifier des composés volatils non hôtes notamment répulsifs tels que l' α -pinène (Hori et Kmatsu 1997),

le 3-butényle isothiocyanate (Nottingham et al. 1991) qui ont été utilisés pour éviter l'incidence des pucerons et protéger les cultures (De Kogel et al. 2000).

De nombreuses études ont rapporté que l'ail (*Allium* spp) avait un effet répulsif très marqué sur les populations de pucerons : *Cavariella aegopodii* (Uvah et Coaker, 1984); *Myzus persicae* (Amarawardana et al. 2007; Lai et al. 2011) ; *Aphis gossypii* (Potts et Gunadi 1991) ; *Brevicoryne brassicae* (Mutiga et al. 2010). Ces plantes sont connues pour leur forte teneur en soufre (94% chez *A. tuberosum*) (Pino et al. 2001) avec des ratios différents selon les espèces du genre *Allium*. La dégradation de ces composés produit les alkyldisulphantes, produits connus par leur potentiel de protection contre les insectes des denrées stockées (Auger et al. 1989; Huang et al. 2000). D'autres expériences au champ (Sarker et al. 2009) ont montré une réduction significative de la population de puceron de la moutarde (*Lipaphis erysimi*) sur moutarde (*Brassica napus*) lorsque celle-ci était cultivée en association avec de l'oignon (*Allium Cepa*) et de l'ail (*Allium sativum*) tout en suggérant l'effet répulsif et dissuasif de ces plantes. Les travaux de Lai et al. (2011) ont montré en plein champ que l'association de plantes d'ail avec la culture du tabac (*Nicotiana tabacum*) permettait de retarder l'apparition des pucerons ailés (*M. persicae*) et également diminuer leur abondance même pendant leur pic d'apparition.

Sur la base de leurs propriétés aromatiques et leur richesse en huiles essentielles, l'usage de plantes aromatiques en association avec les cultures a été proposé comme une méthode de lutte contre les pucerons respectueuse de l'environnement (Collier et al. 2003; Tang et al. 2013). L'odeur de ces plantes peut interférer avec la capacité d'un insecte à trouver son hôte, s'alimenter, se reproduire, et par conséquent limiter l'infestation des cultures. Les plantes de la famille des Astéracées par exemple produisent beaucoup de composés volatils allélochimiques tels que le limonene, le (Z)-ocimene et le β -caryophyllene qui ont été utilisés à partir des huiles essentielles pour lutter contre les ravageurs (Tomova et al. 2005; Wells et al. 1992).

Les odeurs de ces plantes ont un rôle important sur le comportement des pucerons et leur installation (Pickett et al. 1992; Visser et Piron 1997). Des expériences ont montré que les individus de *M. persicae* ne peuvent pas s'installer sur les plantes de la famille des Lamiacées ou Labiées (menthe, thym, romarin ...: Hori 1999). Ces plantes sont caractérisées par leur effet répulsif et anti appétant (González-Coloma et al. 2006 ; Hori 1998).



Figure 1.9: Des plantes d'oignon sont utilisées comme plantes répulsives afin d'éloigner les ravageurs de la culture principale (le brocoli). (+) : attraction ; (-) : répulsion (Parker et al. 2013)

2.2.3.3. Des exemples d'association de plantes de service avec les cultures efficaces contre le puceron

Il existe plusieurs exemples d'association de plantes de service avec des cultures ayant permis la réduction des infestations de pucerons *via* l'émission de composés volatils. L'introduction dans un verger de poirier de trois plantes aromatiques, la sarriette, l'ageratum et le basilic, a montré une réduction significative de la population d'*Aphis citricola* en comparaison avec le verger maintenu sol nu ou en laissant l'herbe naturelle pousser. Cette étude montre l'effet répulsif de ces plantes. Des recherches analogues réalisées par Basedow et al. en 2006 et menées en plein champ, serres et tunnels de vol, ont montré que l'association de la culture de la fève (*V. fabae*) avec des plantes de basilic ou de sarriette permettait de réduire les populations d'*A. fabae* en comparaison avec la monoculture. Ils ont proposé un rôle préventif de ces deux plantes de service contre l'installation des pucerons.

Les travaux de Jankowska et al. (2009) ont montré que l'utilisation de Tagetes (*Patula nana*) et de souci (*Calendula officinalis*) a permis de réduire significativement le nombre de larves ainsi que la ponte de *Brevicoryne brassicae* sur une culture de choux par rapport à la monoculture. Ces auteurs ont supposé que cet effet pourrait être dû à l'activité répulsive de ces deux plantes. Des travaux menés au Mexique en plein champ ont montré que l'association de rangées de tagètes (*Tagetes erecta*) en alternance avec des rangées de tomate ou de piment permettait de réduire l'incidence de plusieurs espèces de pucerons tels que *Myzus* sp., *Brevicoryne* sp., *Aphis* sp., *Macrosiphum* sp. et *Rhopalosiphum* sp. en comparaison avec la monoculture (Castro et al. 1990).

Toutes les études que nous venons de citer suggèrent l'effet répulsif des PdS utilisées. Cependant, les mécanismes d'interaction entre volatils émis par les PdS et pucerons n'ont pas été étudiés précisément et les COV pourraient également modifier la biologie de la plante hôte la rendant moins propice au développement des pucerons

2.2.4. Les plantes qui changent le profil de la plante hôte

2.2.4.1. Importance des signaux chimiques entre plantes

En dehors de signaux visuels, les insectes utilisent des signaux chimiques émis par les plantes comme source d'information. Cependant les biologistes ont mis du temps à accepter que les plantes peuvent également détecter et utiliser ces signaux (Glinwood et al. 2011). Holopainen (2004) a constaté que les émissions chimiques ont une grande importance sur la biologie des plantes. Ces dernières peuvent interpréter les signaux volatils et les utiliser pour s'adapter aux conditions environnementales grâce à des modifications morphologiques et physiologiques (Novoplansky 2009). En théorie, les plantes supérieures ont développé des mécanismes complexes pour percevoir et communiquer avec leur environnement. Ces mécanismes sont basés sur leur capacité d'émettre et de percevoir des composés volatils. Les plantes peuvent émettre des substances volatiles qui auront des fonctions biologiques bien définies en réponse à différentes situations telles que des interactions plantes-insectes, plante-agents pathogènes, ou plante-plante (Baldwin et al. 2002). Toutefois, ces mécanismes ont été peu étudiés et jusqu'à présent ils sont encore équivoques (Ninkovic et al. 2009).

La réponse des plantes peut être constitutive ou induite et peut varier selon le type de stimuli perçus (Dicke et al. 2003b). Les attaques d'insectes peuvent induire une réponse rapide chez les plantes (Heil et Silva Bueno 2007) conduisant à des modifications physiques telles que un changement de la morphologie des feuilles et / ou des réponses chimiques telles que l'induction des protéines, de métabolites secondaires toxiques, ou une émission importante de composés volatils (Arimura et al. 2000; Dicke et al. 2003b; Glinwood et al. 2011). La réponse ne se restreint pas à la zone d'attaque mais elle devient généralisée à la plante entière (Turlings et Tumlinson 1992). En effet, les composés volatils peuvent être émis par des parties différentes de la plante comme les feuilles (Turlings et al. 1990), les boutons floraux (Röse et Tumlinson 2004) ou encore les racines (Rasman et al. 2005) et utilisés comme un signal d'alerte par les plantes voisines saines de la même espèce pour déclencher leur propre défense (Engelberth et al. 2004).

Les pucerons du fait de leur capacité à percevoir les signaux olfactifs et de leur sensibilité au changement de la qualité et de l'état physiologique de leur hôte (Eigenbrode et al. 2002; Pettersson et al. 2007) sont un bon modèle d'étude pour suivre l'influence de modifications des profils de COV et rechercher les mécanismes mis en jeu (Glinwood et al. 2004 ; Ninkovic et al. 2006).

2.2.4.2. Effets de la plante de service sur la plante hôte

Ninkovic et al. (2013) ont montré que les plantes voisines peuvent influencer le métabolisme de la plante hôte et la rendre moins attractives aux bio-agresseurs. Le phénomène ne consiste pas à masquer les composés volatils de la plante hôte mais à rendre cette dernière inappropriée. Les plantes peuvent en effet détecter des signaux chimiques émis par leurs voisines (Heil 2010), ce qui active l'émission de composés organiques volatils (COV) (Choh et al. 2004) et la synthèse de substances chimiques (Glinwood et al. 2004). L'ensemble de ces interactions biochimiques entre plantes est nommé «allélopathie». Telle que défini par Rice (1984), l'allélopathie est "tout effet direct ou indirect, positif ou négatif, d'une plante sur une autre, par le biais de composés biochimiques libérés dans l'environnement". Ces mécanismes ont été décrits pour expliquer l'influence de certaines plantes sur l'inhibition de la germination des graines, la croissance des pousses ou des racines (Ninkovic 2003; Reigosa et al. 1999; Singh et al. 2001). Plus récemment, les scientifiques ont également pris conscience du rôle écologique de l'allélopathie dans les agro-écosystèmes (Chon et Nelson 2010; Farooq et al. 2011; Glinwood et al. 2004; Hunter et Aarssen 1988). Les interactions entre plantes peuvent être avec (racines) ou sans contact physique (l'allélopathie aérienne) (Glinwood et al. 2004; Tao et al. 2008) induisant dans les deux cas la libération des produits allélochimiques ayant divers rôles écologiques selon les réponses comportementales induites chez les insectes (Figure 1.6).

Lors de la dernière phase de sélection de la plante hôte (l'acceptation de l'hôte), la plupart des insectes et notamment les pucerons évaluent l'adéquation de l'hôte sélectionnée.

L'acceptation dépend de la présence de stimulus positif (Hardie et al. 1994; Renwick 1989), mais quand la plante hôte subit des changements, elle pourrait devenir inappropriée à l'insecte qui tente alors de fuir (Hardie et al. 1994). Généralement, les pucerons spécialisés ont une réponse rapide d'acceptation ou de rejet de l'hôte (Schoonhoven et al. 2005), contrairement aux pucerons généralistes qui répondent plutôt à une large gamme de métabolites (Powell et

al. 2006). Tel qu'il est défini dans par Månsson (2005), un produit dissuasif qui inhibe l'alimentation ou la ponte des insectes est normalement perçu après l'atterrissage sur la plante hôte. De ce fait, les changements au niveau de la plante hôte affectent directement le comportement des insectes.

Les plantes hôtes peuvent émettre des composés volatils répulsifs et bloquant la locomotion des insectes (Renwick 1989), mais généralement en faibles quantités (Dicke et Hilker 2003; Glinwood et al. 2011; Zhang et Schlyter 2004). La production de ces composés volatils peut être améliorée par la présence des plantes de service. Ces dernières peuvent éventuellement produire des molécules comme l'éthylène, le jasmonate de méthyle (MeJA) et le cis-jasmone, généralement dégagées par les plantes endommagées qui jouent le rôle de signaux et informent leurs voisines des attaques d'insectes. Ainsi, elles pourraient être un moyen pour la plante de service d'induire des mécanismes de défense chez la plante hôte contre ces insectes.

Les travaux de Karban et al. (2000) montrent qu'en présence de plantes de sauge taillées (*Artemisia tridentata*), les plantes de tabac produisent un niveau élevé de polyphénol oxydase qui réduit l'incidence des insectes. Dans les travaux de Farmer et Ryan (1990), le jasmonate de méthyle produit par les feuilles de sauge induit la synthèse de protéines de défenses inhibitrices de protéinase au niveau des feuilles de tomate. Dans différentes études, le jasmonate de méthyle sous forme commerciale a été utilisé pour augmenter les émissions de plusieurs COV de défense chez la plante hôte tels que le 6-méthyl-5-heptén-2-one chez le poivron (Dewhirst et al. 2012), le (E)- β -ocimène chez le haricot (Birkett et al. 2000), ou des acides hydroxamiques chez le blé (Slesak et al. 2001).

La plupart des COV émis par les plantes hôtes sont des terpénoïdes qui ont généralement des effets répulsifs et/ou «arrestants». Dethier et Browne (1960) ont défini un COV répulsif comme un composé chimique qui affecte l'orientation des insectes et les repousse loin du matériel végétal ; il est perçu par les récepteurs olfactifs sans contact avec la plante. Andersson (2007) a défini un COV arrestant, comme un composé chimique qui suspend et ralentit la vitesse de locomotion d'un insecte; il est perçu par les récepteurs olfactifs et sans contact avec la plante. Par opposition, un COV dissuasif est un composé chimique qui inhibe l'alimentation, l'accouplement ou la reproduction d'un insecte; il est perçu par les récepteurs gustatifs au moment de l'atterrissage sur la plante (Månsson 2005 ; Figure 1.6). D'après ces définitions, on trouve qu'ils sont tous les deux perçus par les récepteurs olfactifs, et sans

contact avec le matériel végétal. Cependant ils n'ont pas le même effet. La différence peut être liée à la distance entre les insectes et la source des composés volatils. En dépit de quelques exceptions (Finch et Skinner 1982), très peu de recherches ont été menées pour mesurer les distances à partir desquelles les insectes sont affectés par les composés volatils.

Les plantes hôtes peuvent absorber et libérer les COV émis par une plante voisine (PdS). Pour mettre en évidence ce mécanisme, Himanen et al. (2010) ont utilisé le *Rhododendron tomentosum* comme plante de service. Cette plante est caractérisée par un profil très aromatique et un taux d'émission de terpénoïdes élevé avec des propriétés médicinales et répulsives. Les principaux COV émis sont des sesquiterpènes et monoterpènes. Il a été observé, en milieu naturel, que la présence de *R. tomentosum* peut entraîner chez *Batula* spp, l'émission en grandes quantités de nouveaux composés volatils (dont palutrol, lédol et ledene). Ces composés restent détectables pendant 4 heures et ont eu un effet sur l'incidence des pucerons (*Euceraaphis betulae*). Sachant que *Batula* spp seule est incapable de produire ces composés, et ne le fait qu'en présence de *R. tomentosum*, le phénomène peut être expliqué par une absorption passive et une réémission des substances volatiles absorbées (Choh et al. 2004).

2.3. Nature des médiateurs chimiques

Selon Mansson (2005), les composés volatils et non volatils qui affectent négativement l'orientation, la recherche et la sélection de la plante hôte sont définis comme antiappétants. Ils sont classés comme une subdivision de signaux inhibiteurs avant ingestion qui peuvent causer 4 types de comportement de rejet de la plante hôte soit lié à un effet répulsif, arrestant, qui supprime ou inhibe l'alimentation (composés dissuasifs). Ces signaux de rejet sont perçus par les récepteurs olfactifs et gustatifs localisés au niveau des tarses, des pièces buccales et des antennes (Robert 1986).

Selon la relation allélochimique présente entre plante et insecte, les médiateurs chimiques qui causent ce comportement de rejet sont classés comme des allomones (Andersson 2007 ; Mansson 2005). L'intérêt agronomique des allomones a été évoqué dans de nombreux travaux dont ceux de Robert (1986) et de Riba et Silvy (1989). Les allomones sont présentes chez diverses plantes, et à différentes concentrations dans des structures diverses tels que les vacuoles, les trichomes, les glandes, etc.... (Bernays et Chapman 1994). Ces substances sont émises dans l'atmosphère environnante ou bien elles sont détectées par le ravageur lors de la prise de nourriture. À distance, ces substances ont un effet répulsif ou «arrestant» qui

empêche l'approche des ravageurs couplé à un effet inhibiteur au moment de la gustation des tissus végétaux (Robert 1986).

Riba et Silvy (1989) distinguent trois grands types de molécules:

- Les dérivés terpénoïdiques : ayant la même origine de biosynthèse, ils dérivent d'unités isoprène à cinq carbones. Ils sont contenus dans diverses huiles végétales. La plupart de ces composés sont des lipides solubles localisés dans le cytoplasme et dans des glandes spéciales (Bernays et Chapman, 1994). Plusieurs composés terpéniques tels les monoterpènes (association de deux molécules d'isoprène) ou les sesquiterpènes (association de trois molécules d'isoprène) sont capables de modifier le comportement des insectes polyphages. Les plantes appartenant à certaines familles, telles que les Lamiacées, les Astéracées et les Rutacées, sont très riches en monoterpènes. Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont caractérisés par une forte volatilité ce qui leur permet d'agir à distance sur le comportement des insectes herbivores. Le β -citronellol, monoterpène extrait des huiles essentielles de l'armoise, est fortement répulsif sur divers types de pucerons tels que *Rhopalosiphum padi* (L.), *Sitobion avenae*, *Metopolophium dirhodum* et *Rhopalosiphum maidis*. Des réponses similaires ont été observées avec le farnésol, géraniol et linalol, isolés d'*Achillea millefolia*. Les lamiacées contiennent des substances terpéniques à fort pouvoir répulsif tels que le linalol, d,l-camphre, α -terpinéol, et 1,8 cinéole (Hori 1998; Hori et Komatsu 1997). Ces substances réduisent, selon ces auteurs, l'incidence des pucerons, soit par répulsion et inhibition de l'atterrissage, soit par altération de l'attractivité de la plante hôte. Tomova et al. (2005) ont montré que les sesquiterpènes et les monoterpènes oxygénés extraits de *Tagetes minuta* (L.) sont extrêmement efficaces dans la restriction de la croissance de la population aphidienne. Le β -caryophyllène s'est montré le plus actif.

- les substances phénoliques et leurs dérivés: ce sont des composés chimiques aromatiques portant un (phénol) ou plusieurs (polyphénol) fonctions hydroxyle (-OH) (Bernays et Chapman 1994). Elles s'accumulent généralement dans les vacuoles centrales des cellules de garde et des cellules épidermiques ainsi que des cellules sous-épidermiques des feuilles et des pousses (Lattanzio et al. 2006). Les composés phénoliques définissent un ensemble de substances de nature différente dont les acides phénoliques simples et leurs glycosides, les flavonoïdes et leurs glycosides, les anthocyanes, et les tanins (Bernays et Chapman 1994). Les termes «composés phénoliques» et «polyphénols» se réfèrent à tous les métabolites naturels secondaires dérivant de la voie de biosynthèse de (phénylpropanoïdes-flavonoïdes) shikimate (Lattanzio et al. 2006). Les modes d'action de ces métabolites sont

multiples (Lattanzio et al. 2006). Diverses substances phénoliques sont impliquées dans l'amélioration de la résistance chez les plantes contre les herbivores (Richard 2001; Tscharnkte et al. 2001). Par exemple, la présence de polyphénol oxydase mène à la production des quinones dans les feuilles ce qui améliore la défense des plantes (Bernays et Chapman 1994). La résistance du blé d'hiver à *R. padi* et *S. avenae* a été attribuée à des teneurs élevées en monophénols (Niraz et al. 1985). Les substances phénoliques peuvent être dissuasives aux insectes. La préférence des ravageurs pour certains cultivars de blé d'hiver a été négativement associée aux teneurs des phénols qui existent naturellement dans les tissus végétaux (Leszczynski et al. 1985; Niraz et al. 1987). Le dihydroxyphénol s'est montré le plus efficace dans l'inhibition de la prise alimentaire (Leszczynski et al. 1985). Les flavonoïdes peuvent être dissuasifs aux insectes phytophages même en faible concentration. Par ailleurs, des essais *in vitro* ont mis en évidence le pouvoir puissant de la quercétine ($C_{15}H_{10}O_7$) et de l'isorhamnétine ($C_{16}H_{12}O_7$) dans l'inhibition du taux de reproduction des pucerons (Lattanzio et al. 2000). Plusieurs composés phénoliques agissent par toxicité sur les pucerons (Facknath et Lalljee 2008). L'acide 3,5-dicaféoylquinique (3,5-diCQ), un métabolite secondaire phénolique, présente des propriétés répulsives et toxiques contre le puceron vert du pêcher (*M. persicae*) (Poessel et al. 2013).

- les composés cyanogéniques: ce sont de performants antiappétants répulsifs, voire toxiques, ils incluent les aminoacides non protéiques, les alcaloïdes, les amines. Ils agissent sur une ou plusieurs espèces d'insectes et ont un rôle considérable dans la sélection de la plante hôte (Bernays et Chapman 1994). Par exemple, des alcaloïdes, extraits d'*A. triplinervis*, ont perturbé la croissance et le développement des nymphes de *M. persicae* (Facknath et Lalljee 2008).

Présentation du travail de thèse

Dans un contexte de recherche de solutions innovantes et alternatives pour aider au contrôle des pucerons, mon travail de thèse avait pour objectifs :

- d'identifier des plantes de service susceptibles d'affecter négativement ou de limiter le développement des populations de pucerons.
- d'évaluer le mode d'action des plantes de service testées (action directe sur les pucerons et/ou action indirecte *via* la plante hôte).
- et d'étudier l'efficacité des plantes de service présélectionnées en conditions de culture moins confinées.

La synthèse bibliographique a confirmé que les composés organiques volatils émis par les plantes de service pouvaient jouer un rôle crucial sur le comportement et l'installation d'une population de pucerons. Elle a aussi souligné que l'on manquait d'informations sur l'identité des COV impliqués et les mécanismes mis en jeu. La première question qui m'a été posée a été de rechercher quelles étaient les espèces candidates à tester par rapport à leur effet potentiel sur les populations de pucerons. Pour répondre à cette question, j'ai cherché à sélectionner des plantes de service, en me basant sur leur potentiel d'émissions de COV.

La première partie de ce travail (chapitre I) a eu pour objectif d'identifier des plantes de service efficaces contre le puceron vert du pêcher. Pour identifier ces plantes, j'ai effectué une analyse bibliographique approfondie sur toutes les plantes utilisées pour lutter contre le puceron soit en utilisant la plante entière, soit leurs huiles essentielles, soit d'autres extraits. Ayant identifié principalement quatre familles de plantes (*Geraniaceae*, *Alliaceae*, *Lamiaceae*, et *Asteraceae*), j'ai ensuite mis au point un test à réaliser en conditions contrôlées pour éviter les interférences avec d'autres facteurs sur le comportement des pucerons (chapitre III). J'ai réalisé un suivi journalier des pucerons vivant sur des poivrons seuls ou sur des poivrons en association avec les plantes de service afin de caractériser les effets des plantes de service testées. Nous avons ainsi pu comparer la survie et la fécondité des femelles entre les deux modalités. Des mesures de COV ont été effectuées afin de caractériser le profil de chaque plante de service. Les travaux présentés dans ce chapitre se sont étalés sur deux ans pour élargir au maximum la gamme des espèces testées.

Ces travaux m'ont permis d'identifier des plantes plus ou moins efficaces pour réduire la prolifération des pucerons. Comment expliquer des dynamiques d'évolution des populations de pucerons très différentes selon les plantes testées? Était-ce lié à la concentration en COV émis par ces plantes, à la nature des COV émis ou bien encore aux mécanismes de réponse induits par ces COV?

C'est pour répondre à ces différentes questions que je me suis concentrée sur un nombre plus faible d'espèces sur lesquelles j'ai recherché quel était le mode d'action des COV sur le comportement de choix des pucerons. L'étude bibliographique avait souligné qu'il existait deux modes d'action des émissions de COV sur les pucerons qui m'ont servi d'hypothèses de travail (Figure 1.10) et le quatrième chapitre de ma thèse a eu pour objectif de répondre aux deux questions suivantes :

- Y-a-t-il un effet direct des COV émis par les plantes de service sur le puceron qui serait lié à leurs propriétés répulsives et/ou dissuasives?
- Y-a-t-il un effet indirect des COV sur les pucerons *via* des modifications du profil chimique de la plante hôte?

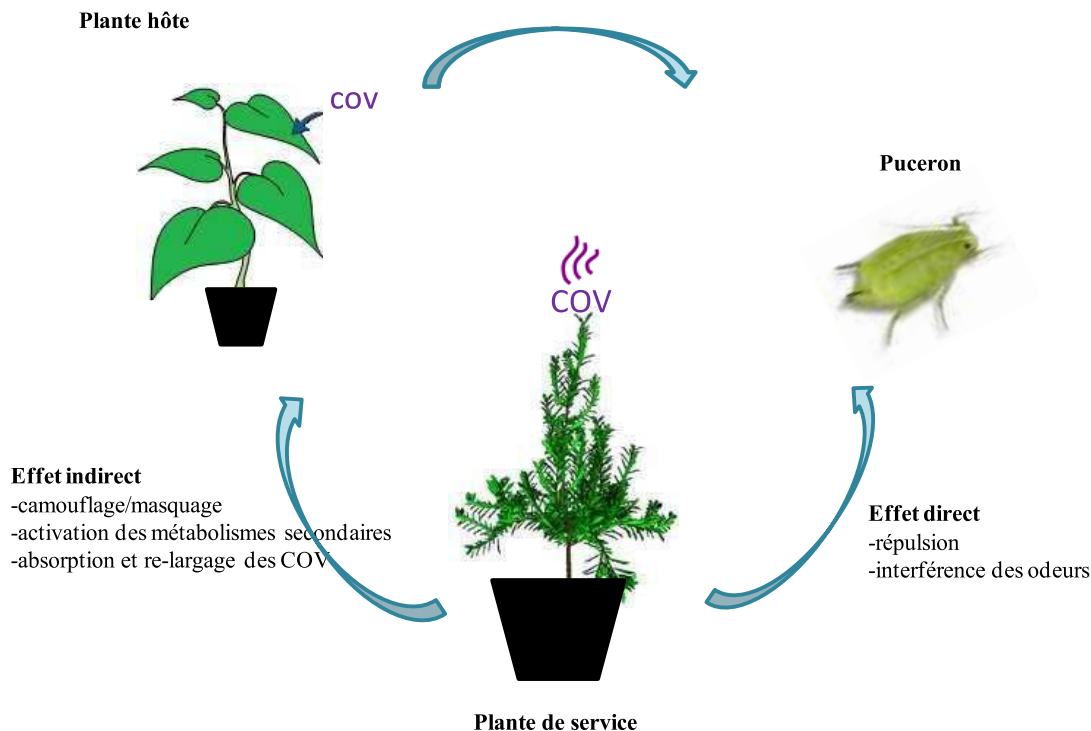


Figure 1.10 : Hypothèses d'un effet direct des COV émis par une plante de service sur le puceron ou indirect *via* des modifications de la plante hôte

Des tests de choix en utilisant des olfactomètres à double chambres ont permis de préciser les effets répulsifs ou neutres des composés volatils non hôtes sur le comportement de choix des pucerons. Les effets indirects des composés volatils sur la plante hôte ont été évalués par des tests de pré-conditionnement pendant lesquels les plantes de poivrons ont été exposées aux odeurs de plantes de service dans un phytotron. Les performances biologiques (survie, fécondité) des pucerons sur ces plantes pré-conditionnées ont été étudiées.

La diffusion de ces travaux et leur potentiel d'application à différents systèmes horticoles se heurtaient aux conditions d'expérimentation confinées dans des enceintes dans lesquelles nous avons travaillé. On pouvait effectivement se demander si les mécanismes observés précédemment pouvaient jouer un rôle dans des écosystèmes plus ouverts tel que des serres ou des tunnels voire en plein champ. Pouvaient-on dans ces conditions de culture sous serre ou tunnel atteindre des concentrations en COV suffisantes pour qu'elles affectent les dynamiques de développement des pucerons? Les plantes sélectionnées précédemment avaient-elles toujours un effet en conditions semi-naturelles sur le comportement des pucerons?

Pour répondre à ces questions dans l'avant dernier chapitre de ma thèse je présente des expérimentations plus appliquées. Nous avons choisi les plantes de service ayant montré un effet significatif important sur l'installation et la performance de *M. persicae* en chambres climatiques et un effet répulsif lors des tests olfactométriques pour tester leur efficacité sous tunnels. Les performances biologiques (survie, fécondité) de pucerons sur ces plantes sont étudiées et discutées. Des prélèvements de composés volatils émis dans l'environnement des plantes de poivron ont été effectués. Ces travaux avaient également pour objectif de déterminer jusqu'à quelle distance on observait des effets significatifs sur les dynamiques de développement des populations de pucerons? Et si l'agencement des plantes dans la serre affectait les réponses.

La discussion finale intègre les différents résultats que nous avons obtenus. Elle synthétise les résultats obtenus sur les composés volatils émis par les différentes plantes testées et les mécanismes impliqués et soulève de nouvelles pistes de recherche à explorer pour améliorer l'efficacité des plantes de service afin de protéger au mieux les cultures.

Chapitre II : Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

1. Matériels

1.1. Le puceron vert du pêcher

Les morphes aptères de *Myzus persicae* (Figure 2.1), mesurent de 1.2 à 2.5 mm sont de couleur vert clair à vert jaunâtre avec des tubercules frontaux convergents, des cornicules très légèrement renflées, assez longues et claires. Les ailés sont de couleur vert clair avec une plaque sombre sur l'abdomen échancrée latéralement et perforée, des antennes longues et pigmentées sauf à la base de l'article III, des cornicules longues et sombres.

C'est une espèce holocyclique diécique. Plusieurs caractéristiques biologiques en font un puceron redoutable. D'abord parce qu'il est polyphage: il peut attaquer des espèces appartenant à 40 familles botaniques, on le retrouve sur les arbres du genre *Prunus*, qui constituent ses hôtes primaires, mais également, plus tard, sur un grand nombre d'hôtes secondaires herbacées sauvages ou cultivées, parmi lesquels la plupart des espèces maraichères: pommes de terre, tomates, poivrons, laitues, chicorées, épinards, choux, carottes, concombres, courgettes, melons... cultivés en plein champs et sous abri (serre, tunnel). Sa dangerosité vis-à-vis des cultures est également liée au fait qu'il est le vecteur d'une centaine de virus contre lesquels on ne dispose d'aucun moyen de lutte curatif : Sharka du prunier ou du pêcher, mosaïque du concombre et de la laitue (CMV, LMV), jaunisse modérée de la betterave (BMV).



Figure 2.1: Le puceron vert du pêcher *Myzus persicae*

1.2. La plante hôte

Le poivron (*Capsicum annuum*) est une plante annuelle qui appartient à la famille des solanacées (comme les tomates). Il est originaire d'Amérique centrale (García Hernández et al. 2004). Le sud de l'Europe et les Etats-Unis occupent la première place dans la production du poivron. Introduit en Europe comme plantes à épices au XV^{ème} siècle par Christophe Colomb (Heiser 1976), actuellement, le poivron est cultivé dans presque toutes les régions du globe et occupe une importance économique majeure. Sa production mondiale est estimée à 23,2 millions de tonnes (source FAO, 2007). D'après Waayenberg 2004, le poivron est composé essentiellement d'eau (90.25 g pour 100 g de poids frais), glucides (6.70g), protéines (1.74g), et très peu de lipides (0.44g). Il contient également différents minéraux (Fer, Calcium, etc.) et vitamines (vitamine C, A, B3, etc.). Les exigences du poivron en chaleur sont plus grandes que celles de la tomate. Son optimum de croissance se situe à 24°C. Son zéro végétatif se situe à 8°C, mais la croissance de la plante ralentit dès que les températures sont inférieures à 13°C. Les exigences de la culture en lumière sont très grandes. C'est une plante de jours longs.

La variété de poivron utilisée pour toutes les expériences est Yolo Wonder. Elle a été obtenue à l'Institut national de la recherche agronomique (INRA, Avignon, UR GAFL). Des semis décalés de poivron ont été réalisés afin d'avoir des plantes de même stade (Figure 2.2). Pour les différents tests, après germination, les plantes sont repotées dans des pots de 1 litre remplis de terreau contenant 70% de tourbe et 30% de vermiculite. L'arrosage se fait manuellement trois fois par semaine. Les plantes ont 6 semaines au moment de l'expérience (5-6 feuilles).



Figure 2.2 : Différents stades de développement des lots de poivrons cultivés sous serre

1.3. Les plantes de service

Treize espèces de plantes de service ont été étudiées dans ce travail (Tableau 2.1). Ces plantes appartiennent à quatre familles botaniques (Lamiacées, Astéracées, Liliacées et Géraniacées). Elles sont connues par leurs propriétés insecticides et leurs émissions de composés organiques volatils répulsifs décrits dans la littérature. Le choix de ces plantes se justifie également par le fait qu'elles se cultivent dans le bassin méditerranéen et pourraient être cultivées pour la production des huiles essentielles.

Les plantes de service sélectionnées ont été achetées en pépinière puis repotées avant d'être utilisées dans les différentes expériences (Figure 2.3). Elles n'ont pas subi de traitements phytosanitaires. L'arrosage se fait manuellement trois fois par semaine.



Figure 2.3: Culture des plantes de service sous serre (romarin, lavande, basilic, géranium...)

Tableau 2.1 : Liste des plantes de service utilisées au cours des expérimentations

Nom commun	Nom latin	Famille botanique
Romarin	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Lamiaceae</i>
Lavande	<i>Lavandula latifolia</i>	<i>Lamiaceae</i>
Basile	<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Lamiaceae</i>
Sarriette	<i>Satureja hortensis</i>	<i>Lamiaceae</i>
Thym	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Lamiaceae</i>
Menthe poivrée	<i>Mentha piperita</i>	<i>Lamiaceae</i>
Souci	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Asteraceae</i>
Rose d'inde	<i>Tagetes erecta</i>	<i>Asteraceae</i>
Œillet d'inde	<i>Tagetes patula nana</i>	<i>Asteraceae</i>
Inule visqueuse	<i>Dittrichia viscosa</i>	<i>Asteraceae</i>
Carthame	<i>Carthamus tinctorius</i>	<i>Asteraceae</i>
Ciboulette	<i>Allium schoenoprasum</i>	<i>Alliaceae</i>
Géranium	<i>Pelargonium zonal</i>	<i>Geraniaceae</i>

2. Méthodes

2.1. Elevage des pucerons

L'ensemble des expériences a été réalisé sur des pucerons issus du même clone parthénogénétique de *M. persicae* (Sulzer). Les pucerons utilisés au cours de ma thèse sont tous issus de même clone (Mp05) initialement issu de la descendance d'une fondatrice récoltée sur un pêcher du centre INRA d'Avignon. Comme nos études sont focalisées sur le suivi du comportement du puceron et son installation, notre choix s'est porté sur l'utilisation des pucerons aptères afin de faciliter le suivi. Les pucerons sont élevés et maintenus sur des plants de poivron dans un insectarium sous conditions climatiques contrôlées (température de $20 \pm 1^\circ\text{C}$, humidité relative de 60-70%, photopériode de 16h de jour et 8h de nuit) afin d'obtenir uniquement des pucerons aptères se reproduisant par parthénogenèse.

Pour réaliser nos expérimentations, l'élevage de pucerons est synchronisé afin d'obtenir des pucerons à des stades physiologiques de développement bien définis. La synchronisation de l'élevage est réalisée en mettant, à faible densité, des femelles adultes aptères parthénogénétiques sur des jeunes plants de poivron. Après 24 heures, les femelles sont retirées et les larves qui ont été pondues pendant ces 24 heures sont laissées sur les plantes

jusqu'à atteindre le stade adulte (4 stades larvaires ; de L1 à L4). Pour les expérimentations en enceintes climatiques et sous tunnels, les femelles utilisées étaient âgées de 8 jours. Pour les expérimentations d'olfactométrie et pré-conditionnement, les femelles étaient âgées de 10 jours.

2.2. Prélèvement des COV

Dans le cadre de cette étude, nous nous sommes intéressés aux composés volatils émis par les plantes de service qui peuvent être vecteurs d'informations. Plusieurs dispositifs de captage des composés volatils existent, la plupart appliqués à une partie de la plante (tige, fruit...) (Staudt et al. 2010; Tholl et al. 2006), d'autres, moins nombreux, permettent d'échantillonner une plante entière (Kunert et al. 2002; Tholl et al. 2006).

Donc nos objectifs sont: en premier lieu concevoir des dispositifs capables de prélever un échantillon de COV identifiable, caractériser l'aspect volatil des plantes de service utilisées et ensuite l'échantillonnage de l'air environnant des plantes de service avec la plante hôte (le poivron).

2.2.1. La Micro extraction en phase solide "SPME "

Nous avons fait le choix d'utiliser la micro-extraction en phase solide **SPME** (Figure 2.4) plutôt que d'effectuer le prélèvement sur une cartouche remplie afin de faciliter la mise en œuvre de l'expérimentation, ainsi que la rapidité des analyses.

Parmi les fibres SPME disponibles, nous avons choisi la phase PDMS -DVB 65 μ m car c'est celle qui présente le plus large spectre d'adsorption des composés recherchés (Shirey, 2009). La fibre est constituée de silice fondue recouverte d'un ou plusieurs polymères absorbants [polydiméthylsiloxane (PDMS) et en divinylbenzène (DVB)].

La SPME a été appliquée soit de façon semi-statique (dispositif de prélèvement clos ventilé), soit de façon dynamique par aspiration d'air et exposition de la fibre dans le flux.

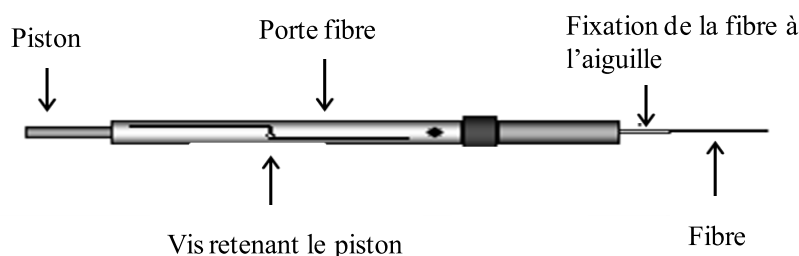


Figure 2.4 : Schéma d'une fibre SPME

2.2.2. Dispositifs expérimentaux

Nous avons mis au point deux dispositifs. Le premier permettant un échantillonnage rapide de ces composés appliqués à la plante entière (ou tout au moins à son environnement immédiat), le second permettant d'échantillonner directement sur le terrain ou en dispositif expérimental.

2.2.2.1. Le dispositif de prélèvement statique

Ce dispositif a été utilisé afin de caractériser le profil volatil des plantes de service.

Description

Ce dispositif (Figure 2.5) est constitué d'une enceinte en Plexiglas[®] de forme parallélépipédique, de dimensions 40 x 40 cm pour la base et d'une hauteur de 50 cm. La construction de ce dispositif a été réalisée par assemblage à sec, sans aucun collage de façon à minimiser les risques d'émanations de composés volatils. Six orifices ont été réalisés dans les parois. Ils sont constitués par des raccords à vis obturés par des septa de type chromatographique. Ils sont répartis en deux séries de trois orifices, disposées de façon symétrique par rapport à la diagonale de la base, à 8 cm de la paroi latérale; le niveau 1 est à 10 cm de hauteur, le niveau 2 à 25 cm et le niveau 3 à 40 cm (hauteurs par rapport à la base). Deux ventilateurs sont disposés sur la base du dispositif, au-dessous de chaque rangée d'orifices de manière à homogénéiser l'atmosphère lors du prélèvement, ils sont surélevés de 5 cm par rapport au fond. Ce dispositif est utilisé en laboratoire.

Des essais préliminaires nous ont permis de proposer le protocole de prélèvement définitif. La durée de prélèvement et la durée de stabilisation ont été testées. La combinaison choisie est celle qui offre le meilleur compromis entre sensibilité et rapidité du test. La hauteur de prélèvement n'a pas d'effet sur le résultat si les deux ventilateurs sont en marche.

Protocole de prélèvement

Après avoir entouré le pot contenant la plante de service avec de l'aluminium (afin d'éviter l'émission de COV en provenance de la terre et du pot), on place la plante dans l'enceinte en plexiglas. Les ventilateurs, alimentés par une tension de 7.5V, sont alors mis en route en même temps que le chronomètre. Après 10 minutes de stabilisation, on introduit la fibre SPME à travers le septum puis on l'expose à l'atmosphère du dispositif pendant 5 minutes en présence de la plante de service testée. Après le retrait de la fibre, celle-ci est obturée à l'aide

d'un septum avant analyse. L'analyse GC-MS est réalisée entre 15 et 20 minutes après la fin du prélèvement.

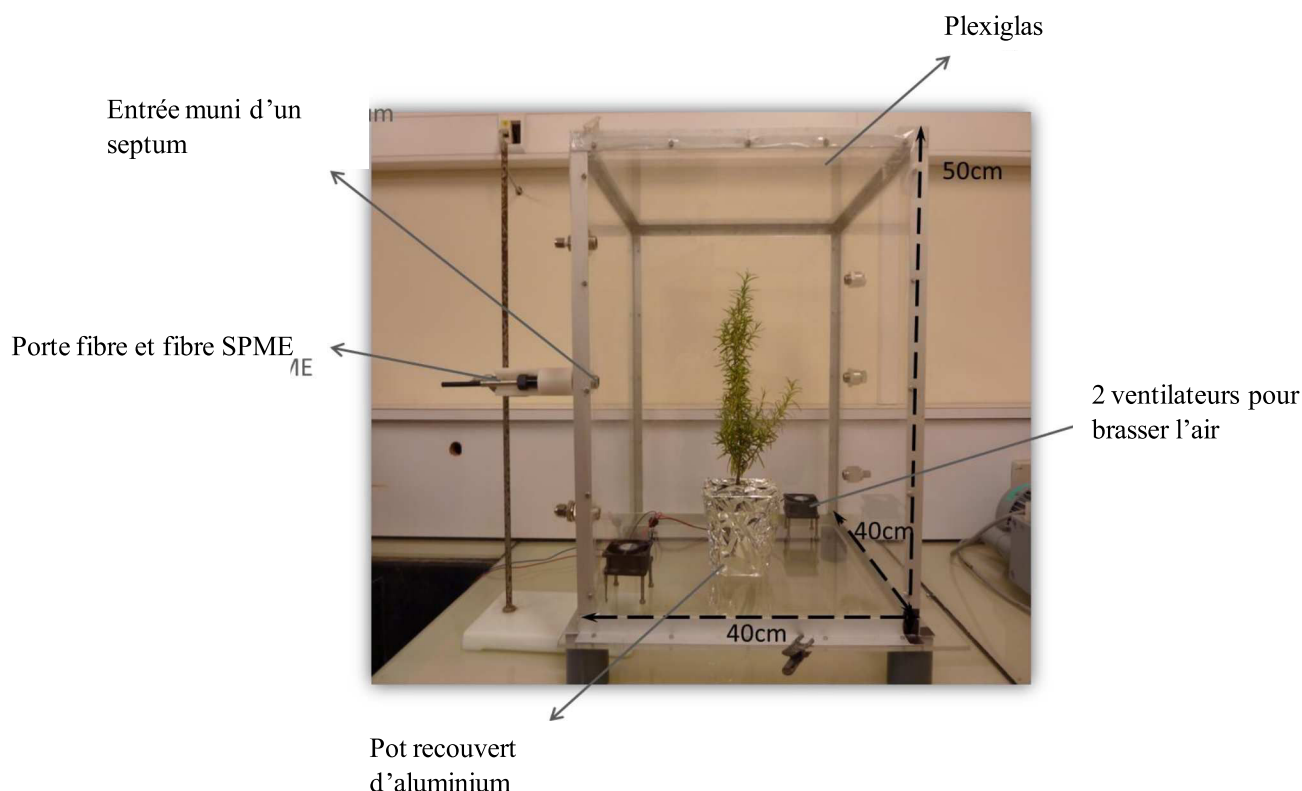


Figure 2.5 : Photographie du dispositif expérimental statique lors d'un prélèvement des COV émis par un romarin (*Rosmarinus officinalis*)

2.2.2.2. Le dispositif de prélèvement dynamique

Ce dispositif a été utilisé afin d'échantillonner les composés volatils en enceintes climatiques et sous tunnels

Description

Ce dispositif, inspiré des travaux menés par Augusto et al. (2001) et Koziel et al. (2000), est constitué d'un tube en verre horizontal (muni d'un septum) à deux entrées et relié d'un côté à un tuyau en téflon de 3 m muni à son extrémité d'un entonnoir permettant de capter les composés volatils là où on le souhaite et de l'autre côté à une pompe permettant l'aspiration de l'air au niveau de l'entonnoir. Le dispositif est muni d'un régulateur de débit de 0 à 10 L/min. Le débit utilisé est de 5L/min de manière à obtenir un débit linéaire suffisant au niveau de la fibre SPME (Figure 2.6). Des essais préliminaires nous ont montré que la durée optimale de prélèvement est de 20 à 30 minutes (équivalent à l'aspiration de la totalité du volume du

dispositif statique).

Protocole de prélèvement

Après le positionnement du dispositif à l'endroit souhaité, la pompe est mise en route, le débit est réglé à 5L/min ; une durée de stabilisation de 2 minutes est respectée avant d'exposer la fibre. Le prélèvement de l'air est effectué dans le tube en verre où la fibre SPME est introduite à la verticale à travers le septum, celle-ci est mise en contact du flux d'air aspiré pendant 20 min afin de capter un échantillon représentatif des COV présents dans l'atmosphère.

Ce dispositif a l'avantage d'être facilement transportable et ainsi permettre les prélèvements hors du laboratoire (dans des enceintes climatiques, dans des champs, dans une serre).



Figure 2.6: Photographie du dispositif dynamique lors d'un prélèvement des COV sous tunnel. (a) Entonnoir positionné au-dessus des plantes de poivron. (b) Fibre SPME (flèche) mise en contact du flux d'air (20 min)

2.2.3. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse: la GC-MS

Les échantillons prélevés grâce à la méthode SPME sont analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).

2.2.3.1. La chromatographie en phase gazeuse (GC)

La chromatographie en phase gazeuse est une technique dans laquelle les constituants d'un mélange se séparent en fonction des vitesses auxquelles ils sont entraînés à travers une phase stationnaire (ici apolaire) par une phase mobile (l'hélium). Le chromatographe est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur ici le spectromètre de masse. Le gaz vecteur, l'hélium, a pour rôle de véhiculer les analytes depuis

l'injecteur jusqu'au détecteur *via* la colonne analytique. L'appareil GC-MS utilisé dans cette étude est le Trace-ISQ Thermo équipé d'une colonne apolaire TR-5MS. L'injecteur "splitless" est utilisé à une température de 250°C, pour permettre la désorption de la fibre. Après désorption pendant 2 minutes et déclenchement de l'analyse, l'échantillon est instantanément mélangé au gaz vecteur. La colonne capillaire (20 m de longueur, 0,1 mm de diamètre interne et phase stationnaire de 0,1µm) est apolaire, sa phase stationnaire est donc constituée de fonctions apolaires greffées sur le tube de silice. Sur une colonne apolaire, les constituants sont séparés en fonction de leur volatilité. Les propriétés physico-chimiques différentes de ces composants leur confèrent des vitesses d'élution différentes, ce qui permet de les séparer en fonction du temps.

2.2.3.2. Programme thermique

Le temps d'acquisition est de 30 minutes. Le profil de température du four est de 2 minutes à 40°C après désorption puis augmentation de 20°C/minute jusqu'à 100°C puis 5°C/minute de hausse jusqu'à 160°C et enfin 30°C/minute jusqu'à 300°C. La température est maintenue à 300°C pendant 30 secondes pour purger la colonne d'éventuels résidus.

La désorption est l'évaporation des composés captés par la fibre dans l'injecteur à 250°C. L'injecteur permet de régler le débit de fuite grâce à une électrovanne. En mode "splitless", l'électrovanne est fermée pendant les quelques dizaines de secondes qui suivent l'injection, de manière à ce qu'une quantité maximum d'analytes pénètre dans la colonne. Elle est ensuite ouverte pour purger l'injecteur d'éventuels résidus.

La température initiale du four (ici 40°C) est inférieure à la température d'ébullition de l'hélium, celui-ci va donc se condenser en tête de colonne et piéger les composés désorbés. Après 2 minutes de désorption, l'analyse est déclenchée et les composés évaporés sont entraînés par l'hélium, le gaz vecteur, dans la colonne. Suivant leur volatilité et les températures programmées du four, les composés seront séparés et caractérisés par un temps de rétention RT (temps au bout duquel le composé sort de la colonne).

2.2.3.2. La spectrométrie de masse (MS)

Les spectres de masse ont été obtenus avec un spectromètre de masse à quadripôles et ionisation par impact électronique. Un spectromètre de masse est composé d'une source (ionisation et fragmentation), d'un analyseur (séparation des ions suivant la masse sur la charge $[m/z]$) et d'un détecteur (comptage des ions). De plus, un système de pompage assure le vide qui permet le déplacement des ions et ainsi leur séparation dans l'analyseur et

l'évacuation des molécules résiduelles et des molécules éluées du chromatographe (mais non ionisées), ces deux types de molécules pouvant polluer le spectromètre de masse. L'ionisation par impact électronique consiste à "bombarder" les molécules par un faisceau d'électrons de haute énergie. L'impact d'un électron sur la molécule M conduit à la formation d'un ion radicalaire $M^{\bullet+}$. Cet ion possède une grande quantité d'énergie interne qui l'amène généralement à se fragmenter spontanément en ions plus petits appelés "ions-fils". C'est ensuite l'analyseur qui sépare les ions produits par la source en fonction de leur rapport masse sur charge : m/z . Dans le cas d'un couplage avec la GC, une ligne de transfert chauffée à une température élevée permet le passage des analytes vers le MS sans une nouvelle condensation. Grâce à ce couplage, le spectromètre de masse, un des détecteurs les plus utilisés, permet d'obtenir des informations spectrales pour une identification des pics.

2.2.4. Traitements des données

2.2.4.1. Identification des composés volatils

L'identification des COV se fait par GC-MS après une séparation des échantillons sur une colonne apolaire (TR-5MS) et obtention de chromatogrammes. Le nom des diverses molécules est déterminé en comparant les spectres de masse obtenus à la base de données numériques NIST 2005. Ces noms sont ensuite vérifiés par la comparaison entre les indices de rétention (indices de Kovats¹) des COV (calculés à l'aide de la gamme d'étalonnage de n-alkanes [C8-C20]) et les indices de rétention publiés dans la base de données NIST 2005. La différence entre ces deux indices ne doit pas dépasser 10. Notons cependant que l'on ne peut totalement être sûr de la présence d'une molécule par la simple comparaison des indices de Kovats. C'est pourquoi, lorsque nous disposons des COV sous forme de standards commerciaux purs, nous avons vérifié que le temps de rétention du composé pur correspondait bien au temps de rétention du composé à identifier. De plus une recherche bibliographique sur les huiles essentielles contenues dans les différentes plantes testées nous a permis de confirmer l'identification des différentes molécules rencontrées dans nos chromatogrammes.

¹ L'indice de Kovats se calcule de la façon suivante:

$$I(X) = \left(n + \frac{\log(r(X)) - \log(r(N))}{\log(r(N+1)) - \log(r(N))} \right) \times 100$$

X: composé inconnu

N: n-alcane à N atomes de carbone, élué avant X

N+1: n-alcane à N+1 atomes de carbone, élué après X

On remarque dans tous les chromatogrammes des pics parasites issus de la fibre SPME, ce sont des pics de dégradation de la fibre qui augmentent ou diminuent au cours du temps.

2.2.4.2. Quantification des composés volatils

La quantification peut se faire manuellement par le logiciel Thermo Xcalibur Qual Browser. Après isolement et identification d'un pic, on peut l'intégrer afin d'en connaître son aire. On associe l'aire du pic isolé à l'émission du COV que l'on a identifié. Après avoir identifié manuellement les COV d'une plante, on peut créer un "processing" pour cette plante grâce au logiciel Thermo Xcalibur Processing method. Chaque COV trouvé est associé à un temps de rétention et à plusieurs ions caractéristiques de son spectre. Pour chaque séquence, le logiciel intègre chaque pic à partir du courant d'un ou plusieurs ions caractéristiques de l'analyte. Ceci permet de s'affranchir des co-élutions partielles de pics et de traiter un grand nombre de séquences par intégration automatique.

2.3. Les essais en enceintes climatiques

Les essais ont été conduits dans 3 enceintes climatiques (Sanyo, MLR-351H) qui nous permettent de contrôler et reproduire des conditions expérimentales stables (Figure 2.7).

Six plants de poivrons (5-6 feuilles) sont introduits à J1 dans chaque enceinte sur un même niveau. Les plantes en pot ne se touchent pas et sont placées sur une coupelle d'eau. Les conditions de culture sont les suivantes : température de 20 ± 1 °C, une humidité relative de 70 ± 10 %, et un rayonnement de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pendant 12h. A J2, à l'aide d'un pinceau mouillé les pucerons (jeunes adultes aptères âgés de 8 jours), issus d'une même cohorte sont déposés sur les plants de poivrons (10 femelles /plant). Les pucerons sont suivis durant une période de 10 jours. Chaque jour, à la même heure (14h), le déplacement des pucerons est observé puis les femelles sont comptées et les larves pondues comptées puis éliminées. A J3, les plantes de service (PdS) sont introduites dans 2 des enceintes (3 plants d'une même espèce par enceinte), 3 plants de poivrons sont introduits dans la troisième enceinte servant de témoin (Figure 2.7). Les mesures quotidiennes se poursuivent jusqu'au terme de l'essai à J12. Compte tenu des contraintes d'élevage des pucerons, de la disponibilité des PdS au stade phénologique requis, de la durée globale d'un essai (2 semaines) et de la disponibilité des enceintes, l'expérience a été répétée deux fois pour chaque plante de service (Tableau 2.2).

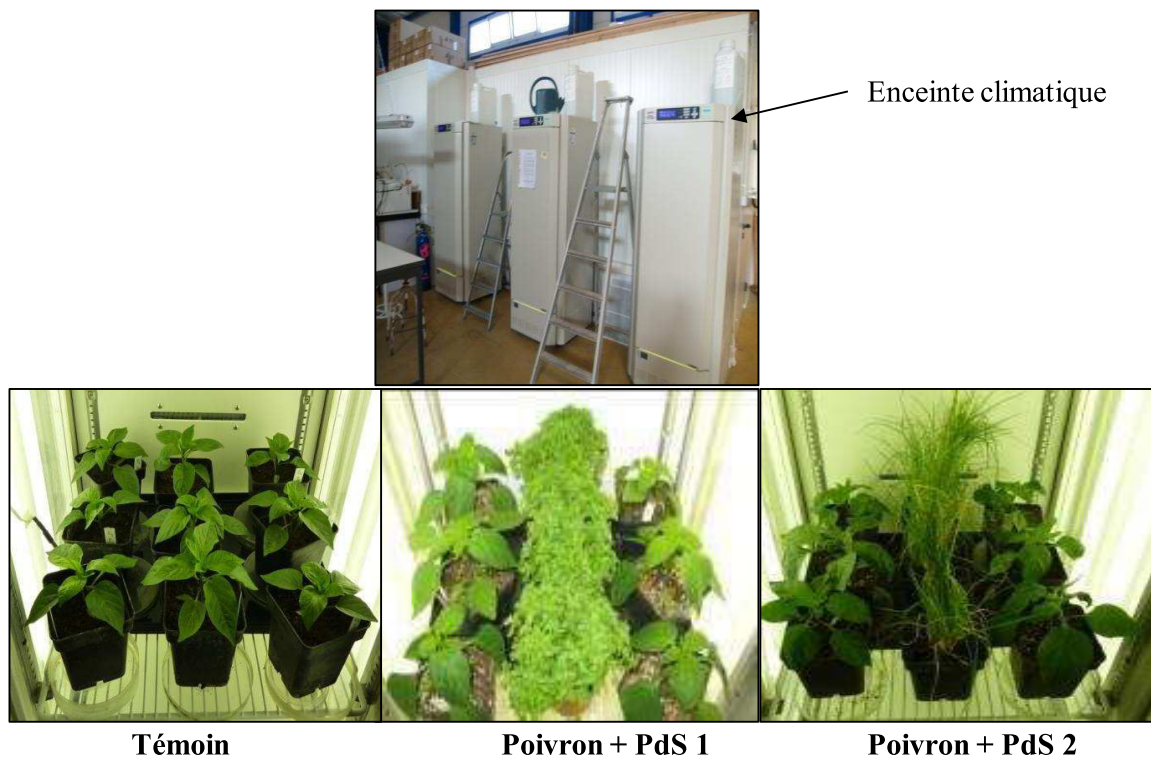


Figure 2.7: Installation des poivrons et plantes de service (PdS) dans les enceintes climatiques

Tableau 2.2 : Liste des plantes de service utilisées et des périodes d'essais

Traitement	Répétition	Période d'essai	
		Début	Fin
Romarin	1	09-Mai-2011	20-Mai-2011
	2	30-Juil-2011	08-Aout-2011
Lavande	1	09-Mai-2011	20-Mai-2011
	2	30-Juil-2011	08-Aout-2011
Sarriette	1	24-Mai-2011	04-Juin-2011
	2*	18-Avr-2012	29-Avr-2012
Menthe poivrée	1	24-Mai-2011	04-Juin-2011
	2	22-Oct-2012	02-Nov-2012
Basilc	1	06-Juin-2011	17-Juin-2011
	2	09-Aout-2011	20-Aout-2011
Ciboulette	1	06-Juin-2011	17-Juin-2011
	2*	05-Mai-2012	16-Mai-2012
Thym	1*	01-Juil-2011	12-Juil-2011
	2	09-Aout-2011	20-Aout-2011
Géranium	1	16-Juil-2012	27-Juil-2012
	2	30-Juil-2012	10-Aout-2012
Oeillet d'inde	1	16-Juil-2012	27-Juil-2012
	2	29-Aout-2012	09-Sep-2012
Oeillet d'inde	1	30-Juil-2012	10-Aout-2012
	2	29-Aout-2012	09-Sep-2012
Souci	1	11-Sep-2012	22-Sep-2012
	2	24-Sep-2012	05-Oct-2012
Inule visqueuse	1	11-Sep-2012	22-Sep-2012
	2	24-Sep-2012	05-Oct-2012
Carthame	1*	08-Oct-2012	19-Oct-2012
	2	22-Oct-2012	02-Nov-2012

* dans ces cas, une seule espèce de PdS a été testée avec un contrôle à cause d'un dysfonctionnement de la troisième enceinte climatique.

2.4. Les essais sous tunnels

2.4.1. Acquisition du matériel

Les expérimentations ont été réalisées en Juin-Juillet 2012 sous quatre tunnels plastiques dotés de portes insect-proof nord et sud (10m de longueur, 8m de largeur). Les tunnels ont été blanchis afin de réduire la température, le sol a été recouvert de toiles vertes afin de réduire le rayonnement réfléchi (Figure 2.8a). Les portes insect-proofs favorisent la ventilation tout en empêchant l'entrée des insectes. Des capteurs de température et d'humidité ont été installés pour caractériser le microclimat au cours des différentes expérimentations.

Poivron : Les plants sont repiqués dans des pots de 4L utilisés en tests au stade 10-15 feuilles. Les plantes de service: nous avons choisi de travailler sur trois PdS : le romarin, la lavande et le basilic, qui ont montré leur efficacité lors des essais en enceintes climatiques. J'ai testé ces plantes au stade floraison.

Les PdS et les poivrons sont irrigués par un système goutte à goutte à raison de 8min /jour (2min *4 fois : 6h, 10h, 14h, 18h) soit un apport de 180 ml/plante/j et d'une solution nutritive de liquoplant (2,5-5-2,5 ; NPK) +Mgo+OE à raison de 5ml/1L d'eau (Figure 2.8b).

2.4.2. Combinaisons testées

Deux essais ont été conduits afin de comparer l'effet des PdS sur le comportement et la performance des pucerons (1^{ier} essai : du 20 Juin au 2 juillet ; 2^{ième} essai : du 12 au 24 Juillet). Des essais préliminaires ont été effectués pendant les mois d'Avril et de Mai, pour évaluer et améliorer notre dispositif, et établir un protocole expérimental fiable. Plusieurs problèmes ont ainsi pu être résolus: -mise en place des plantes sur des tables au lieu de les mettre par terre : éviter la présence des insectes surtout les parasitoïdes et les prédateurs.

Les plantes sur lesquelles on fait les mesures ont été protégées par des sacs en toile (Organza) et placées sur des coupelles d'eau pour isoler la plante et éviter les sorties des pucerons et l'entrée d'auxiliaires (Figure 2.8e). Dans chaque tunnel, les plantes sont disposées sur 3 doubles rangs de tables à 1 m du sol. Les pieds des tables ont été couverts de glue.

Pour les deux essais il y avait 66 poivrons par tunnel (22/rang de table) + 24 plantes de service ; Pour le tunnel témoin, on a remplacé les plantes de service par des poivrons. Les suivis des populations de pucerons se font sur 18 plants de poivrons. Entre les deux essais, le plan d'organisation a été légèrement modifié pour s'affranchir d'un effet tunnel (les plantes de service n'occupaient pas le même tunnel que dans la première manip) et quatre plants de poivrons (au lieu de deux) ont été placés au nord de chaque rang pour minimiser un éventuel effet de bordure.

Pour évaluer l'effet de la présence des plantes de service, nous avons mis en place 2 dispositions :

- 1 poivron entouré de deux PdS (disposition 1, Figure 2.8c)
- 1 poivron en contact avec une seule plante de service (disposition 2, Figure 2.8d)
- Dans le tunnel témoin des plantes de poivron remplacent les PdS.

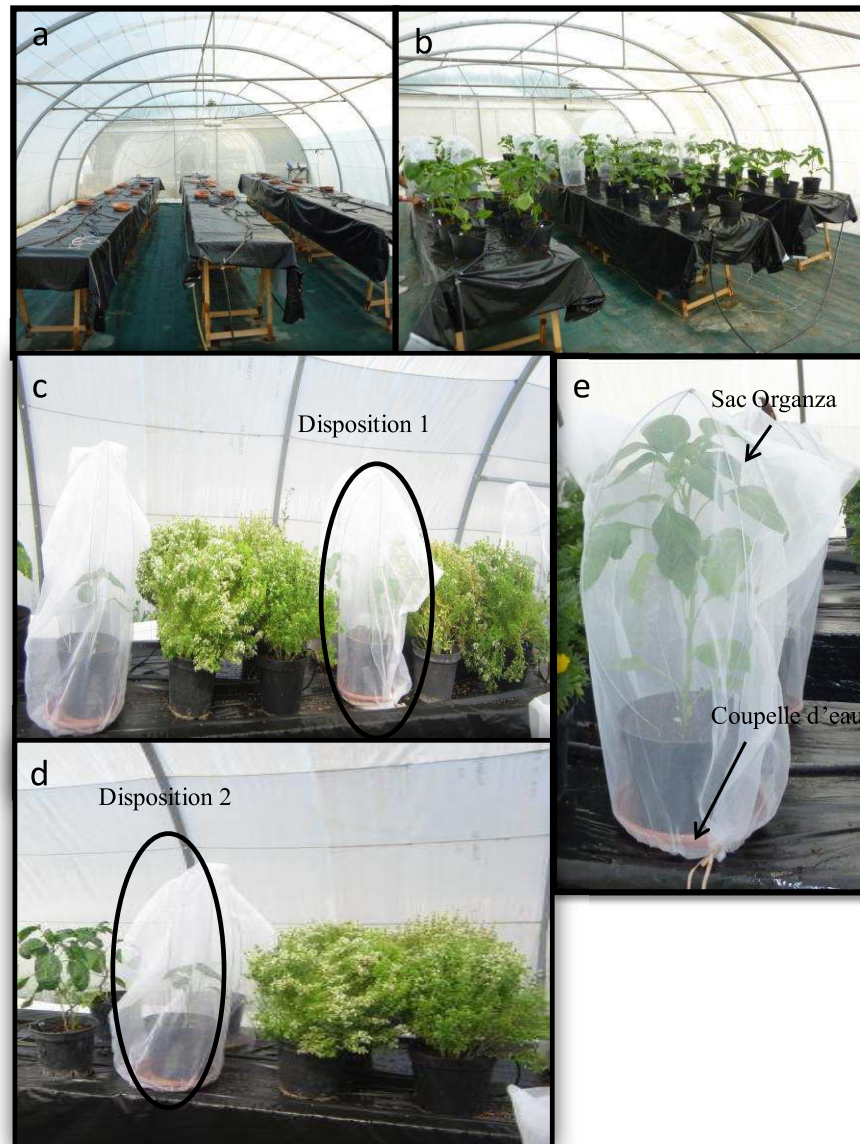


Figure 2.8: Essai sous tunnel. (a) installation des tables, (b) installation des plantes, (c) un poivron à proximité de deux plantes de service : disposition 1, (d) un poivron à proximité d'une seule plante de service : disposition 2, (e) une plante de poivron protégée par un sac en toile (Organza). On visualise la coupelle d'eau qui permet de recueil des femelles ayant fui la plante

2.4.3. Déroulement de l'essai

A J1, toutes les plantes (poivron+PdS) sont installées dans les quatre tunnels. Les pucerons ont été aussi mis sous le tunnel témoin afin de les acclimater aux conditions de culture. A J2, 18 plantes de poivrons par tunnel ont été infestées à raison de 5 pucerons par plante et couvertes par des sacs en Organza. Le premier comptage (femelles et larves) a été effectué à J4. Au total quatre comptages sur les plantes sélectionnées ont été réalisés (J4, J8, J11 et J15). À chaque date (de 8h à 11h), le nombre total des femelles et larves (y compris tous les stades) a été enregistré sur chaque plante sélectionnée afin d'évaluer la survie et la fécondité des femelles.

2.4.4. Prélèvement et identification des COV émis par les PdS

Les prélèvements de COV *in situ* ont été réalisés sous tunnels pendant la deuxième expérimentation afin d'identifier les composés à proximité des plantes de service et des poivrons. Nous avons utilisé le dispositif de prélèvement dynamique décrit précédemment (section 2.2.2.2). Le dispositif est positionné au dessus et à proximité des plantes de poivrons. L'extraction des COV sous chaque tunnel se fait 3 fois par jour : 9h, 12h, 17h selon le protocole de prélèvement décrit dans la section (2.2.2.2). L'analyse GC-MS et le traitement des données sont fait selon le même protocole décrit dans la session (2.2.4).

Chapitre III: Quelles sont les plantes de service qui peuvent affecter l'installation du puceron vert du pêcher : étude en conditions contrôlées

Chapitre III : Quelles sont les plantes de service qui peuvent affecter l'installation du puceron vert du pêcher : étude en conditions contrôlées

Présentation de l'étude

La survie et le nombre de descendants viables et reproducteurs produits par un insecte tout au long de son cycle de vie sont conditionnés par l'environnement. Dans des conditions naturelles, il est souvent difficile d'évaluer l'influence d'un facteur donné sur le comportement et le succès reproducteur de l'insecte. Cependant, Il existe un lien direct entre les comportements menant à la colonisation des plantes hôtes et les informations perçues par le puceron sur la qualité de son habitat. La chronologie du processus de sélection et d'acceptation de la plante hôte nous servira de fil conducteur pour développer de nouvelles méthodes de lutte préventives en étudiant plus particulièrement le rôle des composés volatils émis par les plantes de service dans la modification de l'environnement de la plante hôte.

L'utilisation des plantes de service ayant des propriétés répulsives ou affectant le profil olfactif de la plante hôte est peu développée en plein champ en comparaison de l'usage de plantes pour piéger les pucerons ou attirer les auxiliaires. Il est plus complexe d'évaluer l'efficacité du premier type de plante par rapport au second, car le suivi du comportement des pucerons est difficile et soumis aux interactions complexes entre différents facteurs environnementaux. Comprendre quels sont les signaux utilisés par les pucerons pour s'installer sur leurs hôtes est une première étape pour pouvoir manipuler l'habitat et le rendre moins détectable, ce qui peut largement contribuer à réduire l'incidence des pucerons sur les plantes et limiter leur infestation.

Dans la littérature, l'implication des composés volatils dans la sélection de la plante hôte a été abordée selon différentes méthodes.

- Certaines visent à comprendre comment les pucerons localisent et exploitent les plantes, et en particulier quels signaux ils utilisent pour choisir leur site de survie et évaluer la qualité de leur plante hôte.
- D'autres visent à déterminer comment ces comportements se sont mis en place et quelle est leur influence sur la survie et la 'fitness' de l'individu.

Les références à l'efficacité des plantes de service sous forme d'huiles essentielles ou autres extraits et leur effet néfaste sur les populations de pucerons sont relativement nombreuses dans la littérature. Cependant, les études expérimentales sur l'effet de la plante entière (vivante) sont beaucoup moins abondantes. Dans tous les cas, elles ne conduisent qu'à des spéculations sur l'incidence de ces composés volatils en fonction des dynamiques des populations *in situ*.

Le dispositif mis en place pour cette étude exclut la plupart des interactions que l'on rencontre dans un milieu naturel, afin de mettre en évidence le rôle spécifique des composés volatils émis naturellement par les plantes de service sur le comportement de pucerons présents sur leurs plantes hôtes.

Ce travail est présenté sous la forme d'un article soumis au journal 'Pest Management Science' sous le titre suivant : Which companion plant can affect the settling of green peach aphid on host plants? Screening of thirteen candidate plants under laboratory conditions.

Résumé

Ce travail vise à identifier des plantes de service, émettrices de composés volatils qui pourraient aider à lutter contre les insectes ravageurs lorsqu'elles sont cultivées en association avec des cultures horticoles. Nous avons testé des plantes dont les extraits (notamment les huiles essentielles) étaient connus pour perturber le comportement du puceron avec pour objectif de déterminer si l'on retrouvait cet effet avec des plantes entières associées aux cultures et de caractériser leurs effets sur le puceron vert du pêcher lorsqu'elles étaient cultivées en association avec des plantes de poivron.

L'association entre les plantes a été réalisée dans des enceintes climatiques en utilisant des plantes en pots afin d'éviter les interactions racinaires. Huit plantes de service (romarin, œillet d'inde, rose d'inde, géranium, lavande, basilic, ciboulette et souci) ont affecté la performance des pucerons en réduisant la fécondité et/ou la survie des femelles. Le romarin suivi par l'œillet d'inde et la rose d'inde ont réduit fortement la survie et la fécondité des femelles. Les analyses chimiques indiquent que le romarin et l'œillet d'inde sont caractérisées par un profil volatil spécifique. Cependant, cinq plantes de service (carthame, inule visqueuse, thym, sarriette et menthe poivrée) n'ont eu aucun effet significatif sur la performance des pucerons, ce qui pourrait être lié au faible nombre de volatils émis.

Les plantes de service peuvent affecter l'installation des pucerons et peuvent être utilisées dans les stratégies d'association de cultures afin de limiter les populations de pucerons.

Mots clés : Composés volatils, Performance, Comportement d'installation, plantes compagnes, *Myzus persicae*, Romarin

**Which companion plant can affect the settling of green peach aphid on host plants?
Screening of thirteen candidate plants under laboratory conditions**

Refka Ben Issa, Hélène Gautier, Guy Costagliola, Laurent Gomez

INRA, UR1115 PSH, F-84000 Avignon, France

Address for correspondence; Dr Hélène Gautier; INRA, UR1115 PSH, F-84000 Avignon, France. Tel.: +33 4 3272 2345; Fax: +33 4 3272 2432. E-mail: helene.gautier@avignon.inra.fr

ABSTRACT

BACKGROUND: Intercropping of companion plants that release distinct volatile compounds with horticultural crops has been proposed to improve pest management. Although companion plant extracts or essential oils have been reported to be efficient in disturbing the settling of such insects as aphids, the effect of using living companion plants remains relatively unknown. Our aim was to screen companion plant species that emit different volatiles for their effect on green peach aphid settling released on adjacent pepper plants.

RESULTS: Intercropping was tested in growth chambers using potted plants to avoid root interactions. Eight companion plant species (rosemary, African marigold, French marigold, geranium, lavender, basil, chives, and pot marigold) affected aphid performance by reducing fecundity and/or survival. Rosemary followed by African and French marigold were associated with the largest reduction in female survival and fecundity. Chemical analyses indicated that rosemary and French marigold emit specific volatiles. In contrast, five companion plant species (safflower, false yellowhead, thyme, savoury, and peppermint) were not associated with a significant change in aphid performance and emitted a lower diversity of volatiles.

CONCLUSION: Living companion plants may affect the settling of aphids and have the potential to be used in intercropping strategies to limit aphid population.

Key words: Volatile compounds, Aphid performance, Settling behaviour, Intercropping, *Myzus persicae*, Rosemary

1. INTRODUCTION

The use of pesticides has now become a major problem that threatens our planet and needs to be resolved. Although they are effective, pesticides have major environmental and human costs; indeed, their repeated use has increased pest resistance,^{1,2} raised the levels of residues in harvested products,³ and polluted both the soil and air.⁴ Nevertheless, pesticides are still used intensively to control aphids and limit their impact on crop production. These sucking insects feed on plant phloem tissues, causing both direct and indirect damage by transmitting viruses, and can kill the plant.⁵ Because of its polyphagy, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) is one of the most dangerous aphids. It can feed on more than 40 botanic families and transmit over 100 plant viruses at various scales (i.e., field, region, country, and continent).^{6,7,8,9}

To address this serious issue, current research is attempting to limit aphid populations by focusing on gaining a clearer understanding of the relationships between aphid behaviour and the ecological functions of landscape management.^{10,11} Some studies have examined strategies to restrict aphid colonization in light of their sensitivity to visual or odorant signals when selecting their potential host plants.^{6,12,13,14,15,16,17} These studies show that the intercropping of companion plants near host plants can interfere with settlement by physical obstruction, visual camouflage, or altering the chemical profile of the host. Applying such measures within the context of landscape management can result in a reduction in the infestation of host plants by aphids.^{18,19} However, the factors that influence aphid settling on hosts have been little studied because it is often considered that this is a passive process that mainly depends on wind.^{20,21} An additional cue therefore needs to be developed to prevent and limit infestations once the aphids have reached an appropriate host plant. Different strategies have been developed to disturb the feeding and reproductive behaviour of aphids, either directly by affecting their performance or indirectly by modifying the acceptability of host plants to the aphids. Studies have shown that host plants can detect chemical signals from neighbouring plants through root interactions,²² leading to the emission of volatile organic compounds (VOCs)²³ and other chemical substances.²⁴ As a consequence, the hosts become unattractive to aphids.

In other cases, several plants have been shown to produce chemical substances that are effective against aphids and known for their insecticidal, repellent, deterrent, antifeedant, or toxic activity,^{25,26} and their use in the form of plant extracts or essential oils has successfully affected aphid performance in laboratory and field experiments.^{26,27,28,29,30,31,32,33} These plants can naturally release a broad range of VOCs and thus could be used as companion plants

(CPs) in association with horticultural crops. In such studies, it was hypothesized that their VOCs can interfere with host odours, altering or masking the chemical profile³⁴ and thus inhibiting aphid settling and feeding on hosts.^{35,36} However, except for the studies that have indicated that VOCs could affect the rate of crop infestation, no work has been performed on comparing the influence of VOCs from living CPs on the settling of aphids near their hosts. Moreover, proving the effects of VOCs from CPs under field conditions may be difficult because of the presence of external and physical interactions, such as natural enemies and root interactions, respectively; field assessments may also be influenced by fluctuations in abiotic factors and experimental conditions.

Our study was therefore designed to i) screen CPs that could affect the performance of the green peach aphid population under controlled growth conditions and ii) confirm the potential role of VOCs emitted by living CPs as an aphid control strategy. Thirteen companion plant species were chosen based on the literature and traditional gardening practices for their potential performance against aphids, mainly when used as plant extracts or essential oils, and their potential added commercial value. These plants belonged to the following four families: *Geraniaceae*, *Alliaceae*, *Lamiaceae*, and *Asteraceae*. Their efficacy was evaluated in growth chambers by measuring the survival and fecundity of *M. persicae* settled on pepper plants as a function of the intercropped CP. In addition, volatile compounds emitted by these plants were analysed to help the understanding of companion plant's effects on aphid performance. Our hypothesis was that CPs could affect the performance of *M. persicae* by emitting VOCs, and the interactions between pepper plants and companion plants were therefore limited to aerial allelopathy, as there are no aerial or root contacts.

2. EXPERIMENTAL METHODS

2.1. Plants

This study was conducted in Avignon (France) at a facility run by INRA (National Institute for Agricultural Research) in 2011 and 2012. Thirteen endemic CP species were selected (Table 3.1). These CPs were obtained from a nursery and grown in a greenhouse at $20 \pm 5^\circ \text{C}$ and 40 – 80% r.h under natural light. CPs were used at the vegetative or floral stage, depending on the species. Every two weeks, 50 young pepper plants (*Capsicum annuum*) were grown from seed and kept in a separate greenhouse to prevent any interactions between the CPs and pepper plants. At the start of the experiment, the pepper plants were 6 weeks old and had 4 fully developed leaves. All plants were grown in 11-cm-Ø pots containing a mixture

of soil substrate (80%) and vermiculite (20%) and were irrigated twice a week. The plants did not receive any fertilizer or pesticides.

2.2. Insects

Wingless females of *Myzus persicae* were obtained from laboratory colonies and reared on potted pepper plants (var. Yolo Wonder) in an insectary ($20 \pm 2^\circ \text{C}$, L16:D8 photoperiod). One week prior to the start of the experiment, 90 females were placed on the pepper plants and then removed after 24h to produce an even-aged population. The offspring of the same age produced within 24 h were used for the experiments 8 days later, a time when they had reached the adult moult and were ready to produce their first nymphs.

2.3. Growth chamber tests

Due to logistical constraints, it was impossible to simultaneously test the aphid response to thirteen CP species. Thus, two separate blocs were performed at different times; each bloc consists in 2 trials (corresponding to 2 different CP species randomly selected) in comparison to the same control, which were performed in three separate growth chambers. The trials were performed in growth chambers (Sanyo, MLR-351H) under controlled conditions ($20 \pm 1^\circ \text{C}$, $70 \pm 10\%$ r.h, L16:D8 and $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) for 12 days. On the first day (D1), six pepper plants were placed in each growth chamber for acclimation for one day (2 rows of 3 plants, each row spaced at 40 cm). On the second day (D2), 10 adult females of *M. persicae* were released using a fine paintbrush onto the youngest leaves of each pepper plant (a total of 60 individuals of *M. persicae* per growth chamber). On D4, three CPs (or three pepper plants for the control treatment) were introduced into the growth chamber between the two rows of pepper plants. Two growth chambers were used to test intercropping between pepper and CPs (one species per chamber), and the third was used as a control. At the same hour (midday) each day from D3 to D12, the number of adults settling on each pepper plant was recorded, and their neonate nymphs were counted and removed. Trays filled with water were placed underneath the pepper plants to trap escaping females. After each experiment, the growth chambers were cleaned and aired for two days to rid the area of the CP odours. Aphid performance was determined on control pepper plants and on pepper plants associated with CPs. The experimental design consisted in 2 independent blocs not performed simultaneously (R1 and R2), 6 replicated pepper plants per bloc, giving a total of 60 aphids which were followed per bloc.

2.4. Volatile compounds analysis

Laboratory analyses were conducted to identify the VOCs emitted by each CP species (except safflower and African marigold). During growth chamber test, volatile collections were replicated three times for each CP species using plants of similar age and foliar development as those tested. Before sampling, the pots were covered with an aluminum foil to limit VOC emissions from the soil and plastic. Sampling was done using a static system. It consists of a Plexiglas chamber (40 x 40 x 50 cm, 80 L) which has six side ports closed by chromatographic septum. The chamber was equipped with 2 fans to homogenize the atmosphere. The dispositive was placed in the laboratory in controlled conditions (22 °C, 50% r.h). Ten minutes after introducing an individual CP species into the chamber, a solid phase micro-extraction fibre SPME was inserted through the midst side port and exposed to the air chamber for 5 min to trap and absorb VOCs emitted by the tested CP species. Among the different SPME fibres tested, the “PDMS -DVB 65µm” phase was chosen for its largest adsorption spectrum.³⁷ This fibre is commonly used for the extraction of semi and larger volatile analyses. Moreover, due to its mixed polarity coating, it retains both low and high polarity compounds. When the sampling was completed, VOCs were analysed in a Trace-ISQ (Thermo) gas chromatograph coupled to mass spectrometer (GC-MS), scanning from m/z 35 to m/z 450; operating in electronic impact mode at 70eV (source temperature set at 200 °C). Helium was used as carrier gas at a flow rate of 0.4 mL min⁻¹. VOCs were separated on a TR-5MS (Thermo) capillary column (20 m × 0.1 mm internal diameter × 0.1 µm film thickness). The oven temperature was programmed from 40 °C to 300 °C. Desorption of the SPME took place for 2 min at 250 °C in the GC inlet followed by 30-min analysis. Volatile compounds were tentatively identified by comparison of mass spectra and retention indices with those found in the NIST mass spectra library (NIST 05: National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA). Standards, when available, were used to confirm compounds identification.

Table 3.1 List of companion plant species used in growth chamber experiments and their effect on aphids

Common name	Latin name	Family	Aphid species	Specific action	Effect	Experiment	Reference
Rosemary	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Myzus persicae</i>	essential oil	repellent	field, laboratory	27
Lavender	<i>Lavandula latifolia</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Myzus persicae</i>	essential oil	repellent	laboratory, greenhouse	28
Basil	<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Aphis citricola</i>	intact plant	repellent	field	42
Savoury	<i>Satureja hortensis</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Aphis fabae</i>	intact plant	deterrent	field, greenhouse, wind tunnel	41
Thyme	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Myzus persicae</i>	essential oil	antifeedant	laboratory	28
Peppermint	<i>Mentha piperita</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Myzus persicae</i>	plant extracts	repellent	field, laboratory	26
Pot marigold	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Asteraceae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	intact plant	repellent	field	59
African marigold	<i>Tagetes erecta</i>	<i>Asteraceae</i>	Aphid sp	intact plant	repellent	field	57
French marigold	<i>Tagetes patula nana</i>	<i>Asteraceae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	intact plant	repellent	field	59
False yellowhead	<i>Dittrichia viscosa</i>	<i>Asteraceae</i>	<i>Myzus persicae</i>	plant extracts	antifeedant	laboratory	75
Geranium	<i>Pelargonium zonale</i>	<i>Geraniaceae</i>	<i>Myzus persicae</i>	plant extracts	insecticidal	field	61
Chives	<i>Allium schoenoprasum</i>	<i>Alliaceae</i>	<i>Myzus persicae</i>	intact plant	repellent	laboratory	34
Safflower	<i>Carthamus tinctorius</i>	<i>Asteraceae</i>	–	–	–	–	76

2.5. Statistical analysis

Statistical tests were performed to evaluate the performance (survival and fecundity) of *M. persicae* on pepper plants that were or were not (control) intercropped with CPs. To assess the overall effect of the CP species on the *M. persicae* fecundity on pepper plants, for each replicated pepper plant, we compared the number of nymphs laid over 10 days on plants intercropped with CP relative to those laid on control plants (percentage of nymphs compared to the control). Then, we used a MIXED procedure (SAS, version 9.1.3) to test the effect of CP species on this variable, considering replicate pepper plant effect and the interaction between replicate and CP species as a random effect. The replicate pepper plant effect on the CP species and replicate * CP species interaction were not significant, thus the data from both replicates were pooled and shown in figure 1. The differences in the mean percentage of laid nymphs were assessed using a t-Student test (lsmeans, $P < 5\%$).

For the following statistical analyses, data from the two blocs were analysed independently. In each trial, data were compared to their own control corresponding to aphids issued from the same cohort and settled on the 6 replicated pepper plant grown without CP during the same period. The impact of CPs on female survival was assessed using a survival analysis, which is an appropriate statistical method often used in medical research to determine time-to-event measures.³⁸ In our case, the aim of this analysis was to quantify the tendency of the aphids to leave the plants. A Cox proportional hazards model was used to describe the effects of CPs (covariate) on the tendency of the aphids to leave the plants, as previously described³⁹. The analyses were performed using R software (Core Team 2012).

We used a repeated-time analysis of variance (ANOVA, SAS software GLM procedure) to determine whether the association of CPs affected the number of females settled on the pepper plants, and daily fecundity over time. The daily fecundity was calculated as the mean number of nymphs produced per female, per plant, and per day. The repeated-time analysis was the appropriate statistical test, as data violate the ANOVA assumption of independence (the fecundity of each female being followed over time). Thus, the measurements at each time are considered as separate responses variables.⁴⁰ Significant differences between the means were assessed using a Fisher protected least significant difference ($P < 5\%$).

3. RESULTS

3.1. Number of nymphs

The number of nymphs laid over 10 days was determined on plant intercropped with CP and expressed as a percentage of those laid on the corresponding control plant (Fig. 3.1). In seven cases, nymphs number was significantly affected by the introduction of CPs into the growth chamber ($P < 0.0002$), but these effects varied depending on the CP species. No significant difference was observed when associating safflower, savoury, thyme, pot marigold, false yellow head, or peppermint with pepper plants ($P = 0.5$, $P = 0.4$, $P = 0.34$, $P = 0.2$, $P = 0.12$, and $P = 0.08$, respectively). A second batch of CP species had a moderate but significant reduction of the number of nymphs (approximately 20% of the control value): chives ($P = 0.02$), lavender ($P = 0.007$), and basil ($P = 0.004$). The number of nymphs on pepper plants in the presence of geranium, French marigold, or African marigold was significantly reduced (more than 30%; $P < 0.0004$, $P < 0.0006$ respectively), though rosemary had the most significant effect ($P < 0.0001$), achieving a 60% reduction compared to the control.

3.2. Survival of females

The results of the two blocs were comparable for each CP tested (Fig. 3.2 and 3.3). To simplify these figures and because of an absence of significant effects, the results concerning safflower are not shown.

The introduction of CPs differentially influenced the tendency of *M. persicae* females to leave the pepper plants; this was recorded over 10 days after the release of 10 females onto each pepper plant for each treatment (Table 3.2). Compared to the control treatment, the results show that females tended to leave the pepper plants in the presence of five CP species (rosemary, $P < 0.0001$; African marigold, $P = 0.001$; French marigold, $P = 0.002$; geranium, $P = 0.003$; and pot marigold, $P = 0.04$). Geranium, African marigold, and rosemary were the treatments that displayed the highest estimated hazard ratios (Table 3.2). For each of the species referred to above, the effects in the plant-leaving tendency were similar in both blocs (r1 and r2), whereas a significant trend was only found during one bloc with lavender and basil (lavender, $P < 0.0001$ (r1), $P = 0.2$ (r2); basil, $P = 0.2$ (r1), $P = 0.02$ (r2)). Other CP species had no influence on the plant-leaving tendency during either experiment (chives, savoury, peppermint, thyme, false yellow head, and safflower).

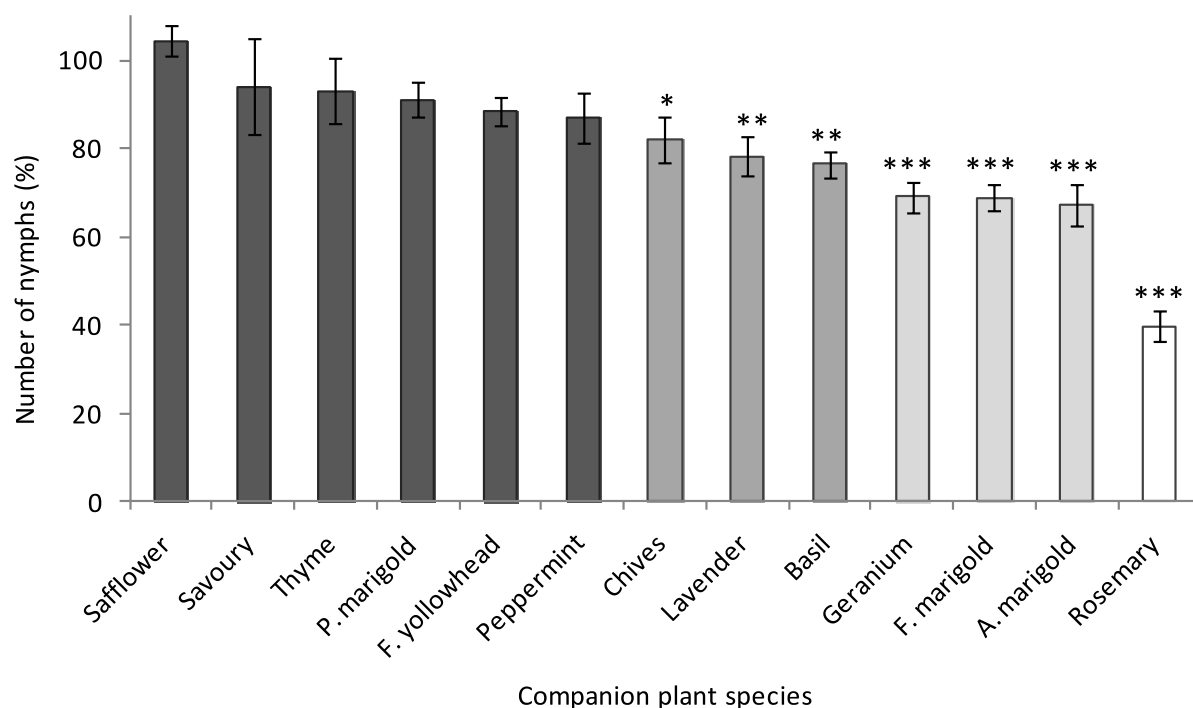


Figure 3.1. *Myzus persicae* nymphs (mean $\pm$ SE) laid over 10 days on pepper plants intercropped or not (control) with CPs. The data are expressed as percentage compared to the number of neonate nymphs laid on control plants (n=12). The colored bars indicate the classes of CPs according to their percentage of reduction observed (white, approximately 60%; pale grey, approximately 30%; grey, approximately 20%; dark grey < 10%), * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Table 3.2. Effects of companion plants on the tendency of *Myzus persicae* to leave the host plant

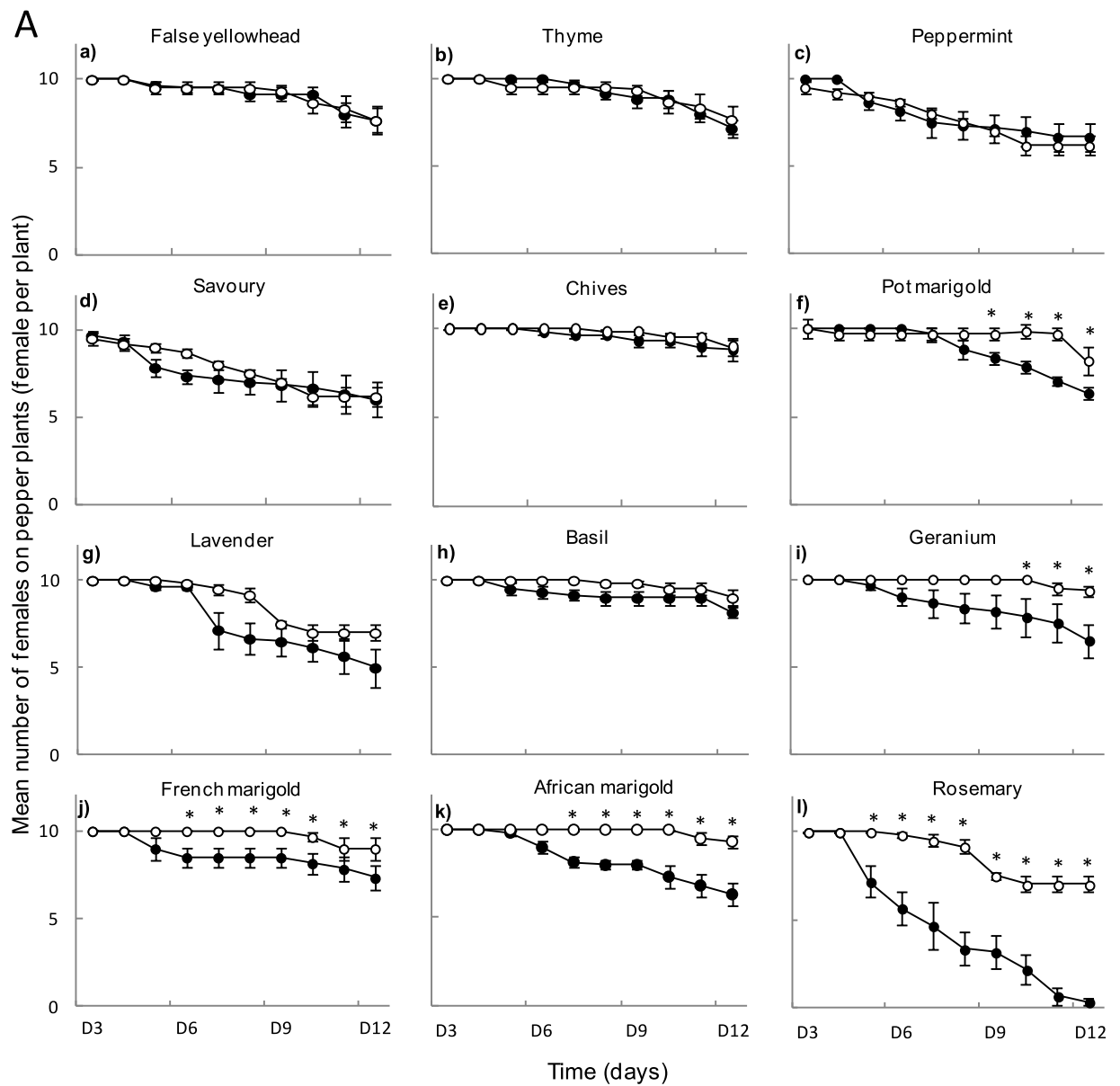
Covariates	Replicates	β	exp (β)	SE (β)	χ^2	Effect on leaving tendency
Safflower	1	0.43	1.55	0.39	1.11	No effect
	2	0.01	1.01	0.47	0.01	No effect
False yellowhead	1	0.46	1.60	0.35	1.33	No effect
	2	-0.30	0.96	0.37	-0.09	No effect
Thyme	1	0.19	1.22	0.25	0.77	No effect
	2	0.34	1.45	0.31	0.98	No effect
Peppermint	1	-0.13	0.87	0.31	-0.44	No effect
	2	0.44	1.56	0.34	1.28	No effect
Savoury	1	0.12	1.14	0.26	0.48	No effect
	2	0.05	1.05	0.29	0.18	No effect
Chives	1	0.19	1.21	0.55	0.34	No effect
	2	0.53	1.17	0.40	0.91	No effect
Pot marigold	1	0.81	2.26*	0.40	1.99	+
	2	0.83	2.29*	0.37	2.24	+
Lavender	1	0.67	1.97***	0.30	2.24	+
	2	0.66	1.94	0.47	1.41	No effect
Basil	1	0.67	1.96	0.51	1.32	No effect
	2	0.75	2.12*	0.33	2.26	+
Geranium	1	1.39	4.01**	0.46	2.98	+
	2	1.78	5.94***	0.55	0.37	+
French marigold	1	1.06	2.88**	0.34	3.07	+
	2	1.06	2.87*	0.47	2.20	+
African marigold	1	1.12	3.06**	0.35	3.22	+
	2	2.12	8.33***	0.54	3.91	+
Rosemary	1	2.03	7.63***	0.29	7.02	+
	2	1.54	4.69***	0.42	3.61	+

(β): estimated regression, [exp (β)]: hazard ratios for covariates of a Cox model, SE: standard errors, χ^2 : likelihood ratio test, +: increasing effect of the covariates on the plant leaving tendency

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$: levels of significance as compared to the baseline hazard (control without CPs).

These results were confirmed by the repeated measures analysis, which indicated that the effects of CPs on the number of females varied among the species and over time (Table 3.2; Fig. 3.2). When a significant CP effect was observed, it was sustained until the end of the experiment (day 12: D12). Overall, few females disappeared from the control plants, with their number always remaining higher than 7 by the end of the experiment (except for the second replicate for savoury, Fig. 3.2Bd). Immediately after its introduction, rosemary exerted a significant effect ($F = 57.3$; $df = 1$; $P < 0.0001$) on the number of adults at day 4 (D4), which fell regularly to an almost complete disappearance by D12 (Fig. 3.2l). Although less marked, the effects of French and African marigolds were also very rapid (Fig. 3.2j, k, respectively); two days after CP introduction, the number of females present was significantly lower than on the control plants ($P < 0.05$). This difference remained significant until the end of the experiment (D12) (French marigold, $F = 28.3$; $df = 1$; $P < 0.0001$; African marigold, $F = 22.0$; $df = 1$; $P < 0.0001$) but did not increase, with the two curves following a similar course.

The effect of geranium was also perceptible after 24 hours but was not significant. The number of females diminished regularly, differing significantly from the controls by the tenth day of the experiment ($F = 23.8$; $df = 1$; $P < 0.0001$; Fig. 3.2i). Pot marigold also had a late effect (Fig. 3.2f) that nevertheless caused a significant reduction in the number of females between D9 and D12 ($F = 8.79$; $df = 1$; $P = 0.004$). Lastly, although lavender and basil had contrasting effects depending on the replicate (Fig. 3.2g, h), five companion plants species had no effect on the number of aphid females: thyme, chives, peppermint, savoury, and false yellowhead (Fig. 3.2a, b, c, d, and e).



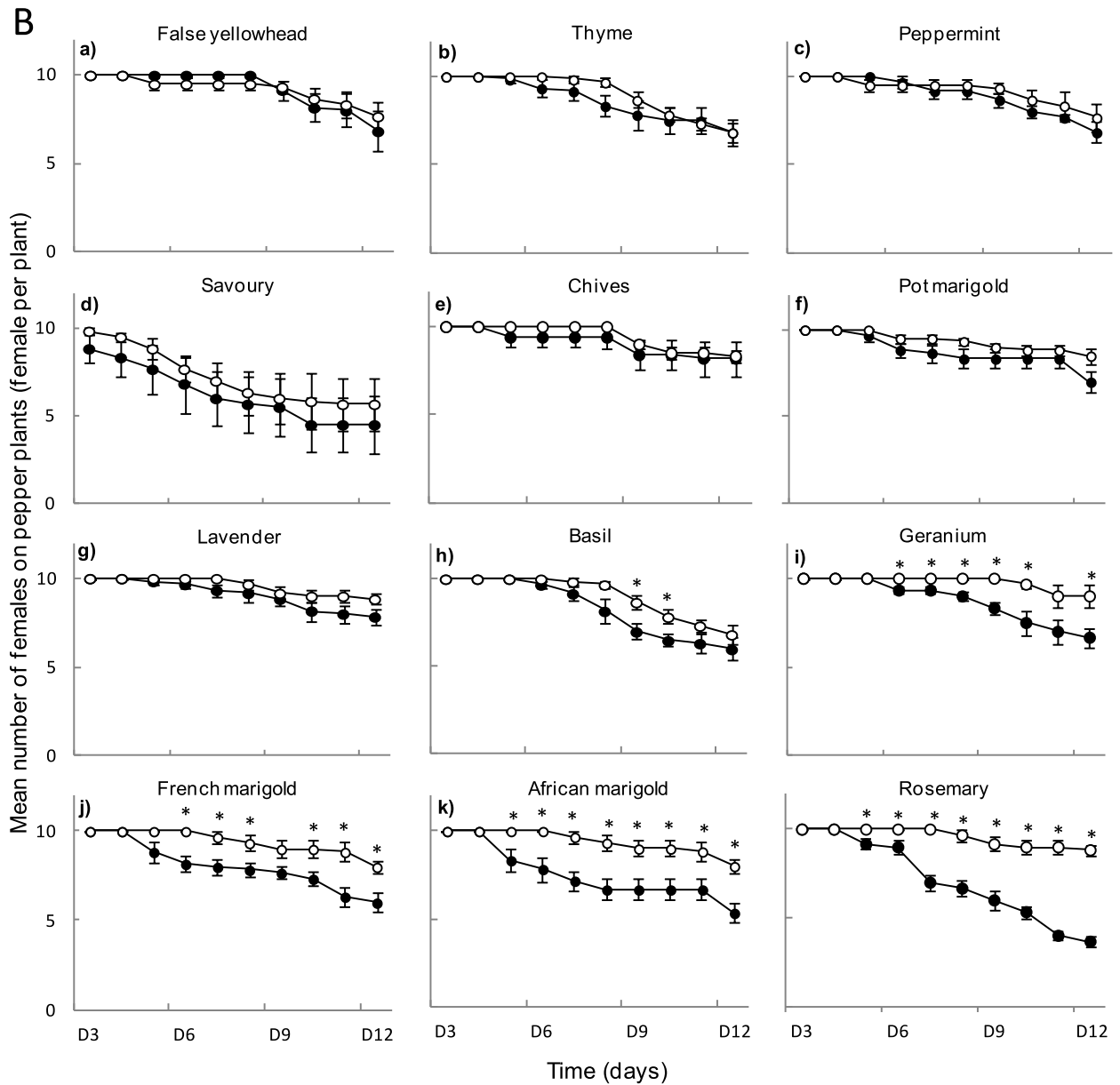
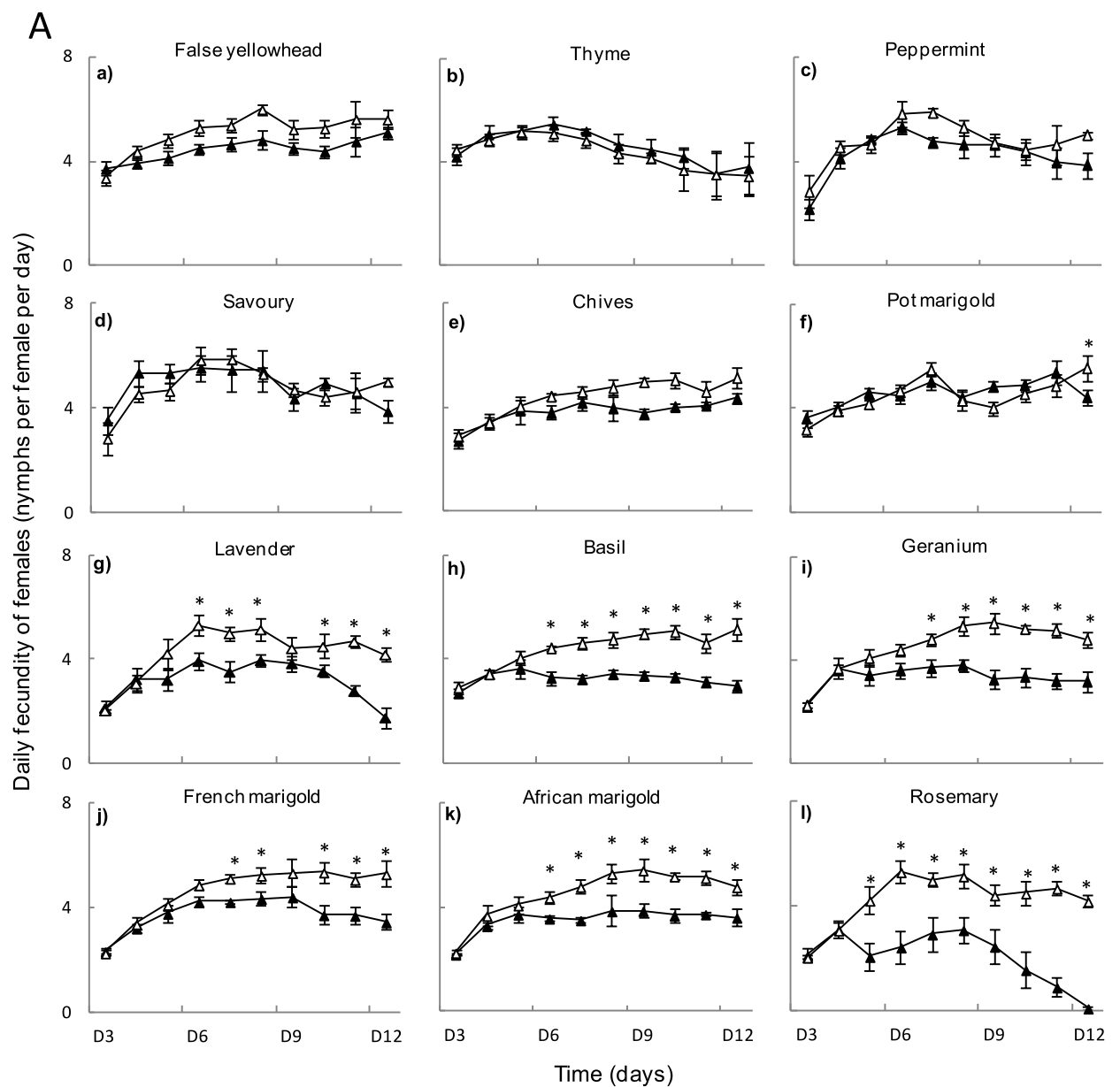


Figure 3.2. Number of *Myzus persicae* females (mean $\pm$ SE) settled on pepper plants intercropped (filled circles) or not (control, open circles) with companion plants in a growth chamber over a 10-day period. A: replicate 1, B: replicate 2. The initial number of females in each experimental situation was 60 (10 females per pepper plant, $n=6$). The aphids were released on the pepper plants at day 2 (D2), and CPs were introduced in the growth chamber at day 4 (D4). The statistical significance was assessed from a repeated measures ANOVA, $*P < 0.05$.

3.3. Daily fecundity

If no CPs were present, the daily fecundity of the aphid females tended to increase from an average of 3 at D3 at the start of the experiment, then stabilized or slightly decreased on the control plants (around D7). Introducing CPs into the growth chambers differentially affected the daily fecundity of *M. persicae* (Fig. 3.3). Some CP species significantly decreased this rate, maintaining the mean daily fecundity of females below 4 nymphs per day, which was the case for lavender, geranium, and African and French marigolds, the effects of which were significant at 2 to 3 days after their introduction (Fig. 3.3g, i, j, and k) and remained so until the end of the experiment (D12).

The effect of rosemary was more pronounced ($F = 32.45$; $df = 1$; $P = 0.001$), with a fecundity rate that fell significantly by 30% at 24 h after introduction into the chambers. Still markedly lower than the controls, this rate was almost zero by the end of the experiment. Basil exhibited contrasting effects, depending on the experiment (Table 3.2), with a marked efficacy during the first replicate ($P < 0.0001$, Fig. 3.3Ah) and a late effect only significant at D11 and D12 during the second replicate (Fig. 3.3Bh). An analysis of variance showed that chives also exerted a significant effect on fecundity rates ($P < 0.05$, Table 3.2), but this did not result in a notable difference from the controls in the replicates. Lastly, the other five CPs tested did not have any effect on the fecundity of the aphids.



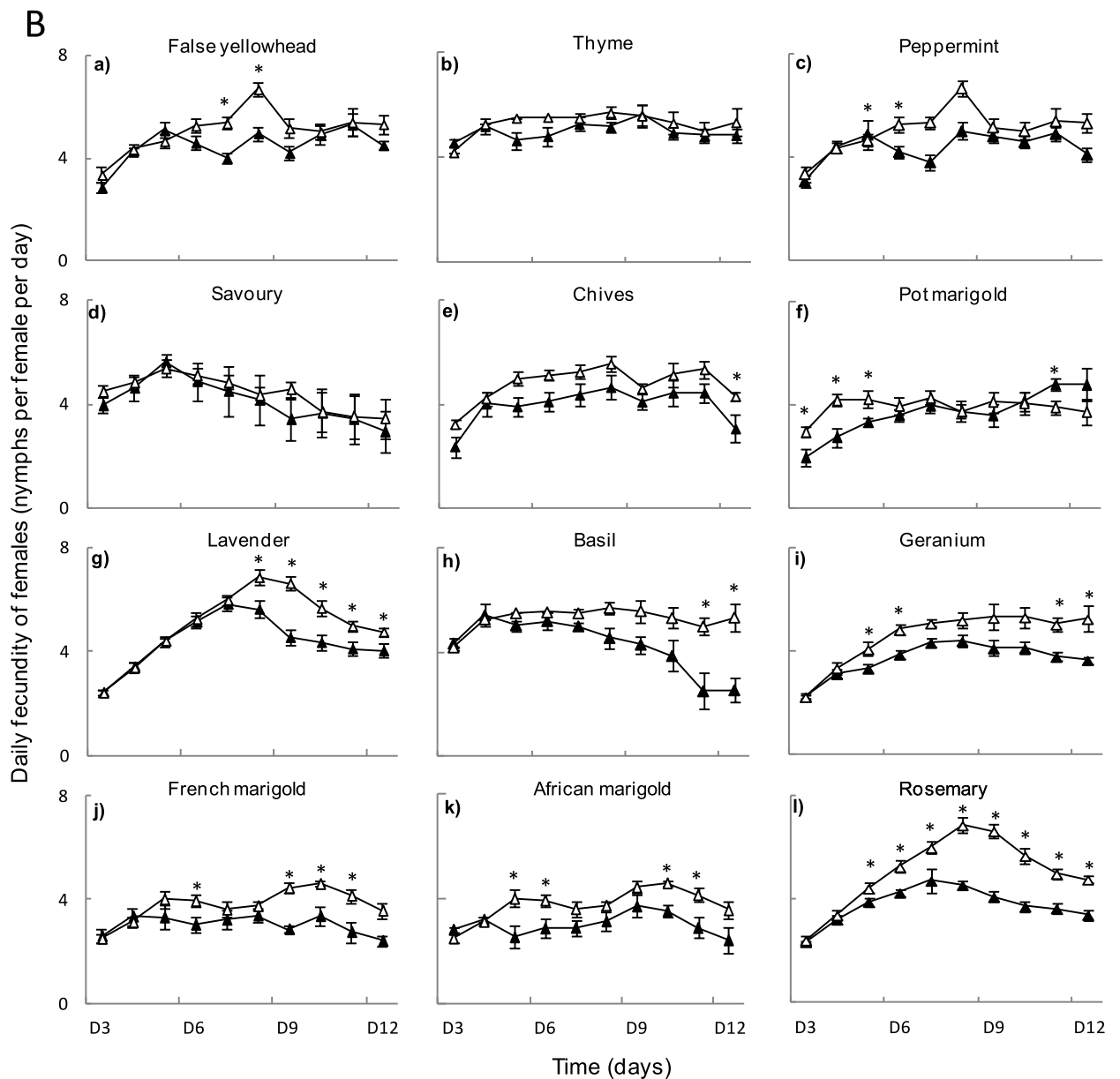


Figure 3.3. Daily fecundity of *Myzus persicae* females (mean $\pm$ SE) on pepper plants intercropped (filled triangles) or not (control, open triangles) with companion plants in a growth chamber over a 10-day period. A: replicate 1; B: replicate 2. The daily fecundity was calculated as the number of neonate nymphs produced per female and per day. The aphids were released on the pepper plants at day 2 (D2), and CPs were introduced in the growth chamber at day 4 (D4). The statistical significance were assessed from a repeated measures ANOVA, * $P < 0.05$. n=6.

3.4. Volatile compounds analysis

A total of 54 volatile compounds was identified by GC-MS analyses (coded from 1 to 54) on the 11 CP tested. The number of volatile compounds varied depending on CP species. Volatiles belong to different chemicals families but mostly to the sesquiterpenes and monoterpenes families. This analysis was used to discriminate between CP species in an attempt to find a relationship between identified compounds and the efficiency of a CP species. Some compounds (α -pinene, limonene, linalool, decanal and geranyl acetone; Table 3.3) were found in at least five CP species. Others compounds were more specific of each companion plant.

There were 21 chemicals which contributed in discriminating rosemary (coded as 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 11, 13, 15, 16, 17, 19, 22, 25, 27, 28, 29, 30, 34, 50 in Table 3.3). Among those, α -terpinene, α -campholenal, estragole, and verbenone, were specific to rosemary. Ten VOCs emitted by lavender and were also present in rosemary's profile and mainly correspond to highly volatile compounds (2, 3, 4, 5, 8, 11, 15, 17, 22, 25). Basil was characterized by its content in eugenol, methyl-eugenol, bergamotene and α -bulnesene. Savoury and thyme showed the lower number of detected volatile compounds (4 and 6 respectively) with two common compounds (thymol and carvacrol). Five specific volatiles were identified in peppermint (menthone, menthofuran, menthol, pulegone and menthyl acetate). Pot marigold was the second CP after rosemary which emitted a large amount of chemicals (17 compounds). Among them, five compounds (germacrene D, α -muurolene and δ -cadinene) had the strongest influence in differentiating the pot marigold. Cis- β -ocimene, cis-tagetone, piperitone, and β -elemene were specific to French marigold. False yellowhead was characterized by the presence of α -gyrjunene, β -cadinene and nerolidol. Seven and eight compounds were identified respectively for geranium and chives. Chives were characterized by its content in Dihydromyrcenol and pentyl isothiocyanate.

Table 3.3. Volatile compounds of companion plants identified by GC-MS

Code	Volatile compounds ^a	Class ^b	Rt ^c (min)	RI ^d	Peak area										
					Rosemary	Lavender	Basil	Savoury	Thyme	Pepper- mint	Pot marigold	French marigold	False yellowhead	Geranium	Chives
1	β-Thujene	M	4.12	931	x						x				
2	α-pinene	M	4.25	938	x	x					x	x			x
3	α-camphene	M	4.57	957	x	x					x				
4	β-pinene	M	5.02	983	x	x					x				
5	β-myrcene	M	5.20	994	x	x									
6	6-methyl-5-heptene-2-one	O	5.28	998			x				x	x			
7	α-terpinene	M	5.64	1022	x										
8	limonene	M	5.82	1034	x	x			x	x	x	x	x		x
9	cis-β- ocimene	M	5.88	1037								x			
10	2-ethyl hexanol	O	5.88	1037			x							x	x
11	1,8-cineole	M	5.90	1039	x	x	x				x				
12	trans-β- ocimene	M	5.94	1043							x	x			
13	γ-terpinene	M	6.28	1064	x						x				
14	Dihydromyrcenol	M	6.51	1079											x
15	β-terpineol	M	6.51	1079	x	x									
16	terpinolene	M	6.71	1092	x							x			
17	linalool	M	6.95	1107	x	x	x		x						x
18	nonanal	O	7.09	1115							x				x
19	alpha-campholenal	M	7.55	1141	x										
20	Pentyl isothiocyanate	O	7.64	1149											x
21	cis-tagetone	M	7.80	1156								x			

Table 3.3 continued

Code	Volatile compounds ^a	Class ^b	Rt ^c (min)	RI ^d	Peak area										
					Rosemary	Lavender	Basil	Savoury	Thyme	Pepper- mint	Pot marigold	French marigold	False yellowhead	Geranium	Chives
22	camphor	M	7.99	1167	x	x	x								
23	menthone	M	8.05	1170						x					
24	menthofuran	M	8.18	1178						x					
25	borneol	M	8.42	1191	x	x									
26	Menthol	M	8.46	1194						x					
27	α -terpineol	M	8.79	1211	x								x		
28	Estragole	M	8.83	1213	x										
29	Decanal	O	8.87	1215	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x
30	Verbenone	M	9.15	1229	x										
31	Pulegone	M	9.63	1253						x					
32	Thymoquinone	P	9.87	1265					x						
33	Piperitone	M	10.09	1276								x			
34	Bornyl_acetate	M	10.47	1295	x		x								
35	Menthyl acetate	M	10.48	1296						x					
36	Thymol	P	10.66	1305				x	x						
37	Carvacrol	P	10.85	1313				x	x						
38	Undecanal	O	10.90	1315								x		x	
39	Eugenol	P	12.02	1367			x								
40	β -elemene	S	12.65	1397								x			
41	Methyl_eugenol	P	13.06	1416			x								
42	Dodecanal	O	13.12	1419			x					x		x	

Table 3.3 continued

Code	Volatile compounds ^a	Class ^b	Rt ^c (min)	RI ^d	Peak area										
					Rosemary	Lavender	Basil	Savory	Thyme	Pepper- mint	Pot marigold	French marigold	False yellowhead	Geranium	Chives
43	Bergamotene	S	13.57	1439			x								
44	α -Gurjunene	S	13.79	1448										x	
45	Geranyl acetone	A	13.95	1456				x		x	x	x	x	x	
46	α -caryophyllene	S	14.20	1467							x				x
47	Germacrene D	S	14.77	1492							x				
48	β -cadinene	S	14.80	1494									x		
49	α -muurolene	S	15.12	1508							x				
50	α -farnesene	S	15.13	1509	x										x
51	α -bulnesene	S	15.19	1511			x								
52	γ -cadinene	S	15.48	1524			x				x				
53	δ -cadinene	S	15.55	1527							x				
54	Nerolidol	S	16.41	1566									x		
Total					21	10	13	4	6	8	17	13	7	7	8

^a Compounds are listed according to their retention time

^b classes of VOC; A: apocarotenoids, M: monoterpenes, O: others; P: phenols; S: sesquiterpenes;

^c Rt: retention time

^d RI: retention index obtained from the NIST (2005) spectra library

4. DISCUSSION

The objective of this study was to identify CP species that were capable of restricting the development of aphids on pepper plants through the emission of VOCs. Population dynamic of aphids is a crucial variable for assessing the CP efficacy, it results from two variables used to assess the action of CPs: the number of females and their calculated fecundity rates. Indeed, assessing these variables allowed us to evaluate and compare the efficacy of the different CPs tested and also discuss some hypotheses concerning their putative modes of action.

Most of the previous studies of CPs were performed in the field.^{9,26,41,42} However, the control and stability of the environmental conditions allowed us to attribute any changes in aphid behaviour to the presence of CPs. Additionally, as there was no contact between the CPs and host plant, any effects can be solely attributed to the emission of VOCs. Such control of the environmental conditions is essential because both aphid behaviour and the emission of VOCs by plants are particularly sensitive to the abiotic environment (e.g., temperature, hygrometry, incident radiation).^{41,43,44,45,46}

To choose CPs, we especially considered the aphicidal potential of their essential oils or extracts,^{14,27,41,42} however, our results showed that this criterion was not necessarily pertinent to predicting the efficacy of a CP. Indeed, the introduction of safflower, false yellowhead, thyme, peppermint, or savoury did not have any effect either on *M. persicae* survival (Table 3.2; Fig. 3.2) or fecundity (Table 3.2; Fig. 3.3). These responses contrasted with those reported by several studies,^{28,47,48,49} with a marked effect of the essential oils extracted from these plants on different insects. These apparent contradictory effects can be clarified by considering the different methodologies used. First, the density of the CPs present in our experiments may not have been sufficiently high to release sufficient quantities of VOCs to affect the behaviour of *M. persicae*. GC-MS analysis revealed fewer VOCs collected from false yellowhead, thyme, peppermint, and savoury. Indeed,⁵⁰ found that the response of citrus psylla (*Diaphorina citri* kuwayama) to guava leaf odour was dose-dependent, revealing that the dose of VOCs needed to be increase to achieve an effective level. In this case, direct contact with the insects and the concentration of insecticidal substance were determinant. Second, most assays reported in the literature have used plant extracts or essential oils, which may be highly concentrated and might be different from the profile of VOCs emitted by the living plant.⁵¹

In our study, GC-MS analyses showed that each CP species has a characteristic profile (Table 3.3). Despite differences in VOC profiles compared with essential oils composition,^{48,52,53} some compounds such as linalool, camphor, limonene and ocimene, which have been characterized by a biological activity against aphids, were found both in the VOCs collected in the present study and in essential oils.^{27,30} But, the presence of a volatile on a plant profile does not guarantee that this plant can be effective, since a volatile effect can change according to its concentration and since its efficiency can be achieved by synergy, suppression or hypoaddivitivity between volatiles.⁵⁴ For example, thymol which was found in the profile of thyme and savoury from our VOCs analysis (Table 3.3) did not have the settling inhibitory activity reported previously by²⁸ using thyme essentials oils. For this reason, an aphicidal effect comparable to that of the CP essential oil cannot be presumed but rather a significant deceleration in the development of aphid populations.

Our study also reveals that as a substitute to essential oils, a living CP intercropped with pepper may be efficient to disturb aphid females triggering their leaving from the host plant and reducing their fecundity. In fact, eight of the CPs tested met these requirements, though to varying degrees. It was thus possible to distinguish three levels of efficacy: level 1 CPs, the most effective, reducing both the number of females and their fecundity rates (rosemary, French and African marigolds, and geranium); level 2 CPs, which only modified the fecundity rate (lavender, basil, and chives); and level 3 CPs, which only reduced the number of females (pot marigold). According to the present ranking, we propose that level 1 CPs are the most promising, notably rosemary.

Rosemary was clearly the most efficient in terms of the rapidity, intensity, and duration of its effect and this almost immediate activity supports the notion of its direct action on aphids, as triggered by VOCs emitted by this plant. In principle, the disappearance of females revealed a preference to leave the host plant and thus the repellent effect of rosemary, as previously observed in the field for *Neotoxoptera formosana* (onion aphid)⁵⁵ and *Brevicoryne brassicae* (cabbage aphid).³² This effect was also reported for *M. persicae*²⁷ during a greenhouse trial on tobacco cultivation when using rosemary oils. Although our study established the involvement of VOCs in the repellent properties of rosemary, an aphicidal effect associated with metabolic dysfunction in the aphids cannot be excluded to explain the disappearance of the females. Distress of the aphids, which could be fatal, might also explain the significant reduction in oviposition. Rosemary is known to produce linalool, camphor, and many other terpenoid compounds²⁷ that have been shown to act as insect feeding/ oviposition

deterrents.^{17,56} In our VOC analysis, we found several of these compounds among the VOCs released by rosemary (Table 3.3). We showed also that rosemary produced other compounds such as α -pinene, α -campholenal, estragole, and verbenone which were specific of this CP and could affect aphid behaviour.²⁷

French marigold, African marigold, and geranium, similar to rosemary, acted on both the survival of females and their fecundity. Leaving behaviour of females supports the idea of the repellent effect already mentioned for marigolds.^{30,57,58,59,60} This repellency could be related to the presence of limonene and ocimene which has previously been reported efficient in restricting aphid population growth.³⁰ In addition the reduced number of females might be linked to an insecticidal effect for geranium⁶¹ or an alarm signal triggered by volatiles emission such as α -farnesene.⁶² These results support the hypothesis of a direct effect of VOCs on aphid. Nevertheless, an indirect action of VOCs due to interactions with the host plant (aerial allelopathy) cannot be excluded. Several studies have shown that host plants can detect chemical signals emitted by neighbouring plants.^{22,63} When perceived by host plants, these signals may modify gene expression⁶⁴ and host plant composition²⁴ such as activate their VOC emissions,²³ phenolic compounds synthesis,⁶⁵ and proteinase inhibitor synthesis⁶⁶ which affect the abundance of herbivores.⁶⁷ As aphids are sensitive to changes in the quality and physiological state of their hosts,^{68,69} these metabolic changes may affect their reproductive potential.⁷⁰ Other hypotheses have also been advanced to explain an indirect action of CPs on aphid behaviour. Thus, the deposition of VOCs on the host plant may contribute to masking its odour,³⁴ and the interaction between the host and CP may generate a new odour blend that is unrecognizable by the aphids due to changes in the quantity and/or the quality of the compounds emitted by both plants. This may lead to different behavioural responses by aphids,^{71,72,73} and the host plant may lose its attractiveness and even prove to be repellent in some cases.

Unlike the findings in the literature, we did not observe any repellent effect of chives on aphids. It should be noted that we employed a 'no choice' test during our experiment that forced the aphids to either settle on the pepper plants or flee. However, several field studies have suggested that the repellent effects of CPs result in a reduction in the incidence of herbivores and interference with their ability to locate their hosts.^{14,35,36} Our results showed that chives significantly reduced the fecundity of *Myzus persicae* (Fig. 3.3). We suggest that the VOCs from chives might not have prevented the female aphids from settling on the pepper

plants but may have interfered in this process by disrupting their feeding, subsequently influencing their decision to lay nymphs. The specific feature of pot marigold, with a delayed impact on the number of females, was interesting: by not modifying the fecundity rate, it differed from the most effective CPs. Thus it indicates a particular mode of action, which might be linked to its specific volatile profile (presence of Germacrene D, α -muurolene, δ -cadinene; Table 3.3). Researchers have found that pot marigold extract has a strong scent and can significantly reduce aphid numbers.⁶⁰ Moreover, living pot marigold displayed a negative effect on the settling and number of cabbage aphids when associated with a susceptible host plant.^{59,74} In our cases, it is possible that the 8 days of measurements (D4-D12) was not long enough to evaluate its true efficacy on female survival.

It is interesting to note that once established, the significant effects of CPs continued until the end of the experiment. However, for French and African marigold and unlike what was observed with rosemary, the differences from the controls appeared to stabilize after D7, possibly revealing a short-lived effect of these CPs on the number of females, whereas that on the fecundity rate was sustained. The aphids were initially affected by the presence of CPs but appeared to adapt rapidly to this environment, even though they did not recover the fecundity rate observed in the control. Basil and lavender did not exert a repellent effect but significantly and sustainably affected the fecundity of females. Regardless, we have to keep in mind that in the present study CP species have only been tested at one stage of development. Thus older plant or plant at a specific developmental stage (floral/vegetative) may emit different blends of volatiles and show different effects on aphids.

In conclusion, our experimental design proved to be efficient to screen companion plants that affect the performance of *Myzus persicae* when intercropped with pepper plants and to identify their specific volatile compounds. Moreover, among the different modes of action of CPs, our results confirmed the specific role of VOCs on aphid performance. We suggest that validating volatile identity and testing these compounds independently or blended are pertinent to confirm their behavioural activity on aphid performance. By hampering the development of *Myzus* colonies, most of the CPs tested could be of ecological interest, notably rosemary for its rapid and sustained effects on both the number of females and their fecundity rates. Its efficiency was probably due to its specific volatiles which contribute to

discriminate rosemary from others CP species. This screening of CPs under controlled conditions is a first step towards their use in field or greenhouses settings.

In addition, considering interactions between companion plants and other pests or natural enemies, root interactions and intercropping design will allow us to use this approach more efficiently for pest management.

ACKNOWLEDGEMENTS We thank Juliette Goussopoulos, Michel Pradier, Valerie Serra for their technical assistance. We are also grateful to Marie Hélène Sauge, Claire Lavigne for statistical advices. We wish to thank the tunisien Ministry of Higher Education and Scientific Research for supporting this work (funding the PhD grant of Refka Ben Issa).

REFERENCES

- 1 Devonshire AL, Field LM, Foster SP, Moores GD, Williamson MS, and Blackman RL, The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **353** :1677-1684 (1998).
- 2 Foster SP, Harrington R, Dewar AM, Denholm I, and Devonshire AL, Temporal and spatial dynamics of insecticide resistance in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Pest Manag Sci* **58** :895-907 (2002).
- 3 Harris J, and Dent DR Priorities in biopesticide research and development in developing countries CABI (2000).
- 4 Yano E, Ecological considerations for biological control of aphids in protected culture. *Popul Ecol* **48** :333-339 (2006).
- 5 Van Emden H, Eastop V, Hughes R, and Way M, The ecology of *Myzus persicae*. *Annu rev entomol* **14** :197-270 (1969).
- 6 Francis F, Lognay G, and Haubruge E, Olfactory responses to aphid and host plant volatile releases:(E)-farnesene an effective kairomone for the predator *Adalia bipunctata*. *J Chem Ecol* **30** :741-755 (2004).
- 7 Dancewicz K, and Gabry B, Effect of extracts of garlic (*Allium sativum* L.), wormwood (*Artemisia absinthium* L.) and tansy (*Tanaceum vulgare* L.) on the behaviour of the peach potato aphid *Myzus persicae* (Sulz.) during the settling on plants. *Pesticides* **3-4** :93-99(2008).

- 8 Pavela R, Vrchotová N, and Sera B, Repellency and toxicity of three Impatiens species (*Balsaminaceae*) extracts on *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae). *J Biopestic* **2** :48-51 (2009).
- 9 Lai R, You M, Lotz LAP, and Vasseur L, Response of green peach aphids and other arthropods to garlic intercropped with tobacco. *Agron J* **103** :856-863 (2011).
- 10 Poveda K, Gomez MI, and Martinez E, Diversification practices: their effect on pest regulation and production. *Rev Colomb Entomol* **34** :131-144 (2008).
- 11 Malézieux E, Crozat Y, Dupraz C, Laurans M, Makowski D, Ozier-Lafontaine H, Rapidel B, De Tourdonnet S, and Valantin-Morison M, Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agron Sustain Dev* **29** :43-62 (2009).
- 12 Chapman RF, Bernays EA, and Simpson SJ, Attraction and repulsion of the aphid, *Cavariella aegopodii*, by Plant Odors. *J Chem Ecol* **7** :881-888 (1981).
- 13 Pickett J, Wadhams L, Woodcock C, and Hardie J, The chemical ecology of aphids. *Annu Rev Entomol* **37** :67-90 (1992).
- 14 Nottingham SF, and Hardie JIM, Flight behaviour of the black bean aphid, *Aphis fabae*, and the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*, in host and non-host plant odour. *Physiol Entomol* **18** :389-394 (1993).
- 15 Visser JH, and Piron PGM. Odour response profiles in aphids differentiating for species, clone, form and food. *Proceedings of the 8th meeting of experimental and applied entomologists held in Utrecht*, pp. 115-120 (1996).
- 16 Park K, and Hardie J, An improved aphid electroantennogram. *J Insect Physiol* **44** 919-928 (1998).
- 17 Bruce TJA, Wadhams LJ, and Woodcock CM, Insect host location: a volatile situation. *Trends Plant Sci* **10** :269-274 (2005).
- 18 Latheef MA, and Irwin RD, the effect of companionate planting on lepidopteran pests of cabbage. *Can Entomol* **111** :863-864 (1979).
- 19 Vandermeer JH. *The ecology of intercropping*, Cambridge Univ Pr, Cambridge, pp. 15-26 (1992).
- 20 Potting RPJ, Perry JN, and Powell W, Insect behavioural ecology and other factors affecting the control efficacy of agro-ecosystem diversification strategies. *Ecol Model* **182** :199-216 (2005).

- 21 Vargas RR, Troncoso AJ, Tapia DH, Olivares-Donoso R, and Niemeyer HM, Behavioural differences during host selection between alate virginoparae of generalist and tobacco-specialist *Myzus persicae*. *Entomol Exp Appl* **116** :43-53 (2005).
- 22 Heil M, and Karban R, Explaining evolution of plant communication by airborne signals. *Trends in Ecol Evol* **25** :137-144 (2010).
- 23 Choh Y, Shimoda T, Ozawa R, Dicke M, and Takabayashi J, Exposure of Lima Bean Leaves to Volatiles from Herbivore-Induced Conspecific Plants Results in Emission of Carnivore Attractants: Active or Passive Process? *J Chem Ecol* **30** :1305-1317 (2004).
- 24 Glinwood R, Ninkovic V, Pettersson J, and Ahmed E, Barley exposed to aerial allelopathy from thistles (*Cirsium* spp.) becomes less acceptable to aphids. *Ecol Entomol* **29** :188-195 (2004).
- 25 Rrgnault-Roger C, The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integr Pest Manag Rev* **2** :25-34 (1997).
- 26 Ikeura H, Kobayashi F, and Hayata Y, Repellent Effect of Herb Extracts on the Population of Wingless Green Peach Aphid, *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae). *J Agric Sci* **4** :139 (2012).
- 27 Hori M, Repellency of Rosemary Oil Against *Myzus persicae* in a Laboratory and in a Screenhouse. *J Chem Ecol* **24** :1425-1432 (1998).
- 28 Hori M, Antifeeding, settling inhibitory and toxic activities of labiate essential oils against the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer)(Homoptera: Aphididae). *Appl entomol zool* **34** :113-118 (1999).
- 29 Munneke M, Bruin A-d, Moskal J, and van Tol R. Repellence and toxicity of plant essential oils to the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae*, in: *Proceedings of the section experimental and applied entomology-netherlands entomological society*, pp. 81-86 (2004).
- 30 Tomova BS, Waterhouse JS, and Doberski J, The effect of fractionated Tagetes oil volatiles on aphid reproduction. *Entomol Exp Appl* **115** :153-159 (2005).
- 31 Gonzalez-Coloma A, Martin-Benito D, Mohamed N, Garcia-Vallejo MC, and Soria AC, Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochem Syst Ecol* **34** :609-616 (2006).
- 32 Pavela R, Insecticidal activity of essential oils against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *J Essent Oil Bear Pl* **9** :99-106 (2006).

- 33 Dagar JC, Minhas PS, and Mukesh K, Cultivation of medicinal and aromatic plants in saline environments. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* **6** :1-11 (2011).
- 34 Amarawardana L, Bandara P, Kumar V, Pettersson J, Ninkovic V, and Glinwood R, Olfactory response of *Myzus persicae* (Homoptera : Aphididae) to volatiles from leek and chive: Potential for intercropping with sweet pepper. *Acta Agric Scand Sect B Soil Plant Sci* **57** :87-91 (2007).
- 35 Uvah I, and Coaker T, Effect of mixed cropping on some insect pests of carrots and onions. *Entomol Exp Appl* **36** :159-167 (1984).
- 36 Kogel WJ, Visser J, and Tol R, Repellent odours to protect crops from aphids. *Agro Food Ind Hi Tec* **11** :42-44 (2000).
- 37 Shirey RE, SPME commercial devices and fibre coatings, in: *Handbook of solid phase microextraction*, ed. by Pawliszyn J, Chemical Industry Press of China, China, pp. 86-115 (2009).
- 38 Ma Z, and Bechinski EJ, A survival-analysis-based simulation model for Russian wheat aphid population dynamics. *Ecol Model* **216** :323-332 (2008).
- 39 Sauge M-H, Poëssel J-L, Guillemaud T, and Lapchin L, Resistance induction and herbivore virulence in the interaction between *Myzus persicae* (Sulzer) and a major aphid resistance gene (Rm2) from peach. *Arthropod Plant Interact* **5** :369-377 (2011).
- 40 Littell R, Henry P, and Ammerman C, Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *J anim sci* **76** :1216-1231 (1998).
- 41 Basedow T, Hua L, and Aggarwal N, The infestation of *Vicia faba* L.(Fabaceae) by *Aphis fabae* (Scop.) (Homoptera: Aphididae) under the influence of Lamiaceae (*Ocimum basilicum* L. and *Satureja hortensis* L.). *J Pest Sci* **79** :149-154 (2006).
- 42 Beizhou S, Jie Z, Jinghui H, Hongying W, Yun K, and Yuncong Y, Temporal dynamics of the arthropod community in pear orchards intercropped with aromatic plants. *Pest Manag Sci* **67** : 1107-1114 (2010).
- 43 Delfine S, Loreto F, Pinelli P, Tognetti R, and Alvino A, Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress. *Agric Ecosyst Environ* **106** :243-252 (2005).
- 44 Ormeño E, Bousquet-Mélou A, Mévy J-P, Greff S, Robles C, Bonin G, and Fernandez C, Effect of Intraspecific Competition and Substrate Type on Terpene Emissions from Some Mediterranean Plant Species. *J Chem Ecol* **33** :277-286 (2007).

- 45 Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, and Przybylski R, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem* **108** :986-995 (2008).
- 46 Filella I, Penuelas J, and Seco R, Short-chained oxygenated VOC emissions in *Pinus halepensis* in response to changes in water availability. *Acta Physiol Plant* **31** :311-318 (2009).
- 47 Isman M, Pesticides based on plant essential oils. *Pesticide Outlook* **10** : 68-72 (1999).
- 48 Sampson BJ, Tabanca N, Kirimer Ne, Demirci B, Baser K, Khan IA, Spiers JM, and Wedge DE, Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis)(Aphididae: Homoptera). *Pest Manag Sci* **61** :1122-1128 (2005).
- 49 Kassimi A, El Watik L, and Moumni M, Study of the insecticidal effect of Oregano and Thyme essential oils and Neem carrier oil on the alfalfa aphid. *J Environ Solut* **1** :1-5 (2012).
- 50 Zaka SM, Zeng XN, Holford P, and Beattie GAC, Repellent effect of guava leaf volatiles on settlement of adults of *citrus psylla*, *Diaphorina citri* Kuwayama, on citrus. *Insect Sci* **17** :39-45 (2010).
- 51 Penuelas J, and Llusia J, Effects of carbon dioxide, water supply, and seasonality on terpene content and emission by *Rosmarinus officinalis*. *J Chem Ecol* **23** :979-993 (1997).
- 52 Wells C, Bertsch W, and Perich M, Isolation of volatiles with insecticidal properties from the genus *Tagetes* (Marigold). *Chromatogr* **34** :241-248 (1992).
- 53 Romagnoli C, Bruni R, Andreotti E, Rai MK, Vicentini CB, and Mares D, Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. *Protoplasma* **225** :57-65 (2005).
- 54 Duchamp-Viret P, Duchamp A, and Chaput MA, Single olfactory sensory neurons simultaneously integrate the components of an odour mixture. *Eur J Neurosci* **18** :2690-2696 (2003).
- 55 Hori M, and Komatsu H, Repellency of rosemary oil and its components against the onion aphid, *Neotoxoptera formosana* (Takahashi) (Homoptera, Aphididae). *Appl entomol zool* **32** :303-310 (1997).

- 56 Gabrys B, Danciewicz K, Halarewicz-Pacan A, and Janusz E, Effect of natural monoterpenes on the behaviour of the peach potato aphid, *Myzus persicae* (Sulz.). *OILB wprs Bulletin* **28** :29-34 (2005).
- 57 Castro, Zavaleta-Mejia E, and Zamudio-Guzman V, Effect of association of cempoaxochitl (*Tagetes erecta* L.) with tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) or chilli (*Capsicum annum* L.) on aphid populations in Tecamachalco, Puebla. *Rev Mex Fitopatol* **8** :198-200 (1990).
- 58 Mauchline AL, Osborne JL, Martin AP, Poppy GM, and Powell W, The effects of non-host plant essential oil volatiles on the behaviour of the pollen beetle *Meligethes aeneus*. *Entomol Exp Appl* **114** :181-188 (2005).
- 59 Jankowska B, Poniedziaek M, and Jedrszczyk E, Effect of intercropping white cabbage with French Marigold (*Tagetes patula nana* L.) and Pot Marigold (*Calendula officinalis* L.) on the colonization of plants by pest insects. *Folia Horti* **21** :95-103 (2009).
- 60 Jankowska B, and Wilk A, Effect of pot marigold (*Calendula officinalis* L.) and cypress spurge (*Euphorbia cyparissias* L.) plant water extracts on the occurrence of pest insects on white cabbage. *Folia Horti* **23** :21-28 (2011).
- 61 Velcheva N, Atanassov N, Velchev V, Vulcheva R, Karadjova O, and Velichkova M, Toxic action of plant extracts on some pests of economic importance. *Bulg J Agric Sci* **7** :133-139 (2001).
- 62 Joó É, Van Langenhove H, Šimpraga M, Steppe K, Amelynck C, Schoon N, Müller J-F, and Dewulf J, Variation in biogenic volatile organic compound emission pattern of *Fagus sylvatica* L. due to aphid infection. *Atmos Environ* **44** :227-234 (2010).
- 63 Baldwin IT, Kessler A, and Halitschke R, Volatile signaling in plant-plant-herbivore interactions: what is real? *Curr Opin Plant Biol* **5** :351-354 (2002).
- 64 Arimura G-i, Ozawa R, Shimoda T, Nishioka T, Boland W, and Takabayashi J, Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature* **406** :512-515 (2000).
- 65 Tschardt T, Thiessen S, Dolch R, and Boland W, Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*. *Biochem Syst Ecol* **29** :1025-1047 (2001).
- 66 Farmer EE, and Ryan CA, Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proc Natl Acad Sci* **87** :7713 (1990).
- 67 Karban R, Associational resistance for mule's ears with sagebrush neighbors. *Plant Ecol* **191** :295-303 (2007).

- 68 Eigenbrode SD, Ding H, Shiel P, and Berger PH, Volatiles from potato plants infected with potato leafroll virus attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Proc R Soc Lond B Biol Sci* **269** :455 (2002).
- 69 Pettersson J, Tjallingii WF, and Hardie J, Host-plant Selection and Feeding, in : *Aphids as crop pests*, ed. by Van Emden HF and Harrington R, CABI, UK, pp. 87-107 (2007).
- 70 Holopainen JK, and Peltonen P, Bright Autumn Colours of Deciduous Trees Attract Aphids: Nutrient Retranslocation Hypothesis. *Oikos* **99** :184-188 (2002).
- 71 Visser JH, Host Odor Perception in Phytophagous Insects. *Annu rev entomol* **31** :121-144 (1986).
- 72 Hildebrand JG, and Shepherd GM, Mechanisms of olfactory discrimination: converging evidence for common principles across phyla. *Annu rev neurosci* **20** :595-631 (1997).
- 73 Zhang Q-H, and Schlyter F, Redundancy, Synergism, and Active Inhibitory Range of Non-Host Volatiles in Reducing Pheromone Attraction in European Spruce Bark Beetle *Ips typographus*. *Oikos* **101** :299-310 (2003).
- 74 Jankowska B, Impact of intercropping white cabbage with Pot Marigold (*Calendula officinalis* L.) and French Marigold (*Tagetes patula nana*) on the occurrence of cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.), its parasitoid *Diaeretiella rapae* M'Intosh and predatory Syrphidae. *Aphids and Other Hemipterous Insects* **13** :199-209 (2007).
- 75 Mamoci E, Cavoski I, Andres MF, Díaz CE, and Gonzalez-Coloma A, Chemical characterization of the aphid antifeedant extracts from *Dittrichia viscosa* and *Ferula communis*. *Biochem Syst Ecol* **43** :101-107 (2012).
- 76 Karray-Bouraoui N, Harbaoui F, Rabhi M, Jallali I, Ksouri R, Attia H, Msilini N, and Lachaâl M, Different antioxidant responses to salt stress in two different provenances of *Carthamus tinctorius* L. *Acta Physiol Plant* **33** :1435-1444 (2011)

Chapitre IV : Etude de deux mécanismes d'action d'une plante de service : effet direct sur le puceron ou indirect via des modifications de la plante hôte

Chapitre IV : Etude de deux mécanismes d'action d'une plante de service : effet direct sur le puceron ou indirect via des modifications de la plante hôte

Présentation de l'étude

Tout acte comportemental élémentaire d'un insecte résulte d'un ensemble séquencé de processus consécutifs à la réception d'un stimulus optique, olfactif ou gustatif (Riba et Silvy 1989). Plusieurs molécules chimiques dont des composés volatils sont impliquées dans la signalisation olfactive et leurs effets sur le comportement des pucerons ont été mis en évidence même si les mécanismes en jeu ne sont pas toujours connus. En effet, le ravageur cherchant à localiser sa plante hôte va utiliser des informations chimiques qui peuvent être diffusées dans l'atmosphère environnant le lieu où se trouve sa plante hôte. Nos essais en chambres climatiques (chapitre III, Ben Issa et al, soumis) ayant limité les autres facteurs potentiels agissant sur les pucerons, ont montré que l'émission de COV est un facteur important pour expliquer l'action des plantes de services sur la performance de *M. persicae* et son installation. Dans ce chapitre, nous avons voulu explorer les mécanismes mis en jeu. Selon la littérature, les perturbations provoquées par la présence des COV peuvent être dues à un effet répulsif ou un camouflage olfactif du profil de la plante hôte à distance empêchant l'approche des ravageurs (Nottingham et al. 1991) ou à un effet anti-appétant ou dissuasif lors de la prise de nourriture ce qui réduit l'attractivité de la plante hôte.

L'effet répulsif de certains composés volatils sur les ravageurs a été montré dans plusieurs études comportementales et électro-physiologiques (Nottingham et al. 1991; Webster et al. 2008).

L'effet de COV émis par une plante sur ses plantes voisines a été très rarement étudié. En complément des interactions racinaires entre plantes voisines (allélopathie racinaire), il existe également des interactions aériennes. Dans le cas d'allélopathie racinaire, la sécrétion de substances chimiques au niveau racinaire peut entraîner une modification du métabolisme de la plante réceptrice de ces substances, et en conséquence affecter sa composition et sa qualité vis-à-vis des ravageurs (Glinwood et al. 2003). Des cas d'allélopathie aérienne ont également été décrits. Cependant, l'hypothèse que les plantes saines ont la capacité de capter les signaux volatils des plantes attaquées par un herbivore et d'interagir avec ces informations volatiles en déclenchant leurs mécanismes de défense, a été rarement étudiée (Heil et Silva Bueno 2007). De la même façon, les COV émis par les plantes de service pourraient être captés par les

plantes hôtes et modifier en conséquence leur fonctionnement (morphologie et métabolisme) ce qui pourrait affecter les performances de l'insecte.

Pour déterminer si les PdS avaient un effet direct sur les pucerons, nous avons étudié l'effet de la plante de service sur le comportement de choix du puceron. Une technique olfactométrique (Ameline et al. 2007) qui permet d'étudier le comportement de choix de *M. persicae* a été expérimentée en laboratoire. Ce test permet de savoir si les pucerons sont attirés ou non par les volatils émis par le poivron et comment les COV émis par des plantes de service vont affecter ce choix.

Pour étudier l'hypothèse de modification de la biochimie de la plante hôte par les COV émis par la plante de service, nous avons placé les poivrons en présence de PdS pour les conditionner et induire cette réponse hypothétique. Nous avons recherché si la présence de composés volatils émis par les plantes de service avait modifié le profil olfactif des poivrons et quelles étaient les conséquences sur les interactions entre plantes de poivron pré-conditionnées et puceron. Pour cela, nous avons exposé les plantes de poivrons aux odeurs de plantes de service dans un phytotron pendant 5 jours. Cinq plantes de service ont été testées : le romarin, le basilic, la lavande, le géranium et l'œillet d'inde en fleur. Après pré-conditionnement, nous avons analysé les COV émis par les plantes pré-conditionnées comparés avec ceux de plantes de poivrons non pré-conditionnées. Ensuite nous avons suivi les performances biologiques (survie, fécondité) de pucerons sur les plantes de poivron pré-conditionnées. Connaître ces mécanismes est important dans la mesure où cela permet de mieux comprendre les relations entre les composés volatils de plante non hôte, la plante hôte et le comportement de l'insecte, et donc de juger la pertinence d'utiliser cette plante de service.

Les données sont présentées sous la forme d'un article scientifique, dont la forme définitive est en cours de préparation.

Résumé

Dans la nature, les composés organiques volatils (COV) véhiculent de nombreuses informations sur l'environnement de proximité. Ainsi, les COV émis par une plante peuvent affecter les interactions plante / insecte : de façon directe s'ils sont perçus par les insectes qui peuvent adapter en conséquence leur comportement, ou de façon indirecte s'ils sont perçus par d'autres plantes voisines qui peuvent modifier leur morphologie ou leur composition biochimique les rendant par exemple moins attractives. Pour comprendre quels sont les mécanismes impliqués dans les interactions entre puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) et différentes plantes de service, nous avons réalisé des tests de comportement de choix du puceron entre l'odeur de sa plante hôte (le poivron : *Capsicum annuum*) et celle de plantes de service à l'aide d'olfactomètres. Dix plantes de service ont été testées, parmi lesquelles le romarin, la lavande, le basilic, la menthe poivrée, le géranium, et l'œillet d'inde en fleur, ont affecté le comportement d'orientation des pucerons et montré un effet répulsif, à la différence de l'œillet d'inde en feuille, la sarriette, la ciboulette ou le thym. Ces résultats montrent qu'il existe un effet direct des COV émis par ces plantes sur le puceron. Pour tester s'il existe également un effet indirect, nous avons étudié la préférence et la performance de *M. persicae* sur des plantes de poivron pré-conditionnées par des tests olfactométriques et des essais en enceintes climatiques. Dans ce cas, cinq plantes de service ont été testées (romarin, lavande, basilic, géranium et œillet d'inde). Le comportement de choix du puceron testé avec les olfactomètres a été affecté sur les plantes pré-conditionnées avec le géranium, la lavande et l'œillet d'inde. Par contre à plus long terme dans les essais en enceinte seules les plantes de poivron pré-conditionnées avec l'œillet d'inde ont induit un comportement de fuite significatif des pucerons et ont induit une diminution du nombre de larves pondues tout à fait comparable à celle observée sur poivron en présence d'œillet d'inde. Ces essais ont donc montré l'existence d'une interaction indirecte entre œillet d'inde et poivron qui perturbe l'acceptabilité de la plante hôte par le puceron. Cette étude est une première étape vers la compréhension des interactions entre plantes et plantes-insectes ainsi que leurs conséquences potentielles sur la perturbation du comportement d'une population de pucerons.

Mots clés : plante de service, *Myzus persicae*, allélopathie aérienne, allélobiose interspécifique, olfaction, composé organique volatil.

1. Introduction

Pour survivre, se développer et se reproduire, les plantes et les insectes doivent surmonter de nombreux défis. Pour s'adapter à un environnement fluctuant et plus ou moins favorable, ils doivent percevoir les modifications de leur environnement et répondre aux différentes informations reçues sous forme de signaux physiques (lumière, température,...) ou chimiques qui les informent sur l'adéquation de leur environnement avec leurs besoins (Niinemets et al. 2002; Ninkovic 2010). En réponse à leur environnement biotique et abiotique, les plantes vont produire à leur tour des signaux tels que les composés organiques volatils, des médiateurs chimiques qui seront émis dans l'atmosphère et pourront renseigner les plantes voisines et les insectes. La présence de ces volatils peut provoquer des interactions complexes entre plantes et insectes (Ninkovic et al. 2007). On a ainsi suspecté et mis en évidence, depuis longtemps, des interactions directes entre une plante et un insecte *via* l'émission par la plante de volatils qui étaient perçus par l'insecte (Dethier et Browne 1960; Feeny 1976).

Des travaux menés en plein champ, en tunnel de vol ou en laboratoire ont ainsi montré que les propriétés chimiques et biologiques des composés organiques volatils émis par les plantes peuvent engendrer une forte activité attractive, répulsive ou anti appétante et qui leur confère un rôle important dans la sélection des plantes hôtes par les ravageurs. Plusieurs approches expérimentales ont été proposées (Masatoshi 1999; Party et al. 2009; Schröder et Hilker 2008; Webster et al. 2008) pour comprendre comment les signaux olfactifs s'intègrent dans la biologie du comportement des insectes et permettent la reconnaissance et la localisation d'une ressource en fonction du contexte odorant.

Il en résulte une implication très nette des composés volatils dans le comportement de choix des insectes. Les travaux sur l'olfaction des insectes et notamment des pucerons soulèvent beaucoup d'intérêt par rapport aux applications potentielles en termes de protection des cultures *via* des techniques de perturbations olfactives. De nombreux homoterpènes, sesquiterpènes, monoterpènes et phénylpropanoïdes ont été décrits comme des COV perturbant le comportement des insectes (Niinemets et al. 2002). Dans ce cadre, le rôle de certaines plantes capables d'émettre des COV a été testé afin de caractériser leurs effets sur le comportement des pucerons et définir s'il était possible de les utiliser comme « plante de service », susceptible de réduire les populations de ravageurs (Lai et al. 2011; Tang et al. 2013). Certaines de ces plantes ont d'ailleurs été testées et commercialisées sous forme d'huiles essentielles ou d'extraits végétaux pour lutter contre les ravageurs (Dancewicz et

Gabry 2008; Hori 1998; Wells et al. 1993). Ces plantes ont rarement été utilisées directement en association avec les cultures à protéger.

Les COV émis par les plantes pourraient également jouer un rôle sur les plantes voisines. Ces interactions de plante à plante semblent particulièrement intéressantes même si elles sont plus équivoques. Elles connaissent un regain d'intérêt ces dernières années, depuis qu'en 1983, Baldwin et Schultz ont signalé pour la première fois ces phénomènes de communication de plante à plante, les recherches se sont multipliées. Les premières confirmations empiriques ont été réalisées il n'y a qu'une dizaine d'années. Cependant, les mécanismes impliqués ont été très peu étudiés et sont controversés. Une des raisons est liée au fait que la plupart des expérimentations ont été réalisées essentiellement en laboratoire avec des plantes enfermées dans de petites enceintes ((Dicke et al. 2003b).

La communication entre les plantes par l'intermédiaire de composés chimiques volatils est appelée allélopathie aérienne (Glinwood et al. 2004). Ce mécanisme a été surtout décrit pour les plantes qui peuvent détecter les substances volatiles émises par les plantes voisines attaquées par les ravageurs ou bien endommagées mécaniquement et les rend moins attractives aux herbivores (Arimura et al. 2000; Ninkovic et al. 2007). Ces plantes vont détecter les odeurs existantes dans leur environnement et en fonction des signaux perçus déclencher des mécanismes de défense et des réactions immunitaires (Dicke et al. 2003a; Heil 2010; Heil et Silva Bueno 2007). L'exposition des plantes aux composés volatils des plantes attaquées leur permettent d'ajuster leur phénotype défensif selon le risque d'attaque présent (Heil et Silva Bueno 2007). La perception de ces substances volatiles peut se manifester de différentes manières. Les plantes voisines peuvent augmenter leurs émissions de COV et par conséquent la répulsion des herbivores (Kost et Heil 2006). La production de ces composés peut permettre aussi d'attirer les ennemis naturels (Farmer 2001). Les travaux de Heil et Silva Bueno (2007) ont montré que l'exposition de plants de haricot de Lima, dans leur site de plantation naturel, aux composés volatils émis par des branches attaquées par des coléoptères a initié la sécrétion de nectar extra-floral et favorisé l'attraction d'ennemis naturels. Ces COV ont augmenté la production de feuilles et d'inflorescences de la plante hôte par rapport au témoin non exposé aux odeurs (Heil et Silva Bueno 2007). Dans une autre étude réalisée pendant 5 ans sur des plantes de tabac, Karban et Maron (2002) ont trouvé des résultats similaires ; les COV libérés par des plantes voisines d'armoise endommagées ont augmenté la production de fleurs et de graines sur les plantes non endommagées comparées à des plantes témoin non exposées aux volatiles.

Les plantes peuvent aussi être exposées aux volatils émis par d'autres plantes voisines non endommagées, et modifier leur fonctionnement en conséquence, cependant ce phénomène a rarement été étudié. Pettersson et al. (2003) ont défini le terme d'« allélobiose » pour définir les interactions par l'intermédiaire de composés chimiques volatils entre les plantes saines (non attaquées par des herbivores) de la même espèce (allélobiose intra-spécifique) ou les interactions avec une espèce différente (allélobiose interspécifique, dans la plupart des cas des mauvaises herbes). Ces interactions provoquent des effets ultérieurs sur d'autres organismes et apportent un bénéfice à la plante réceptrice. Des travaux récents (Glinwood et al. 2004; Glinwood et al. 2003) ont montré que l'échange chimique entre plantes peut affecter le choix de la plante hôte par les ravageurs. Cette découverte a mis en évidence la signification écologique des médiateurs chimiques entre plantes et ouvert de nouveaux horizons à la recherche de nouvelles stratégies de lutte contre les ravageurs plus en accord avec une gestion durable de l'environnement.

Les travaux effectués sur ces interactions entre plantes ont montré que les signaux volatils perçus par une plante peuvent entraîner des réponses de type morphologique et / ou biochimique. Par exemple, Ninkovic et al. 2013 ont trouvé, dans des expérimentations en laboratoire, que l'exposition de plantes de pomme de terre aux COV émis par des plantes d'oignons altère significativement leur profil chimique corrélée à une diminution de la présence des pucerons. Leur analyse montre que les plantes exposées à l'odeur de l'oignon émettent des quantités importantes de C₁₅ sesquiterpènes (E)-nerolidol et C₁₆ homoterpènes (3E, 7E)-4, 8, 12-triméthyl-1, 3, 7, 11-tidecatetranene par rapport aux plantes témoins (non exposées). En plein champ, ces auteurs ont montré que l'association dans une même parcelle de ces deux plantes a réduit l'abondance de pucerons ainsi que l'attaque des plantes de pomme de terre par les ailés. Le changement du profil odorant, en réponse à la présence des COV, indique que les signaux volatils émis par les plantes voisines peuvent avoir une certaine sphère d'influence dans laquelle ils induisent un changement de l'environnement physique des plantes réceptrices qui peut par conséquent exercer un effet significatif sur la présence d'insectes. Ninkovic (2003) a trouvé que l'exposition d'un cultivar d'orge aux odeurs d'un autre cultivar modifie l'allocation de biomasse au niveau des plantes réceptrices en favorisant les racines qui va entraîner une diminution de l'exposition des feuilles au rayonnement et en conséquence une diminution de leur température. Tous ces changements ont provoqué la réduction de l'installation des pucerons (*R. padi* L.), modifié leur comportement d'alimentation ainsi entraîné une baisse de leur taux de croissance et augmenté l'attraction de

prédateurs notamment les coccinelles (*C. septempunctata* L.) (Ninkovic et al. 2002). Des plantes d'orge exposées aux volatils émis par des chardons (*C. arvense* ou *E. repens*) deviennent répulsives aux pucerons (*R. padi* L.) par leur odeur ou moins attractives au moment du contact. Les plantes exposées attirent d'avantages des prédateurs aphidiphages (*C. septempunctata* L.) (Glinwood et al. 2004). Il ressort de ces travaux que l'exposition d'une plante aux composés volatils d'une autre peut avoir un effet négatif sur la colonisation de la plante ayant reçu ces signaux volatils par les populations de pucerons. Pour éviter l'interférence de plusieurs mécanismes tels que la compétition entre les plantes ou l'attaque des ravageurs, ces conclusions ont été obtenues en laboratoire et confirmés dans des expérimentations en plein champ. L'allélobiose a été testée, dans la plupart des cas, en utilisant des cages à deux chambres où les deux plantes testées étaient mises en communication via une ouverture.

Un premier travail présenté dans le chapitre III de cette thèse a mis en évidence l'implication des COV émis par les PdS sur le changement du comportement du puceron. L'objectif de ce chapitre est de rechercher quels sont les mécanismes impliqués dans les interactions entre plante de service émettrice de COV, le puceron et le poivron plante hôte du puceron. Deux hypothèses seront étudiées pour interpréter les résultats observés : l'une considère que les COV émis par les plantes de service pourraient induire un effet direct sur le comportement de choix des pucerons, l'autre considère les interactions possibles entre plantes. Des tests de choix en utilisant des olfactomètres à double chambre permettent de savoir si la présence d'une plante de service avec sa plante hôte perturbe le comportement de choix des pucerons. La deuxième hypothèse consiste à analyser les signaux émis par les plantes hôtes afin de savoir si l'odeur d'une plante de service peut modifier l'information émise par le poivron au point d'affecter négativement le comportement des pucerons. Nous avons donc exposé des plantes de poivron aux odeurs de certaines plantes de service dans un milieu confiné (phytotron) ; Ces plantes seront par la suite appelées plantes de poivrons pré-conditionnées. Deux types d'expérimentations ont été conduites afin i) de mesurer si les COV émis par les plantes hôtes peuvent être affectés ou non par des plantes de services et perturber le signal olfactif perçu par le puceron en ii) réalisant des tests olfactométriques et iii) un suivi de l'installation d'une population de pucerons sur des plantes de poivrons pré-conditionnées.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériels

Les plantes de service et de poivron utilisées dans cette étude ont été cultivées dans des conditions identiques à celles décrites au chapitre II (Matériels et méthodes, pX). Neuf espèces de plantes de service ont été testées : romarin (*Rosmarinus officinalis*), lavande (*Lavandula latifolia*), basilic (*Ocimum basilicum*), géranium (*Pelargonium zonal*), œillet d'inde (*Tagetes patula nana*) (stade fleur, stade végétatif), menthe poivrée (*Mentha piperita*), ciboulette (*Allium schoenoprasum*), sarriette (*Satureja hortensis*) et thym (*Thymus vulgaris*). L'élevage de *M. persicae* est également décrit au même chapitre. Les femelles utilisées sont aptères et âgées de 10 jours.

2.2. Méthodes

2.2.1. Test de préférence de puceron (*Myzus persicae*) : effet des composés volatils émis par une plante de service sur les réponses d'orientation du puceron

2.2.1.1. Objectif

Ce test a pour objectif de déterminer si une plante de service a un effet sur le comportement d'orientation du puceron. Pour cette expérience, 10 plantes de service ont été testées : romarin, lavande, basilic, menthe poivrée, géranium, œillet d'inde en fleur, œillet d'inde en feuille, sarriette, ciboulette et thym.

2.2.1.2. Dispositif expérimental

Les signaux olfactifs ont une influence déterminante sur le comportement d'orientation des pucerons (chapitre I). De nombreux dispositifs d'olfactométrie ont été utilisés pour tester le choix des pucerons. Nous avons choisi de tester le dispositif expérimental décrit par Ameline et al. (2007). C'est un olfactomètre à atmosphère statique (Figure 4.1). Il consiste en une arène cylindrique en Plexiglas de 14 cm de diamètre et 5 cm de haut sous-divisée en deux chambres égales par une cloison centrale. Le haut de l'arène est fermé mais sa base est constituée d'une double grille de polyéthylène d'un maillage de 0,09 mm². Les deux plantes (ou une plante et un témoin blanc) sont ainsi séparées pour éviter le mélange de leurs substances volatiles. Une feuille ou un ensemble de feuilles appartenant à chacune des deux plantes est insérée via une ouverture de 5 mm dans la boîte, les plantes sont disposées l'une en face de l'autre. On utilise des plantes entières pour éviter l'effet d'une blessure sur l'émission

de volatils. Une boîte de Pétri contenant les pucerons est placée, face ouverte vers le haut, en dessous de la double couche de grille en polyéthylène. L'arène originale a été conçue pour contenir des feuilles de pomme de terre et tester la préférence des pucerons entre composés volatils provenant de leur plante hôte sous différents états de stress biotiques ou abiotique. Pour mon travail, j'utilise des plantes de poivron et des plantes de service. Pour adapter le dispositif à nos plantes, nous l'avons légèrement modifié afin d'assurer l'étanchéité du système et éviter les blessures des plantes. En effet, la partie supérieure de l'arène, celle contenant les plantes, est faite de deux couvercles de boîtes en plexiglas enclenchées. La partie supérieure de l'arène est restée la même que celle du premier modèle. Cependant, sa base est constituée d'une seule grille de polyéthylène. Ainsi, les ouvertures où sont placés les pétioles ou tiges des plantes ont été élargies et recouvertes d'une mousse compacte qui évite ainsi une blessure éventuelle de la plante et qui permet une meilleure étanchéité de la boîte aux composés volatils sortant. En ce qui concerne la boîte inférieure, nous n'avons pas utilisé de boîte de Pétri mais une boîte ayant une hauteur plus importante ce qui a permis d'installer une grille en polyéthylène à la place du fond en plastique. Ainsi, en retournant cette boîte inférieure (pour avoir la toile vers le haut), on a un dispositif final ayant deux grilles en polyéthylène espacées d'environ 5mm entre les pucerons et la plante.

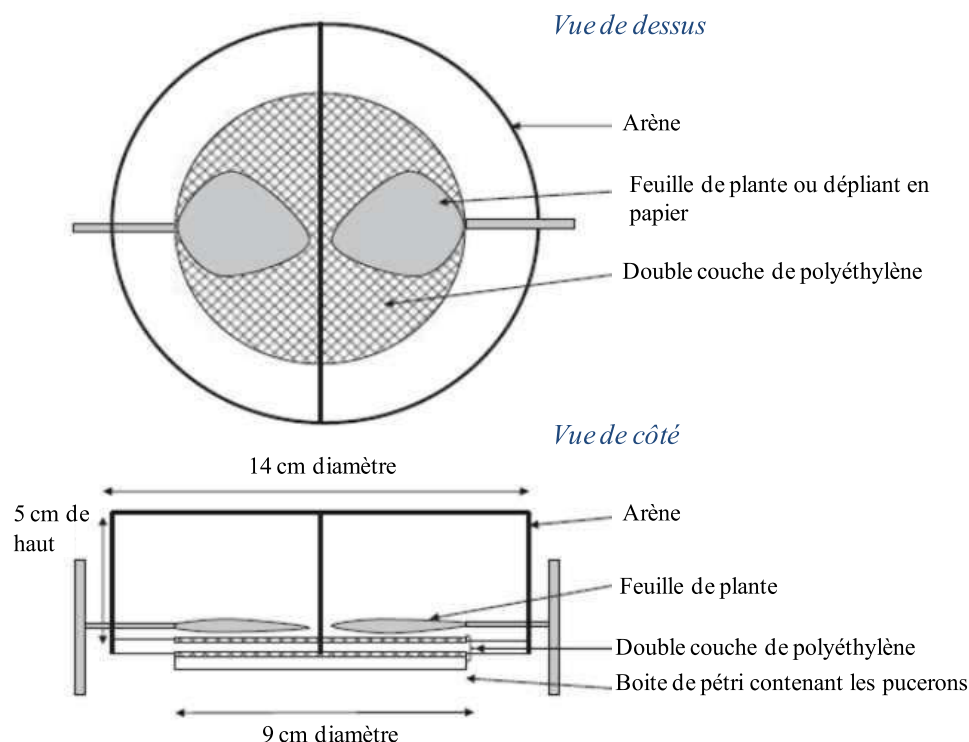


Figure 4.1: Représentation schématique de l'olfactomètre utilisé pour l'étude du comportement d'orientation des pucerons (Ameline et al. 2007)

2.2.1.3. Protocole expérimental

Le protocole expérimental est basé sur celui des travaux d'Ameline et al. (2007) adapté à nos objectifs.

✚ Le prélèvement des pucerons

Les expérimentations ont été réalisées avec des cohortes standardisées de 24h. Seules les femelles adultes aptères âgées de 10 jours ont été utilisées pour les expérimentations. Le prélèvement est fait au pinceau pour ne pas abimer les individus. Le nombre de pucerons par boîte a été choisi après plusieurs tests préliminaires avec des nombres de pucerons variés. On prélève 30 pucerons par boîte. Ce protocole a été répété 8 fois. Au total, nous avons testé 8 (arènes) x 30 (individus) soit 240 pucerons par modalité et ce dans deux séries indépendantes.

✚ La mise en place des pucerons et le jeûne

La salle d'expérimentation est ventilée et tenue à $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Les pucerons sont placés dans la boîte inférieure et laissés à l'obscurité pour un jeûne d'une heure. L'obscurité évite toute influence visuelle et place les pucerons dans un état d'attente neutre. On effectue un jeûne

d'une heure (Eigenbrode et al, 2002) pour homogénéiser l'état physiologique de tous les individus.

Pour chaque traitement deux modalités ont été testées (Figure 4.2):

- Plante de service versus blanc : cette modalité permet de mesurer le caractère répulsif ou neutre d'une plante de service.
- Plante de service versus poivron : cette modalité permet de mesurer la préférence du puceron pour l'odeur de sa plante hôte en présence de la plante de service.



a) Plante de service versus blanc



b) Plante de service versus poivron

Figure 4.2: Les modalités testées pour étudier le comportement d'orientation des pucerons.

Après une heure de jeûne, les plantes sont disposées à l'horizontale pour qu'une feuille ou un apex puisse être disposé de part et d'autre de la boîte supérieure. On introduit dans le dispositif au moins deux feuilles bien développées et dans le cas des tests 'plante de service versus poivron' une quantité équivalente de surface foliaire de chaque côté de l'olfactomètre. Les pucerons sont introduits dans le dispositif après avoir été répartis de manière homogène dans la chambre inférieure avec environ 15 individus de chaque côté à l'aide d'un pinceau éventuellement imbibé d'eau déminéralisée. La mise en place doit être rapide car les pucerons doivent rester à l'obscurité. A l'obscurité, les pucerons subissent un géotactisme négatif et grimpent sur la toile (Eigenbrode et al, 2002). La double épaisseur de la toile empêche le stylet des pucerons d'atteindre la plante.

Prise de photo

Une heure après la mise en place des plantes de service dans le dispositif, on prélève la boîte inférieure pour prendre une photo des pucerons. Cette photo permet d'enregistrer le

positionnement des individus de part et d'autre de la boîte inférieure. Comme les pucerons se déplacent rapidement, surtout lors d'une disruption, un comptage immédiat risquerait de fausser les résultats.

Nettoyage

Le nettoyage de l'olfactomètre est fait au savon classique puis à l'alcool dilué afin de supprimer toute substance odorante restante qui pourrait influencer les pucerons dans leur orientation lors du test.

Lecture des photos

Les pucerons sont considérés comme répondants (Figure 4.3) lorsqu'ils sont présents sur la toile. Les individus retrouvés sur les rebords de la boîte ou qui ne sont pas montés sont considérés comme 'non-répondants'. Le choix de chacun des répondants est noté selon le côté sur lequel il s'est positionné.

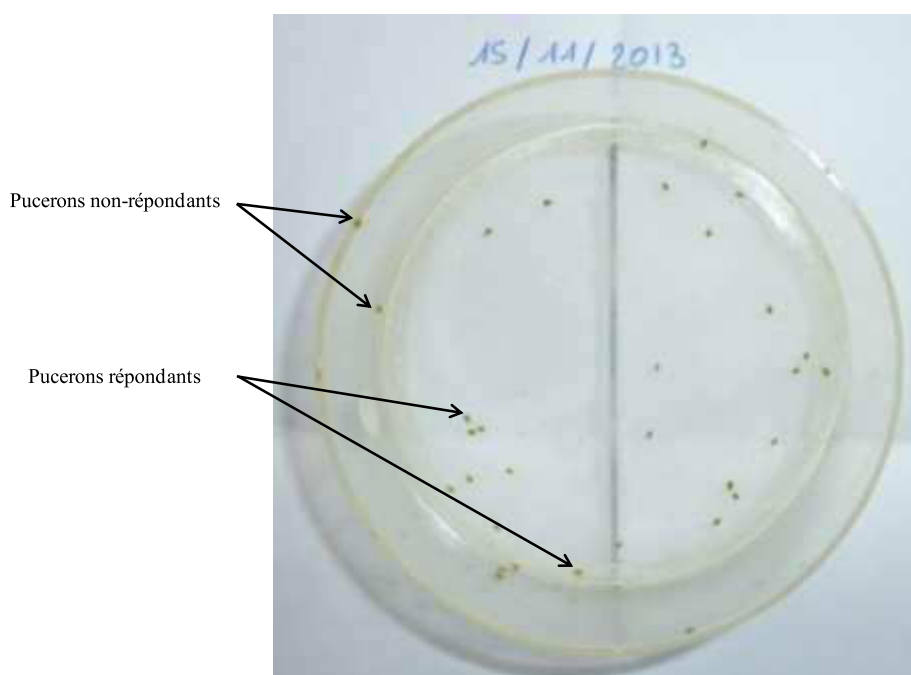


Figure 4.3: Exemple de photo prise en fin d'expérimentation pour la lecture des résultats ; indication des pucerons considérés comme répondants et non-répondants

2.2.2. Effet du pré-conditionnement du poivron avec les plantes de service sur l'installation d'une population de puceron

2.2.2.1. Objectif

Le pré-conditionnement de plantes hôte (poivron) a pour objectif de rechercher s'il existe un effet des COV émis par les plantes de service sur la plante hôte.

Dans un premier temps, les plantes hôte ont été pré-conditionnées en présence de plantes de service (ou non : témoin). Cinq espèces de plantes de service ont été testées : romarin (*Rosmarinus officinalis*), lavande (*Lavandula latifolia*), basilic (*Ocimum basilicum*), géranium (*Pelargonium zonal*) et œillet d'inde (*Tagetes patula nana*) qui correspondent aux plantes ayant montré les résultats les plus significatifs sur le comportement du puceron lors des tests en enceintes climatiques (Chapitre III).

2.2.2.2. Pré-conditionnement du poivron

Le pré-conditionnement a été réalisé dans deux phytotrons à $20 \pm 2^\circ \text{C}$ avec un cycle de 16h de jour et 8 h de nuit. Dans le phytotron contenant les plantes à préconditionner, 18 plantes de poivrons comportant 5 feuilles bien développées ont été placées en 3 rangées de 6 alternées par 3 rangées de plantes de service (6 PdS / rangs) et distantes de 20 cm les unes par rapport aux autres (Figure 4.4). Toutes les plantes étaient dans des pots afin d'éviter toutes les interactions racinaires. Dans l'autre phytotron, seules des plantes de poivrons ont été placées selon le même agencement. Les plantes ont été arrosées tous les 2 jours. La durée de pré-conditionnement a été fixée à 5 jours, ce qui correspond à une durée au-delà de laquelle les PdS choisies avaient toutes montré un effet très significatif sur le comportement des pucerons lors des expérimentations d'associations poivron-PdS testées en enceintes climatiques (Chapitre III). Cette période correspond également à la durée d'exposition utilisée dans le protocole décrit par Glinwood et al. 2004 pour tester les effets de composés volatils émis par les chardons dans des cages en plexiglas sur des plantes d'orge.

Les composés volatils émis par les plantes pré-conditionnées en présence de PdS ont été comparés à ceux émis par des plantes de poivron témoin selon le protocole décrit ci-dessous (section 2.2.2.3).

Après la période de pré-conditionnement de 5 jours, les performances de *M. persicae* ont été évaluées sur 6 plantes de poivron pré-conditionnées, 6 plantes de poivron associées avec PdS

et 6 plantes témoins dans les enceintes climatiques selon le protocole décrit précédemment (chapitre III) légèrement modifié (section 2.2.2.4).



Figure 4.4: Pré-conditionnement du poivron dans un phytotron. 16 plantes de poivrons ayant 5 feuilles bien développées ont été placées en 3 rangées de 6 alternées par 3 rangées de plantes de service (6 PdS / rangs) et distantes de 20 cm les unes par rapport aux autres.

2.2.2.3. Prélèvements des composés volatils

Les prélèvements de COV ont été effectués avant le démarrage des essais en enceintes climatiques en utilisant le dispositif de prélèvement dynamique. Ils ont été effectués le matin entre 9h et 11h30 après la mise en place des plantes dans les enceintes climatiques et avant le dépôt des pucerons sur les plantes (14h). Les prélèvements entre les enceintes ont été décalés de 30 minutes afin de pouvoir injecter la fibre et réutiliser le dispositif.

Pour chaque prélèvement, un entonnoir a été placé au-dessus des plantes de poivron. Le prélèvement et les analyses ont été effectués selon le protocole décrit dans le chapitre matériels et méthodes (section 2.2.2.2). Pour chaque traitement, le prélèvement a été répété dans deux expérimentations indépendantes.

2.2.2.4. Effet du pré-conditionnement sur la performance de *M. persicae*

Après le pré-conditionnement, les plantes ont été installées dans les enceintes climatiques (J0) de la manière suivante:

Enceinte 1 : « témoin » : 9 plantes de poivron non pré-conditionnées.

Enceinte 2 : 6 plantes de poivrons non pré-conditionnés + 3 PdS

Enceinte 3 : 9 plantes de poivrons pré-conditionnés.

Après (14h) nous avons déposé 60 femelles (jeunes adultes âgées de 10 jours) sur 6 plantes de poivrons par enceinte climatique (10 femelles/ plante).

Les pucerons sont suivis durant une période de 5 jours (de j1 à j5). Chaque jour, à la même heure (14h), les femelles sont comptées et les larves pondues comptées puis éliminées. La performance de *M. persicae* est évaluée sur les plantes de poivron témoins, les plantes de poivron pré-conditionnées avec la plante de service choisie, et les plantes de poivron associées avec la même espèce de plante de service. Chaque test a été répété dans deux expérimentations indépendantes.

2.2.3. Test de préférence du puceron (*M. persicae*) : effet des composés volatils émis par une plante de poivron pré-conditionnée sur les réponses d'orientation du puceron

2.2.3.1. Objectif

Ce test a pour objectif de déterminer si une plante de poivron exposée à l'odeur d'une plante de service a un effet sur le comportement d'orientation du puceron.

2.2.3.2. Protocole expérimental

Les réactions de pucerons aptères placés en présence des odeurs émises par le poivron ou par le poivron pré-conditionné avec une plante de service ont été observées dans les olfactomètres décrits précédemment (section 2.2.1.2).

Les plantes ont été pré-conditionnées selon le protocole décrit précédemment dans la section (2.2.2.2).

Pour chaque traitement deux modalités ont été testées:

- Poivron pré-conditionné en présence de plante de service versus blanc : cette modalité permet de mesurer l'effet répulsif ou non d'une plante de poivron après avoir été exposée à l'odeur d'une plante de service.

- Poivron pré-conditionné en présence de plante de service versus poivron témoin : cette modalité permet de montrer si le pré-conditionnement avec une plante de service a modifié la préférence du puceron pour l'odeur de sa plante hôte.

2.2.4. Analyses statistiques

*Test de préférence de puceron (*M. persicae*)*

Les analyses statistiques ont été faites avec le logiciel XLSTAT. Le taux de non répondant entre les différentes expérimentations a été comparé grâce à un test Kruskal-Wallis. Pour chaque traitement dans le test de choix, la distribution des pucerons de chaque côté de l'olfactomètre a été analysée à l'aide d'un test de Wilcoxon pour échantillons appariés. L'indice de confiance est de $\alpha = 0,05$.

Effet du pré-conditionnement du poivron avec les plantes de service sur l'installation d'une population de puceron

La survie des femelles et les mesures répétées dans le temps ont été calculées de la même façon que celle dans le chapitre III (section 2.5).

3. Résultats

3.1. Test de préférence du puceron (*M. persicae*) : effet des volatils émis par une plante de service sur les réponses d'orientation du puceron

Le pourcentage de pucerons non répondants n'est pas statistiquement différent selon les traitements (ces données ne sont pas illustrées, $H=11.95$; $p=0.36$).

La figure (4.5) illustre la distribution des pucerons répondants (*M. persicae*) en présence d'une plante dans une chambre de l'olfactomètre et de vide dans l'autre chambre. Le comportement de choix de *Myzus persicae* diffère selon la plante de service utilisée.

La comparaison entre poivron et blanc n'est pas significative ($P=0.07$), ce qui suggère que le poivron n'est pas attractif pour ce puceron. Les 2/3 des PdS testées contre un blanc n'ont pas d'effet significatif sur la réponse des pucerons : le romarin ($p=0.12$), la lavande ($p=0.12$), le géranium ($p=0.67$), la feuille d'œillet d'inde ($p=0.09$), la fleur d'œillet d'inde ($p=0.14$), ciboulette ($p=0.14$). En revanche, d'autres plantes semblent significativement moins attractives pour les pucerons que l'arène vide: le basilic ($p=0.02$), la menthe poivrée ($p=0.014$), la sarriette ($p=0.01$), et le thym ($p=0.04$).

Lors des tests de comparaison entre poivron et PdS (Figure 4.6), on observe une préférence significative du puceron au poivron en présence de 6 plantes de service : la lavande ($p=0.03$) le romarin ($p=0.02$), le basilic ($p=0.01$), la menthe poivrée ($p=0.01$) ; géranium ($p=0.02$) et Œillet d'inde en fleur ($p=0.01$) (Fig. 2). Par contre, nous n'avons pas observé de différence significative de choix des pucerons entre poivron et Œillet d'inde en feuille ($p=0.07$), sarriette ($p=0.7$), ciboulette ($p=1.0$) ou thym ($p=0.7$).

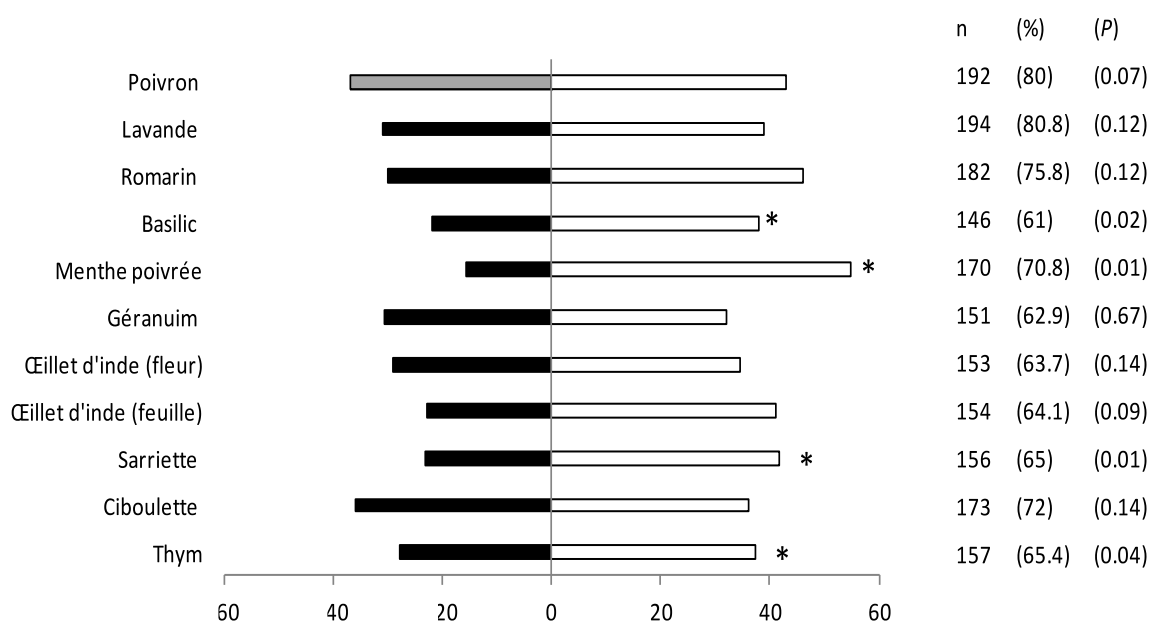


Figure 4.5: Distribution des pucerons répondants (*Myzus persicae*) en présence d'une plante dans une chambre de l'olfactomètre et de vide dans l'autre chambre. Les barres représentent les pourcentages des pucerons répondants. Les PdS (barres noires) et le poivron (barre grise) sont testés par rapport au vide (barres blancs). L'astérisque (*) indique une différence significative ($P<0.05$) de distribution des pucerons entre les deux chambres de l'olfactomètre. Le nombre (n) et les pourcentages des pucerons répondant (%) pour chaque situation d'expérimentation sont indiqués à droite.

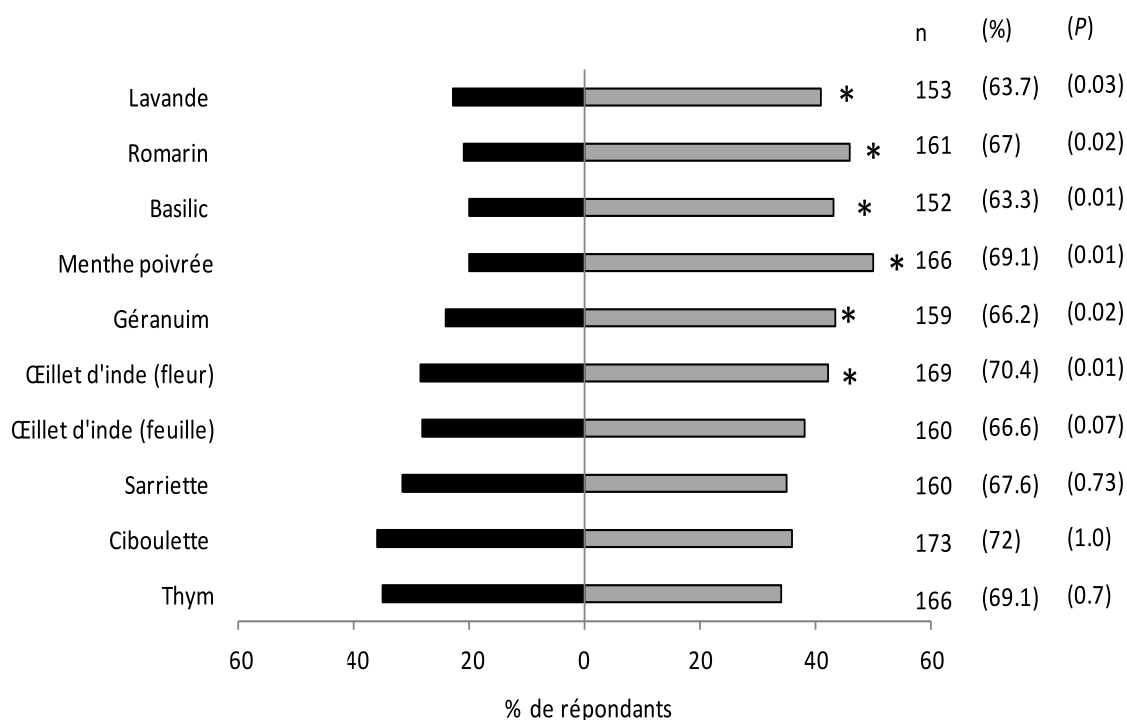


Figure 4.6: Distribution des pucerons répondants (*Myzus persicae*) en présence de plantes de service et de la plante hôte (le poivron). Les barres représentent les pourcentages des pucerons répondant. Les PdS (barres noires) sont testées par rapport au poivron (barres grises). L'astérisque (*) indique une différence significative ($P < 0.05$) de distribution des pucerons entre les deux chambres de l'olfactomètre. Le nombre (n) et les pourcentages (%) de pucerons répondant pour chaque situation d'expérimentation sont indiqués à droite.

3.2. Test de préférence du puceron (*M. persicae*) : effet des volatils émis par une plante de poivron pré-conditionnée avec une plante de service sur les réponses d'orientation du puceron

En exposant les pucerons à l'odeur du poivron pré-conditionnés comparée à un blanc sans plante (Figure 4.7), on ne met pas en évidence de différences significatives du nombre de pucerons répondants lors du pré-conditionnement avec le romarin ($p=0.94$), le basilic ($p=0.09$) ou le géranium ($p=0.48$). Cependant, on constate que la proportion de pucerons qui se dirigent vers le blanc est statistiquement significative en présence de poivron pré-conditionné avec la lavande ($p=0.024$) ou l'œillet d'inde ($p=0.04$). Les pucerons ayant le choix entre poivron pré-conditionné et le poivron témoin ne montrent pas de préférence, excepté dans le cas du poivron pré-conditionné avec le géranium où les pucerons ont tendance à choisir le poivron témoin ($p=0.042$).

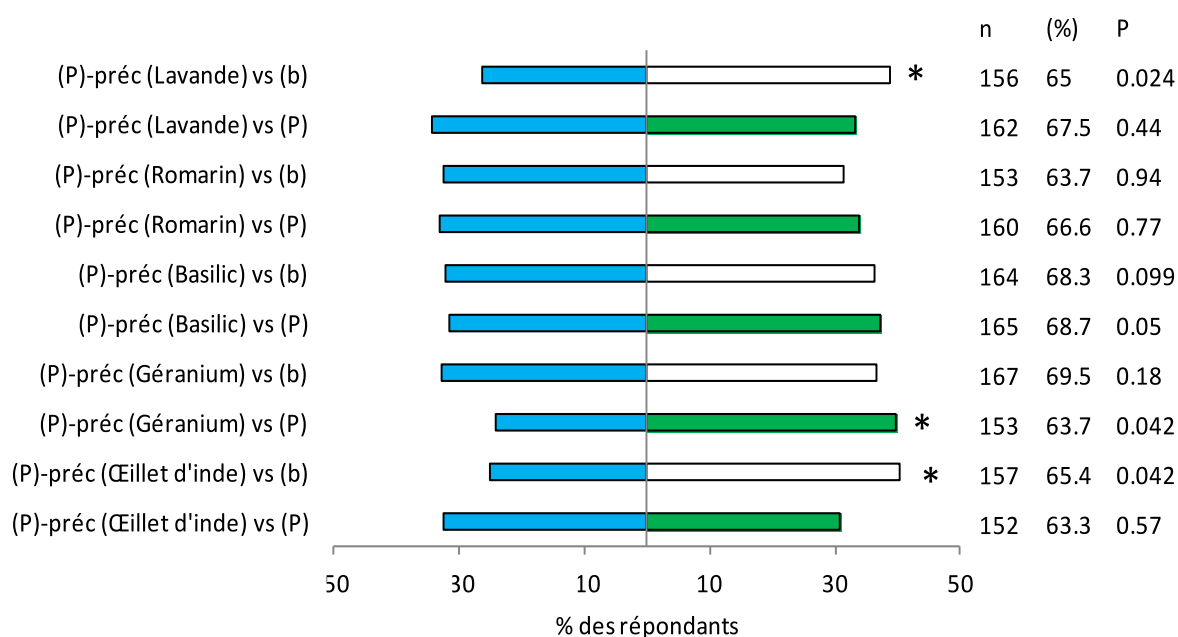


Figure 4.7: Distribution des pucerons répondants (*Myzus persicae*) en présence de poivrons pré-conditionnés avec des plantes de service. Les barres représentent les pourcentages des pucerons répondants. Les poivrons pré-conditionnés (barres bleues) sont testés par rapport au vide (barres blanches) ou par rapport au poivron témoin (barres vertes). L'astérisque (*) indique une différence significative ($P < 0.05$) de distribution des pucerons entre les deux chambres de l'olfactomètre. Le nombre (n) et les pourcentages (%) des pucerons répondant pour chaque situation d'expérimentation sont indiqués à droite.

3.3.Effet du pré-conditionnement du poivron avec les plantes de service sur l'installation d'une population de puceron

Impact des PdS sur le nombre de femelles

Le tableau (4.1) rapporte le résultat de la quantification de l'effet de la présence de la plante de service ou du poivron pré-conditionné avec la plante de service sur le comportement de fuite des femelles, obtenue par le calcul direct du risque relatif et par l'utilisation d'un modèle de Cox ajusté.

Après l'installation de 10 femelles sur chaque plante de poivron, on a suivi sur une période de 5 jours, leur présence ou leur disparition en considérant trois cas de figures : les pucerons déposés sur la plante de poivron témoin, sur la plante de poivron en présence de PdS ou sur la plante de poivron précédemment pré-conditionnée en présence de PdS. Quelle que soit la PdS testée, les résultats obtenus sont similaires pour les deux expériences indépendamment réalisées (tableau 4.1). En comparant le témoin (poivron seul, cas 1) avec les poivrons associés avec des plantes de service (cas 2), les résultats montrent que les femelles ont tendance à quitter les plantes en présence d'œillet d'Inde (R1 : $\beta = 1.63$, $\chi^2 = 3.55$, $p < 0.0001$; R2 : $\beta = 1.53$, $\chi^2 = 3.06$, $p = 0.002$), de romarin (R1 : $\beta = 2.02$, $\chi^2 = 4.86$, $p < 0.0001$; R2 : $\beta = 1.74$, $\chi^2 = 4.18$, $p < 0.0001$) ou de géranium (R1 : $\beta = 1.1$, $\chi^2 = 2.65$, $p = 0.008$; R2 : $\beta = 1.04$, $\chi^2 = 2.28$, $p = 0.023$). Les femelles installées sur les poivrons pré-conditionnés (cas 3) avec les plantes de service telles que le romarin, le géranium la lavande ou le basilic n'ont pas eu tendance à quitter les plantes en comparaison avec les femelles installées sur le témoin. Par contre, dans le cas du poivron pré-conditionné avec l'œillet d'Inde, nous avons observé un comportement de fuite des femelles lors des deux expérimentations indépendantes (R1 : $\beta = 1.32$, $\chi^2 = 2.83$, $p = 0.004$; R2 : $\beta = 1.09$, $\chi^2 = 2.08$, $p = 0.037$).

Tableau 4.1 : Effet de la présence de plantes de service ou de poivrons pré-conditionnés sur le comportement de fuite du puceron (*Myzus persicae*)

Covariantes	Réplication	β	exp (β)	SE (β)	χ^2	p	Effet sur le comportement de fuite
Œillet d'inde	R1	1,63	5,08***	0,458	3,55	<0,0001	+
	R2	1,53	4,62**	0,501	3,06	0,0022	+
P-préc-O	R1	1,32	3,74**	0,466	2,83	0,0047	+
	R2	1,09	2,96*	0,521	2,08	0,037	+
Romarin	R1	2,02	7,59***	0,417	4,86	<0,0001	+
	R2	1,74	5,73***	0,418	4,18	<0,0001	+
P-préc-R	R1	0,69	2,01	0,469	1,49	0,14	—
	R2	0,51	1,68	0,484	1,07	0,29	—
Lavande	R1	0,84	2.33	0.601	1.4	0.16	—
	R2	-0.33	0.715	0.586	-0.53	0.57	—
P-préc-L	R1	-0.24	0.78	0.764	-0.32	0.74	—
	R2	-0.38	0.68	0.587	-0.65	0.51	—
Basilic	R1	-0.41	0.661	0.913	-0.45	0.65	—
	R2	-0.13	0.876	0.606	-0.21	0.83	—
P-préc-B	R1	0.70	2.020	0.707	0.99	0.32	—
	R2	0.06	1.068	0.578	0.11	0.91	—
Géranium	R1	1.10	3.01**	0.416	2.65	0.008	+
	R2	1.04	2.76*	0.44	2.28	0.023	+
P-préc-G	R1	1.33	1.40	0.465	0.72	0.47	—
	R2	0.57	1.78	0.476	1.21	0.23	—

[exp (β)]: risque de fuite relatif associé au modèle de Cox en fonction des covariables 'plantes de services', SE: erreur standard, χ^2 : test du rapport de vraisemblance, +: augmentation du risque relatif de quitter la plante. (—): pas d'effet. *P <0.05; **P< 0.01; *** P<0.001: niveaux de signification comparés au hazard (poivron seul). P: poivron, préc: pré-conditionné, O: œillet d'inde, R: romarin, L: lavande, B: basilic, G: géranium.

La dynamique de fuite des femelles est présentée au cours du temps dans la figure (4.8). Dans toutes les expérimentations, l'installation des femelles sur les plantes témoin varie peu au cours du temps avec un nombre de femelles qui ne descend pas au-dessous de 8 femelles par plante.

On observe sur la dynamique d'évolution du nombre de femelles des différences significatives dans le cas des associations avec l'œillet d'inde (R1 : $p < 0.0001$; R2 : $p < 0.0001$), le romarin (R1 : $p < 0.0001$; R2 : $p < 0.0001$) et le géranium (R1 : $p = 0.001$; R2 : $p < 0.0001$). Cependant, la vitesse de réponse diffère significativement d'une plante à une autre. En effet, l'effet du romarin a été immédiat dès son introduction dans l'enceinte climatique, provoquant une diminution significative et continue jusqu'à la fin de l'expérimentation aboutissant à une réduction de 57% (R1) et 48% (R2) de nombre de femelles par rapport au témoin (Figure 4.8c, d). L'effet de l'œillet d'inde a été moins marqué que celui observé avec le romarin mais son effet a été aussi rapide. Le nombre de femelles a atteint 6 femelles/plante à la fin de l'expérimentation (Figure 4.8a, b). L'effet du géranium était plus tardif, le nombre de femelles bien qu'en diminution régulière n'a différé significativement de celui du témoin qu'après 5 jours pour (R1 ; Figure 4.8i) et plus rapidement dans la deuxième expérimentation (dès J2 ; Figure 4.8j).

Aucun effet significatif de l'association avec des PdS n'a été observé dans le cas du basilic (R1 : $p = 0.28$; R2 : $p = 0.72$; Figure 4.8g, h) ni de la lavande (R1 : $p = 0.17$; R2 : $p = 0.55$; Figure 4.8e, f) sur le nombre de femelles.

L'effet du pré-conditionnement sur la survie des femelles a été aussi investigué en comparant le nombre de femelles installées sur du poivron pré-conditionné avec celui non pré-conditionné (témoin). Aucune différence significative n'a été observée pour le nombre de femelles installées sur du poivron pré-conditionné avec du romarin (R1 : $p = 0.07$; R2 : $p = 0.21$), lavande (R1 : $p = 0.69$; R2 : $p = 0.84$), basilic (R1 : $p = 0.05$; R2 : $p = 0.59$) et géranium (R1 : $p = 0.15$; R2 : $p = 0.55$) en comparaison avec le témoin (Figure 4.8). Seul le nombre de femelles installées sur des poivrons pré-conditionnés avec l'œillet d'inde a été particulièrement inférieur à celui correspondant aux femelles installées sur le témoin (R1 : $p = 0.002$; R2 : $p = 0.02$). Le pré-conditionnement a engendré des différences significatives à partir du 4^{ième} jour (J4) dans les deux expérimentations (Figure 4.8a, b).



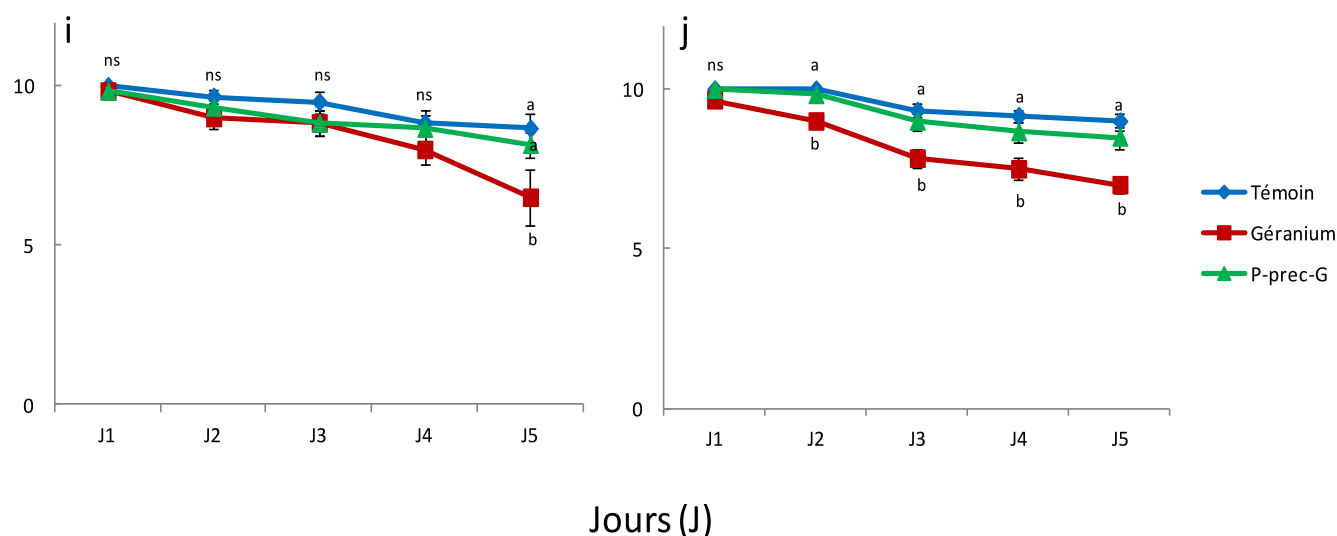
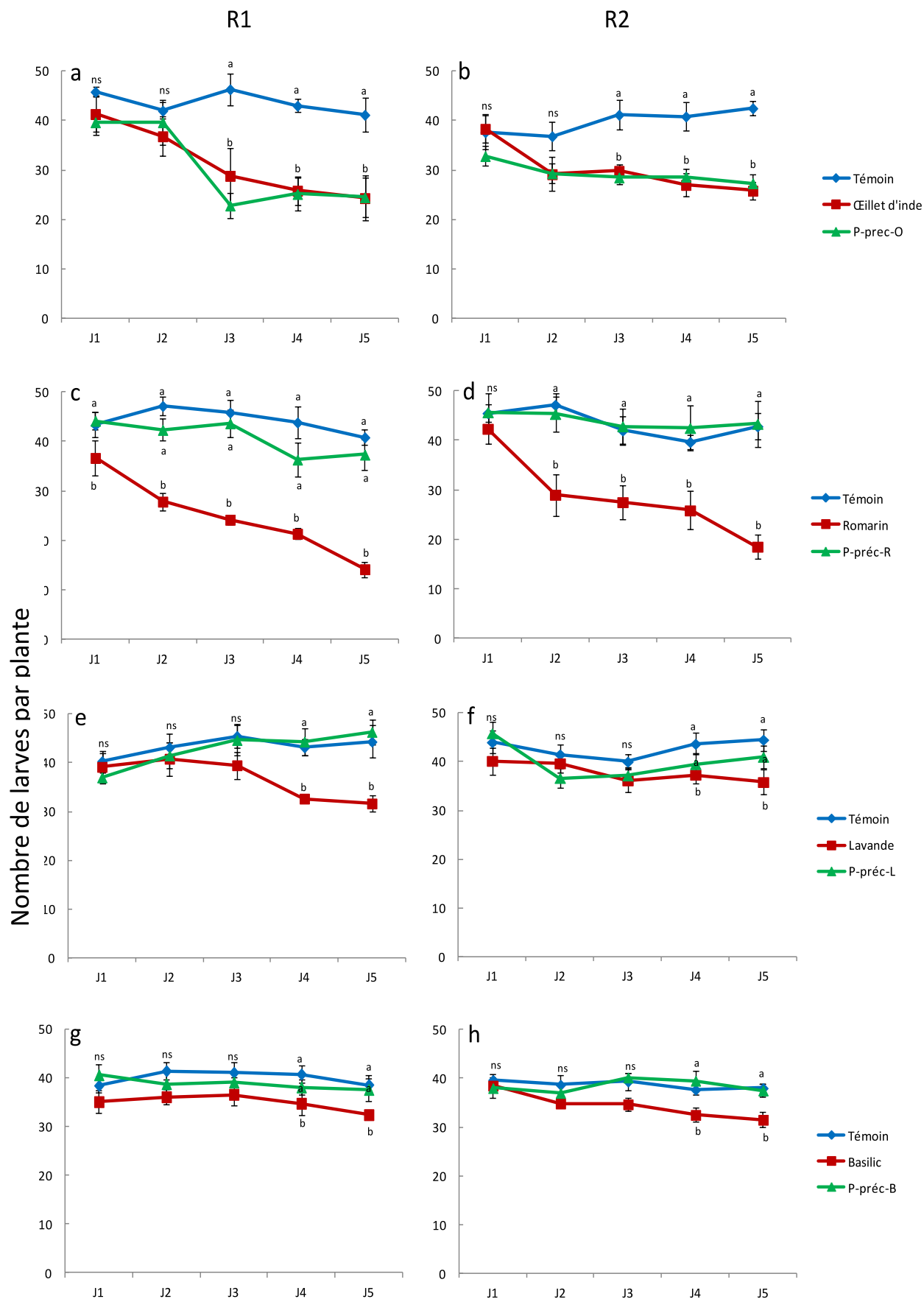


Figure 4.8 : Suivi du nombre de femelles (*Myzus persicae*) (moyenne $\pm$ SE) installées sur les plantes de poivron témoin (en bleu), des plantes de poivron associées avec une plante de service (en rouge), ou des plantes de poivron pré-conditionnées (en vert) sur une période de 5 jours. R1: expérimentation 1, R2: expérimentation 2. Le nombre initial de femelles dans chaque situation expérimentale était de 60 (10 femelles par poivron, avec $n = 6$ plantes de poivron). Les femelles ont été déposées sur les plantes de poivrons à J0. Les différences statistiques ont été évaluées entre le témoin et les poivrons pré-conditionnés ou entre le témoin et les poivrons associés avec la plante de service à l'aide d'une analyse de la variance (ANOVA) à mesures répétées (repeated analysis of variance procedure GLM, réalisée avec le logiciel SAS). P: poivron, préc: pré-conditionné, O: œillet d'inde, R: romarin, L: lavande, B: basilic, G: géranium ; Ns : non significatif ; a, b : classes de signification. Le seuil de signification a été fixé à $\alpha < 0,05$.

 Impact des PdS sur le nombre de larves pondues :

Quelle que soit la plante de service utilisée, le nombre moyen de larves pondues par jour durant 5 jours est significativement inférieur à celui du témoin et diffère en fonction de la plante de service utilisée (Figure 4.9). La présence du romarin influence rapidement et significativement ($p < 0.0001$; R1 et R2) la ponte des larves. La différence a commencé dès le premier jour (J1) pour (R1 ; Figure 4.9c) et le deuxième jour (J2) pour (R2 ; Figure 4.9d) jusqu'à la fin de l'expérimentation pour les deux expérimentations. Le nombre de larves pondues atteint moins de 20 larves/plante en comparaison avec le témoin où le nombre de larves pondues dépasse 40 larves/plante. L'effet de l'œillet d'inde est remarquable dès le 3^{ème} jour (J3), le nombre de larves pondues par plante est significativement inférieur à celui du témoin ($p < 0.0001$ pour R1 et R2 ; Figure 4.9a, b). La présence de lavande, basilic ou de géranium influence aussi significativement le nombre de larves pondues ([R1 : $p = 0.0001$; R2 : $p = 0.001$; Figure 4.9e, f], [R1 : $p < 0.0001$; R2 : $p < 0.0001$; Figure 4.9g, h], [R1 : $p = 0.002$; R2 : $p < 0.000$; Figure 4.9i, j], respectivement) même si celui-ci ne varie pas significativement durant les 3 premiers jours et devient significatif en fin d'expérimentation (géranium : R1 signification juste à la date 5 : Figure 4.9i).

Aucune différence significative n'est observée sur le nombre de larves pondues sur du poivron pré-conditionné avec le romarin (R1 : $p = 0.06$; R2 : $p = 0.8$; Figure 4.9c, d), la lavande (R1 : $p = 0.7$; R2 : $p = 0.9$; Figure 4.9e, f), le basilic (R1 : $p = 0.03$; R2 : $p = 0.8$; Figure 4.9g, h) et le géranium (R1 : $p = 0.11$; R2 : $p = 0.06$; Figure 4.9i, j) en comparaison avec le témoin. Cependant, dans le cas du poivron pré-conditionné avec l'œillet d'inde, le nombre de larves pondues est significativement inférieur à celui du témoin ($p < 0.0001$ pour R1 et R2 ; Figure 4.9a, b). La différence significative a été observée à partir du 3^{ème} jour (J3) dans les deux expérimentations.



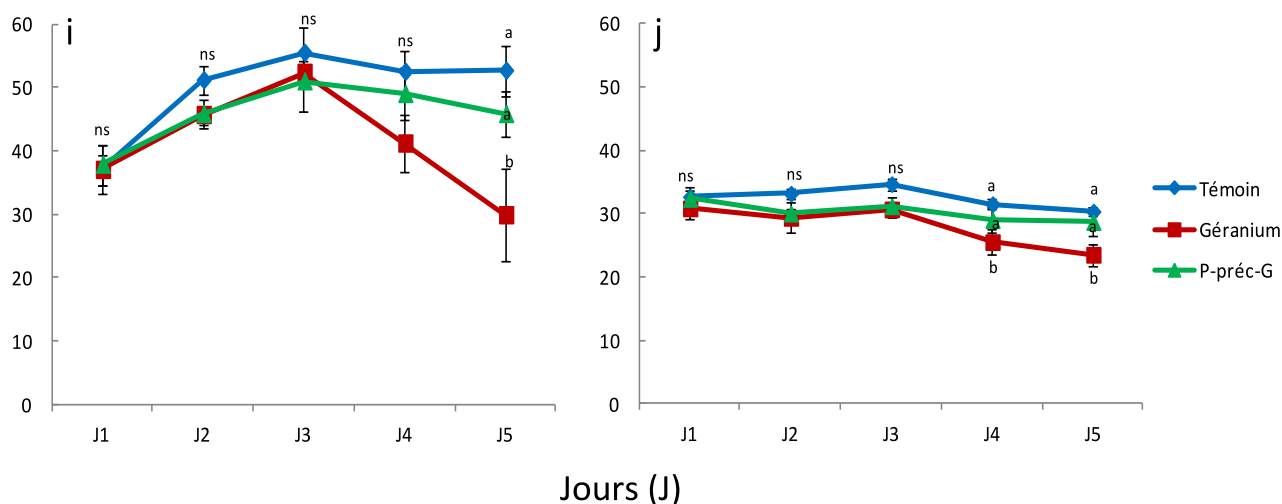


Figure 4.9 : Nombre de larves pondues (moyenne $\pm$ SE) sur les plantes de poivron témoin (en bleu) ou des plantes de poivron associées avec une plante de service (en rouge), ou des plantes de poivron pré-conditionnées avec une plante de service (en vert) sur une période de 5 jours. R1: expérimentation 1, R2: expérimentation 2. Les différences statistiques ont été évaluées entre le témoin et les poivrons pré-conditionnées ou entre le témoin et les poivrons associés avec la plante de service à l'aide d'une analyse de la variance (ANOVA) à mesures répétées. P: poivron, préc: pré-conditionné, O: œillet d'Inde, R: romarin, L: lavande, B: basilic, G: géranium ; Ns : non significatif ; a, b : classes de signification. Le seuil de signification a été fixé à $\alpha < 0,05$.

3.4. Analyse des COV

Les analyses biochimiques des COV émis par les plantes dans les 3 enceintes climatiques de chaque expérimentation sont présentées dans le tableau 4.2. Les composés volatils ont été provisoirement identifiés par spectrométrie de masse et par comparaison des indices de masse avec ceux trouvés dans la bibliothèque de spectres de masse NIST (NIST 05). Les volatils identifiés appartiennent à des terpènes, des terpenoides de des phénols. Seules les différences de composition ont été reportées dans le tableau. Les résultats montrent une différence qualitative entre les différents traitements de chaque expérimentation. En général, on a détecté plus de composés dans l'enceinte contenant les plantes de service, un nombre intermédiaire de composés dans l'enceinte contenant les poivrons pré-conditionnés et le nombre le plus faible dans l'enceinte contenant les poivrons témoin. La plupart des volatils présents dans l'enceinte contenant les plantes pré-conditionnées font partie des volatils détectés dans l'enceinte où se trouvent les plantes de service mais en concentrations différentes (Tableau 4.3).

Tableau 4.2 : Composés volatils apparus sur le poivron pré-conditionné et non présents sur un poivron témoin comparés aux composés volatils présents dans la plante de service utilisée pour réaliser le pré-conditionnement. Les résultats ont été confirmés sur deux expérimentations indépendantes.

Plante de service (PdS)	Composés volatils	Poivron associé avec PdS	Poivron pré-conditionné	Poivron témoin
Œillet d'Inde	2-Methyl-octanol Benzothiazole Géranyl acetone	X X X	X X X	— — —
Romarin	α -pinène Myrcène 1,8 cinéole γ -terpinène Terpinolène Linalol Terpinène-4-ol Verbénone Bornyl acétate Méthyleugénol	X X X X X X X X X X	X — X — X — — — X —	— — — — — — — — Tr —
Lavande	1,8 cinéole Ocimène Linalol Bornéol Terpinène-4-ol Linalyl acétate Lavandulyl acétate Bergamotène β -farnésène	X X X X X X X X X	X X X — X — — X —	— — — — — — — — —
Basilic	1,8 cinéole Linalol Méthyleugénol α -bergamotène Eugenol Méthyl isoeugénol	X X X X X X	X X — X — —	— — — — — —
Géranium	β -phellandrène α -pinène Ocimène	X X X	X X —	— — —

(X) : présence ; (—) : absence ; Tr : traces

Tableau 4.3 : Aires des COV obtenues lors de la caractérisation des différents COV prélevés dans l'enceinte contenant le poivron + PdS et l'enceinte contenant le poivron pré-conditionné lors des deux expérimentations R1 et R2

Plante de service (PdS)	Composés volatils	(RT)	Aires des COV captés dans l'enceinte poivron + PdS (x 10 ⁷)		Aires des COV captés dans l'enceinte poivron pré-conditionné	
			R1	R2	R1	R2
Œillet d'Inde	2-Methyl-octanol	7.55	61	45	59	19
	Benzothiazole	9.61	48	55	77	101
	Géranyl acetone	13.91	1.4	9.4	1.9	6.9
Romarin	α -pinène	4.80	383	616	18	19
	Myrcène	5.48	92	152	0	0
	1,8 cinéole	6.13	345	597	11	22
	γ -terpinène	6.45	111	269	0	0
	Terpinolène	6.85	52	120	1.7	1.3
	Linalol	7.06	71	165	0	0
	Terpinène-4-ol	8.53	20	52	0	0
	Verbénone	9.13	198	535	0	0
	Bornyl acétate	10.44	168	42	25	12
	Méthyleugénol	12.95	25	56	0	0
Lavande	1,8 cinéole	6.07	45	64	7.5	8.3
	Ocimène	6.19	19.3	48	3.7	1.0
	Linalol	7.01	503	2217	10	5.5
	Bornéol	8.37	102	337	0	0
	Terpinène-4-ol	8.42	50	335	0.2	2
	Linalyl acétate	9.32	29	3.2	0	0
	Lavanduly acétate	10.19	9.5	25	0	0
	α -bergamotène	13.41	6.9	7	5.3	5.4
	β -farnésène	13.80	13.5	4.5	0	0
Basilic	1,8 cinéole	6.07	17	18.9	1.5	1.1
	Linalol	7.01	64	55	2.8	0.7
	Méthyleugénol	12.93	17.6	16.3	0	0
	α -bergamotène	13.41	17	16.7	2.2	1.8
	Eugenol	14.11	4.9	5.2	0	0
	Méthyl isoeugénol	15.12	7.6	8.3	0	0
Géranium	β -phellandréne	6.0	25	*	45	*
	α -pinène	4.72	3.5	*	3.0	*
	Ocimène	6.15	29	*	0	*

RT : temps de rétention

(*) : Le prélèvement a été rejeté à cause d'un problème technique

4. Discussion

Les expérimentations réalisées avaient pour objectif de comprendre les mécanismes susceptibles d'expliquer les effets de la présence d'une plante de service en association avec une plante hôte sur le comportement de *Myzus persicae*. Une première hypothèse testée impliquait un effet direct des COV émis par la plante de service sur le puceron, la seconde impliquait un effet de la PdS sur la plante hôte qui deviendrait moins favorable au développement des pucerons (Figure 4.10). Pour tester par quel mécanisme les PdS testées précédemment affectaient le comportement du puceron nous nous sommes placés en conditions de laboratoire dans une enceinte climatique afin de contrôler l'environnement et notamment la température qui affecte de façon notable l'émission des COV.

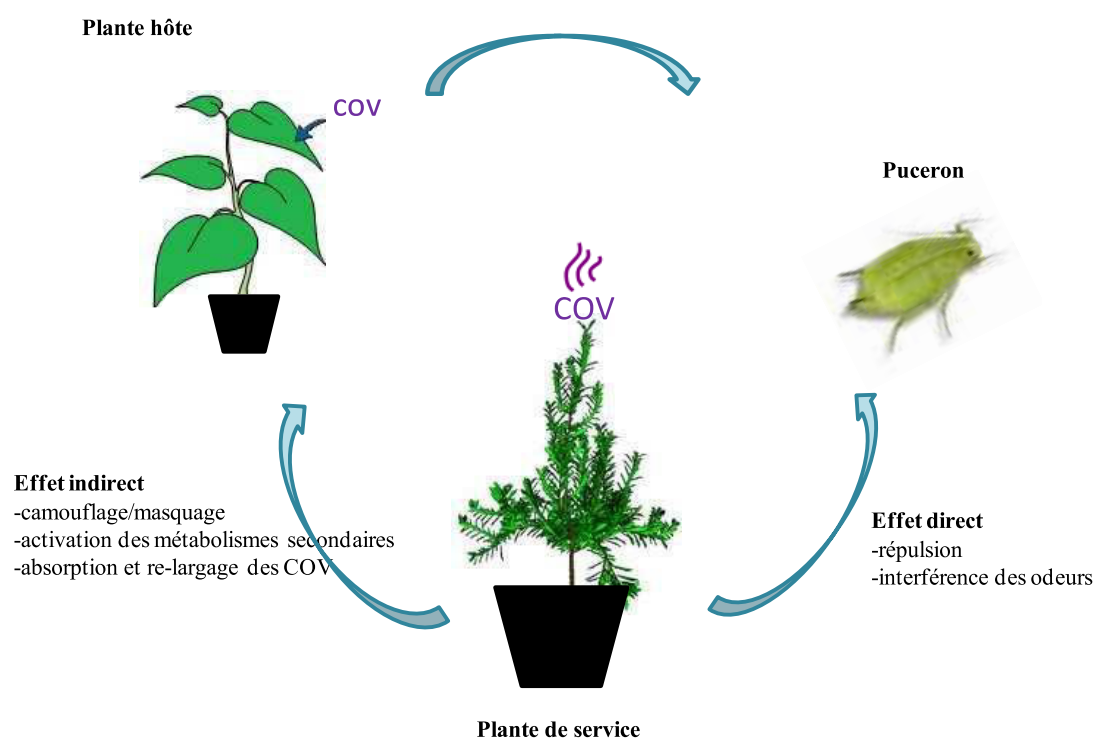


Figure 4.10 : Hypothèses d'un effet direct des COV émis par une plante de service sur le puceron ou indirect via des modifications de la plante hôte

Effet de la présence de la plante de service sur la performance et le comportement de choix de *Myzus persicae*

Nos résultats montrent que la présence de l'œillet d'inde, du romarin ou du géranium en association avec le poivron a affecté négativement la performance de *M. persicae* en réduisant significativement le nombre de femelles (Figure 4.4) et de larves pondues (Figure 4.5). Cette tendance conforte les résultats observés lors des premières expérimentations destinées à sélectionner des plantes de service limitant le développement des populations de pucerons en conditions contrôlées (chapitre III). L'œillet d'inde, le romarin et le géranium peuvent être donc considérées comme plantes de service efficaces contre l'installation de *Myzus persicae* sur sa plante hôte. Cependant, d'autres plantes comme le basilic ou la lavande ne réduisent pas le nombre de femelles mais ont un effet significatif sur le nombre de larves pondues avec une réduction du nombre de larves plus tardive qui ne devient significative qu'en fin d'expérimentation (Figure 4.9). Ces différences d'efficacité des PdS pourraient être liées simplement à des différences de composition ou de concentration de COV affectant plus ou moins les pucerons (Hori 1998) mais également à l'existence de différents mécanismes d'action des COV émis par les PdS. En effet on note que les cinétiques de réponses sont différentes et plus ou moins rapides selon les PdS testées qui pourraient être liées à des mécanismes de réponse différents selon les COV émis par les PdS (Halbert et al. 2009).

La comparaison des résultats obtenus lors des tests avec les olfactomètres et de ceux obtenus après pré-conditionnement des plantes vont nous permettre de tester si les PdS ont un effet direct sur le choix des pucerons ou indirect *via* des modifications de la plante hôte qui devient moins appréciée par le puceron.

Dans l'olfactomètre, le puceron peut s'orienter vers deux sources d'odeur et effectuer un choix. Il perçoit des volatils émis soit par sa plante hôte ou par la plante de service utilisée et peut donc soit de ne pas faire un choix (non répondant), soit faire un choix neutre (même répartition entre les deux sources d'odeur) soit se diriger vers la source d'odeur qui l'attire le plus. Nous avons observé que le puceron n'est pas attiré par l'odeur de sa plante hôte, car il se répartit de façon équivalente entre le blanc et le poivron. Par conséquent le poivron ne modifie pas le comportement d'orientation de *M. persicae* et il est considéré comme neutre. Néanmoins, en présence de l'odeur de lavande, romarin, basilic, menthe poivrée, géranium et œillet d'inde en fleur, le puceron préfère sa plante hôte, ce qui suggère que ces PdS ont un effet répulsif vis à vis des pucerons. L'interférence des volatils émis par ces plantes a été démontré dans de nombreux systèmes. Par exemple, la présence de romarin a eu un effet répulsif vis-à-vis du puceron cendré du chou (*Brevicoryne brassicae*) en plein champ (Pavela

2006). Ses volatils se sont montrés anti appétants et jouent un rôle de réduction de l'oviposition (Bruce et al. 2005a; Gabrys et al. 2005). Nous avons constaté lors de ces expérimentations que l'odeur de la fleur d'œillet d'inde était répulsive alors que l'odeur des feuilles n'engendrait aucun effet lorsqu'elles étaient proposées en vis-à-vis du poivron. Ces résultats soulignent l'importance du stade phénologique des plantes sur leur rôle potentiel comme PdS en fonction de la composition de leurs différents organes et leur émission de COV. Le stade de développement et l'âge d'une plante influent sur sa capacité d'émettre les volatils (Loreto et Schnitzler 2010; Zhu et Park 2005).

Parmi les autres PdS testées, la sarriette et le thym peuvent être considérés comme PdS répulsives lorsqu'elles ont été testées par rapport au blanc, mais elles perdent cette propriété en présence du poivron. Cette différence pourrait être liée au masquage des odeurs par le poivron, comme cela a été montré en présence de la ciboulette dans les tests effectués par Amarawardana et al. (2007). La menthe poivrée a repoussé les femelles de *M. persicae* lorsqu'elle a été testée par rapport au blanc ou par rapport au poivron. Par contre elle n'a pas été retenue pour effectuer les tests sur les mécanismes car elle n'affectait pas la performance de *Myzus persicae* en enceintes climatiques (chapitre III). La ciboulette n'a engendré aucun effet sur la répartition des pucerons (à la fois dans le test versus blanc et versus poivron) et peut être donc considérée comme neutre. D'autres études avaient montré un effet significatif de la ciboulette (*Allium schoenoprasum*) sur le puceron vert de pêcher (*M. persicae*) (Amarawardana et al. 2007). L'absence de réponse de *Myzus persicae* pourrait être liée à des différences de perception selon les espèces de pucerons (Gabrys et al. 1997) ou à des mécanismes d'action différents de l'allélopathie aérienne tel que les interactions chimiques au niveau racinaire (l'allélopathie souterraine ; Farooq et al. 2011).

Le pré-conditionnement avec les plantes de service modifie l'aspect volatil du poivron

Les prélèvements de COV ont montré que le pré-conditionnement avait induit l'apparition de nouvelles molécules volatiles. Ainsi, l'air ambiant prélevé dans l'enceinte contenant les plantes de poivrons pré-conditionnées contient de nouvelles molécules volatiles non détectées dans l'enceinte témoin (poivron non pré-conditionné). Ces résultats sont en concordance avec ceux de (Glinwood et al. 2004) qui ont observé une modification du profil volatil de plantes d'orge (*Hordeum vulgare*) lorsque celles-ci étaient mises en présence des volatils émis par le chardon (*Cirsium* spp). De même Ninkovic et al. (2013) ont montré que les COV de plantes de pomme de terre (*Solanum tuberosum*) étaient modifiés lorsque ces plantes étaient en contact avec les volatils émis par des plantes d'oignon (*Allium cepa*). Ces études montrent

que les interactions plante-plante *via* les volatils peuvent avoir un effet sur le comportement du puceron et réduire leur nuisance. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer l'altération du profil du poivron *via* les substances volatiles chimiques. Premièrement, les volatils émis par les plantes de service peuvent être absorbés passivement par les plantes voisines et re-largués réduisant ainsi la présence des herbivores (Choh et al. 2004). La plupart des volatils identifiés dans les enceintes qui contiennent le poivron pré-conditionné font partie des volatils présents dans les enceintes contenant la plante de service testée. Il est possible que le poivron ait absorbé et re-largué les volatils émis par les plantes de service pendant le pré-conditionnement. Deuxièmement, en exposant le poivron aux volatils émis par les PdS, ces derniers ont pu adhérer à la surface foliaire du poivron et par suite ils peuvent soit camoufler le profil volatil de la plante hôte comme suggéré par (Amarawardana et al. 2007) ou repousser directement le puceron (Glinwood et al. 2004), ce qui interfère dans les deux cas avec le comportement d'acceptation de la plante hôte.

Enfin, il est possible que certains nouveaux volatils soient émis par le poivron lui-même. La perception des COV émis par les PdS pourrait activer l'émission de COV chez la plante réceptrice (Choh et al. 2004). Par ailleurs, on trouve que certains de ces volatils apparus après pré-conditionnement sont émis aussi par les plantes en cas d'attaques d'insectes en tant que signaux chimiques efficaces pour les éloigner. Par exemple, le β -ocimène est décrit comme un volatil induit après attaque des herbivores et un signal entre plantes (Arimura et al. 2000). Ce composé aurait par ailleurs un rôle d'activation de l'expression des gènes de défense (Farmer, 2001). L' α -pinène, un composé chimique volatil, a un impact négatif sur le comportement de puceron (Hori 1998). Cela a été vérifié dans des expérimentations en olfactométrie réalisées sur *M. persicae*. Selon Ninkovic et al. 2013, le changement du profil en réponse au pré-conditionnement indique que les volatils émis par les plantes émettrices induisent un changement physiologique au niveau des plantes réceptrices.

Effet du pré-conditionnement du poivron sur le comportement de choix de *Myzus persicae*

Les tests avec l'olfactomètre montrent que les pré-conditionnements avec le géranium ou le romarin n'ont pas modifié les COV émis par le poivron pré-conditionné qui reste neutre pour le puceron. Par contre les pré-conditionnements avec la lavande, l'œillet d'inde ou le géranium ont perturbé le comportement de choix des pucerons soit par rapport au blanc ou par rapport au poivron témoin. Il semble donc que ce pré-conditionnement et les changements de profil de COV observés puissent être perçus par les pucerons et orienter leur choix vers le blanc ou le poivron témoin. Les résultats obtenus sont cependant faiblement significatifs et ne se retrouvent pas à la fois vis-à-vis du blanc et du poivron témoin ce qui pose la question d'un effet transitoire ou du seuil de perception de ces modifications de COV par les pucerons. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer le peu d'effet du pré-conditionnement sur le test de choix des pucerons :

- si le pré-conditionnement a induit une modification au niveau de la surface foliaire. En effet selon Pickett et al. (1992), les substances volatiles émises en surface des plantes peuvent influencer le processus d'acceptation de la plante hôte par les pucerons.
- Ou si la plante a produit des signaux internes réduisant ainsi son attractivité aux pucerons. Dans les deux cas, le puceron doit être sur sa plante afin de percevoir ces changements.

Effet du pré-conditionnement du poivron sur les performances de *M. persicae*

Le pré-conditionnement a induit des modifications significatives se traduisant par une altération du profil de COV des poivrons après l'exposition aux volatils émis par la lavande, le romarin, l'œillet d'inde ou le basilic. De même le pré-conditionnement a légèrement modifié le test de choix des pucerons en présence de géranium, d'œillet d'inde, ou de lavande. Ces modifications ont été observées juste après la fin du pré-conditionnement et peuvent ne pas perdurer et être sans conséquences sur les performances du puceron. Pour mettre en évidence des relations d'allélopathie aérienne entre les PdS et les plantes hôte, nous avons comparé le comportement de *M. persicae* lorsqu'il était déposé sur des plantes de poivrons pré-conditionnées ou sur des plantes de poivrons cultivées seules ou en présence de plante de service. Les essais en enceintes climatiques ont montré que le pré-conditionnement du poivron avec les plantes de service n'a eu aucun effet sur la performance de *Myzus persicae* lors des tests avec le romarin, la lavande, le basilic, le géranium sauf dans le cas de l'œillet d'Inde où le nombre de femelles et de larves pondues étaient nettement inférieurs à ceux du poivron non pré-conditionné. L'absence d'effet des plantes pré-conditionnées sur les pucerons

laisse supposer que le romarin, le géranium, la lavande et le basilic ont un effet direct sur le puceron. Dans ces conditions, le pré-conditionnement a affecté le profil chimique du poivron mais pas le comportement de *M. persicae*, ce qui suggère que la durée d'exposition, le bouquet odorant ou les quantités de composés volatils diffusés par les plantes de service sont insuffisants pour affecter significativement le profil du poivron et affecter par la suite le comportement des pucerons. En effet, le mélange et le ratio de COV sont importants pour l'olfaction chez les insectes (Bruce et al. 2005b). Par ailleurs, Shiojiri et al. (2012) ont montré que l'exposition des plantes d'*Arabidopsis* aux volatils émis par des plantes endommagées a activé la synthèse des composés de défense cependant la concentration nécessaire des volatils pour induire cette réponse n'est pas connue. Les travaux pour caractériser l'émission de COV après un stress abiotique ont été dans la plupart des cas qualitatifs (Niinemets et al. 2013). Dahlin et Ninkovic (2013) ont montré que l'exposition de plantes d'orge aux volatils d'autres plantes affecte le taux moyen de croissance relative (MRGR) du puceron des céréales (*Rhopalosiphum padi*) et pas son développement ou sa fécondité.

Cette étude originale a mis en évidence le rôle des volatils dans la communication entre plantes et en particulier dans le cas des interactions entre poivron et œillet d'Inde. Elle confirme des résultats trouvés par Ninkovic et al. (2013) qui ont mis en évidence des effets d'allélobiose entre deux plantes d'espèces différentes et non endommagées.

Les plantes émettent des composés chimiques informatifs pour les plantes voisines. Ils présentent un stimulus générant des réponses de défenses et modulant la stratégie de développement des plantes réceptrices (Heil 2010; Ninkovic et al. 2006). Cependant leur rôle est lié à leur nature particulière et à leur distribution limitée. La perception des COV par les plantes peut modifier l'expression des gènes de défense (Arimura et al. 2000), la composition de la plante réceptrice (Glinwood et al. 2004) comme l'activation de l'émission de COV (Choh et al, 2004), la synthèse des composés phénoliques (Tscharntke et al. 2001), et l'induction de la synthèse des inhibiteurs de protéinase (Farmer et Ryan 1990). Une autre catégorie de défenses des plantes regroupe celles qui émettent des substances volatiles et se protègent indirectement en renforçant la probabilité d'attirer les ennemis naturels du ravageur (De Vos et Jander 2010; Glinwood 2010; Glinwood et al. 2011; Jarmo 2004).

Nos résultats montrent que l'exposition du poivron aux volatils émis par l'œillet d'Inde peut induire un changement indirect sur le poivron qui devient une hôte inappropriée (moins appréciée) pour le développement d'une population de puceron ce qui peut expliquer la réduction significative du nombre de femelles et de larves pondues.

Les expérimentations réalisées dans ce chapitre ont permis de mieux comprendre les interactions entre plante de service et poivron (plante hôte) sur la performance et le comportement d'orientation de *Myzus persicae*. Elles ont mis en évidence le rôle essentiel des COV dans les interactions entre poivron, PdS et puceron.

Les paramètres de développement et de reproduction des femelles de *Myzus persicae* sont fortement influencés par la présence des PdS. Cette influence est marquée par une activité répulsive de certaines PdS comme le romarin, le géranium, ou une action anti-appétante de la plante hôte dans le cas du pré-conditionnement avec l'œillet d'inde. Les constatations acquises lors de ce chapitre illustrent la complexité des interactions entre plantes ainsi que les relations plantes-insectes. Ces résultats ne peuvent être confrontés à d'autres données car on trouve un nombre très limité de travaux portant sur ce genre d'interactions. Cependant, les mécanismes impliqués semblent dépendre de l'identité de la plante de service utilisée. Les interactions entre les plantes sont instables et pourrait avoir différentes conséquences sur les interactions plante-insecte (Dahlin et Ninkovic 2013). Ainsi, les mécanismes observés dans un système particulier ne sont pas nécessairement applicables pour un autre (Barbosa et al. 2009).

Il serait intéressant d'effectuer des analyses biochimiques complémentaires sur les feuilles de poivrons pré-conditionnés afin de déterminer si le pré-conditionnement a également induit l'accumulation de composés de défense. Une durée de pré-conditionnement plus longue pourrait être testée afin de mieux comprendre les interactions et les effets possibles qui pourraient être engendrés sur plusieurs générations de puceron. Les conditions de laboratoire appliquées lors de ces tests ont permis de mettre en évidence des mécanismes d'interaction entre plantes de service et plante hôte et entre PdS et pucerons, l'étape suivante consistera à vérifier si dans des conditions moins confinées les plantes de services testées ont toujours un effet sur le comportement de choix et les performances des pucerons.

Références bibliographiques

- Amarawardana L, Bandara P, Kumar V, Pettersson J, Ninkovic V, 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, 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
- Arimura G-i, Ozawa R, Shimoda T, Nishioka T, Boland W, Takabayashi J (2000) Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature* 406:512-515
- Baldwin IT, Schultz JC (1983) Rapid changes in tree leaf chemistry induced by damage: evidence for communication between plants. *Science, USA* 221:277-279
- Barbosa P, Hines J, Kaplan I, Martinson H, Szczepaniec A, Szendrei Z (2009) Associational resistance and associational susceptibility: having right or wrong neighbors. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40:1-20
- Bruce TJA et al. (2005a) Response of economically important aphids to components of *Hemizygia petiolata* essential oil. *Pest Management Science* 61:1115-1121
- Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock CM (2005b) Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science* 10:269-274
- Choh Y, Shimoda T, Ozawa R, Dicke M, Takabayashi J (2004) Exposure of Lima Bean Leaves to Volatiles from Herbivore-Induced Conspecific Plants Results in Emission of Carnivore Attractants: Active or Passive Process? *Journal of Chemical Ecology* 30:1305-1317
- Dahlin I, Ninkovic V (2013) Aphid performance and population development on their host plants is affected by weed–crop interactions. *Journal of Applied Ecology* 50:1281-1288
- Dancewicz K, Gabry B (2008) Effect of extracts of garlic (*Allium sativum* L.), wormwood (*Artemisia absinthium* L.) and tansy (*Tanaceum vulgare* L.) on the behaviour of the peach potato aphid *Myzus persicae* (Sulz.) during the settling on plants.
- De Vos M, Jander G (2010) Volatile communication in plant–aphid interactions. *Current Opinion in Plant Biology* 13:366-371

- Dethier V, Browne BL (1960) The Designation of Chemicals in Terms of the Responses They Elicit from Insects1. *Journal of Economic Entomology* 53:134-136
- Dicke M, Agrawal AA, Bruin J (2003a) Plants talk, but are they deaf? *Trends in Plant Science* 8:403-405
- Dicke M, van Poecke RMP, de Boer JG (2003b) Inducible indirect defence of plants: from mechanisms to ecological functions. *Basic and Applied Ecology* 4:27-42
- Farmer EE (2001) Surface-to-air signals. *Nature* 411:854-856
- Farmer EE, Ryan CA (1990) Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87:7713
- Farooq M, Jabran K, Cheema ZA, Wahid A, Siddique KHM (2011) The role of allelopathy in agricultural pest management. *Pest Management Science* 67:493-506
- Feeny P (1976) Plant apparency and chemical defense. *Biochemical interaction between plants and insects*. Springer, pp 1-40
- Gabrys B, Dancewicz K, Halarewicz-Pacan A, Janusz E (2005) Effect of natural monoterpenes on the behaviour of the peach potato aphid, *Myzus persicae* (Sulz.). *Bulletin OILB/SROP* 28:29-34
- Gabrys B, Tjallingii W, Van Beek T (1997) Analysis of EPG recorded probing by cabbage aphid on host plant parts with different glucosinolate contents. *Journal of Chemical Ecology* 23:1661-1673
- Glinwood R (2010) Volatiles chemical interaction between undamaged plants : effects at higher trophics levels. in: *Plant communication from an ecological perspective*. eds Baluška, František Ninkovic, Velemir. Springer Heidelberg Dordrecht London, New York
- Glinwood R, Ninkovic V, Pettersson J (2011) Chemical interaction between undamaged plants – Effects on herbivores and natural enemies. *Phytochemistry* 72:1683-1689
- Glinwood R, Ninkovic V, Pettersson J, Ahmed E (2004) Barley exposed to aerial allelopathy from thistles (*Cirsium* spp.) becomes less acceptable to aphids. *Ecological Entomology* 29:188-195
- Glinwood R, Pettersson J, Ahmed E, Ninkovic V, Birkett M, Pickett J (2003) Change in Acceptability of Barley Plants to Aphids After Exposure to Allelochemicals from Couch-Grass (*Elytrigia repens*). *Journal of Chemical Ecology* 29:261-274
- Halbert SE, Corsini D, Wiebe M, Vaughn SF (2009) Plant-derived compounds and extracts with potential as aphid repellents. *Annals of Applied Biology* 154:303-307

- Heil M (2010) Within-plant signalling by volatiles triggers systemic defences. Plant Communication from an Ecological Perspective. Springer, pp 99-112
- Heil M, Silva Bueno JC (2007) Within-plant signaling by volatiles leads to induction and priming of an indirect plant defense in nature. Proceedings of the National Academy of Sciences 104:5467
- Hori M (1998) Repellency of Rosemary Oil Against *Myzus persicae*; in a Laboratory and in a Screenhouse. Journal of Chemical Ecology 24:1425-1432
- Jarmo KH (2004) Multiple functions of inducible plant volatiles. Trends in Plant Science 9:529-533
- Karban R, Maron J (2002) The fitness consequences of interspecific eavesdropping between plants. Ecology 83:1209-1213
- Kost C, Heil M (2006) Herbivore-induced plant volatiles induce an indirect defence in neighbouring plants. Journal of Ecology 94:619-628
- Lai R, You M, Lotz LAP, Vasseur L (2011) Response of green peach aphids and other arthropods to garlic intercropped with tobacco. Agronomy Journal 103:856-863
- Loreto F, Schnitzler J-P (2010) Abiotic stresses and induced BVOCs. Trends in Plant Science 15:154-166
- Masatoshi H (1999) Role of host plant odors in the host finding behaviors of aphids. Applied entomology and zoology 34:293-298
- Niinemets Ü, Hauff K, Bertin N, Tenhunen JD, Steinbrecher R, Seufert G (2002) Monoterpene emissions in relation to foliar photosynthetic and structural variables in Mediterranean evergreen Quercus species. New Phytologist 153:243-256
- Niinemets Ü, Kännaste A, Copolovici L (2013) Quantitative patterns between plant volatile emissions induced by biotic stresses and the degree of damage. Frontiers in Plant Science 4
- Ninkovic V (2003) Volatile communication between barley plants affects biomass allocation. Journal of experimental botany 54:1931
- Ninkovic V (2010) Volatile Interaction Between Undamaged Plants: A Short Cut to Coexistence: Plant Communication from an Ecological Perspective. In: Baluška F, Ninkovic V (eds). Springer Berlin Heidelberg, pp 75-86
- Ninkovic V, Dahlin I, Vucetic A, Petrovic-Obradovic O, Glinwood R, Webster B (2013) Volatile Exchange between Undamaged Plants - a New Mechanism Affecting Insect Orientation in Intercropping. Plos One 8

- Ninkovic v, Glinwood R, J P (2007) Communication between undamaged plants by volatiles: the role of allelobiosis in : Communication in Plants: Neuronal Aspects of Plant Life. eds: Frantisek Baluska, Stefano Mancuso, Dieter Volkmann. Springer Berlin Heidelberg New york 435:421-432
- Ninkovic V, Glinwood R, Pettersson J (2006) Communication Between Undamaged Plants by Volatiles: the Role of Allelobiosis. In: Baluška F, Mancuso S, Volkmann D (eds) Communication in Plants. Springer Berlin Heidelberg, pp 421-434
- Ninkovic V, Olsson U, Pettersson J (2002) Mixing barley cultivars affects aphid host plant acceptance in field experiments. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 102:177-182
- Nottingham S et al. (1991) Behavioral and electrophysiological responses of Aphids to host and nonhost plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 17:1231-1242
- Party V, Hanot C, Said I, Rochat D, Renou M (2009) Plant terpenes affect intensity and temporal parameters of pheromone detection in a moth. *Chemical senses* 34:763-774
- Pavela R (2006) Insecticidal activity of essential oils against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 9:99-106
- Pettersson J, Ninkovic V, Glinwood R (2003) Plant activation of barley by intercropped conspecifics and weeds: allelobiosis The BCPC International Congress: Crop Science and Technology, Volumes 1 and 2. Proceedings of an international congress held at the SECC, Glasgow, Scotland, UK, 10-12 November 2003. British Crop Protection Council, pp 1135-1144
- Pickett J, Wadhams L, Woodcock C, Hardie J (1992) The chemical ecology of aphids. *Annual review of entomology* 37:67-90
- Riba G, Silvy C (1989) Combattre les ravageurs des cultures: enjeux et perspectives. Editions Quae
- Schröder R, Hilker M (2008) The relevance of background odor in resource location by insects: A behavioral approach. *BioScience* 58:308-316
- Shiojiri K, Ozawa R, Matsui K, Sabelis MW, Takabayashi J (2012) Intermittent exposure to traces of green leaf volatiles triggers a plant response. *Sci. Rep.* 2
- Tang GB et al. (2013) Repellent and attractive effects of herbs on insects in pear orchards intercropped with aromatic plants. *Agroforestry systems*:1-13
- Tscharntke T, Thiessen S, Dolch R, Boland W (2001) Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*. *Biochemical Systematics and Ecology* 29:1025-1047

- Webster B et al. (2008) Identification of Volatile Compounds Used in Host Location by the Black Bean Aphid, *Aphis faba*. Journal of Chemical Ecology 34:1153-1161
- Wells C, Bertsch W, Perich M (1993) Insecticidal volatiles from the marigold plant (genustagetes). Effect of species and sample manipulation. Chromatographia 35:209-215
- Zhu J, Park K-C (2005) Methyl salicylate, a soybean aphid-induced plant volatile attractive to the predator *Coccinella septempunctata*. Journal of Chemical Ecology 31:1733-1746

***Chapitre V : Etude de l'effet de la présence
d'une plante de service sur l'installation des
pucerons sur leur plante hôte sous tunnels***

Chapitre V : Etude de l'effet de la présence d'une plante de service sur l'installation des pucerons sur leur plante hôte sous tunnels

Présentation de l'étude

L'introduction des plantes de service au sein des cultures pour manipuler le comportement de choix de la plante hôte est un sujet d'étude en plein essor avec un objectif ambitieux. Plusieurs essais d'association de ces plantes ont déjà permis d'enregistrer des résultats intéressants contre de très nombreux insectes (Mutiga et al. 2010; Parker et al. 2013) notamment les pucerons. Cependant, l'efficacité d'une plante de service présente des limites. En effet, se baser sur l'efficacité d'une plante de service dans un milieu clos où les COV peuvent être plus concentrés ne garantit pas l'efficacité de cette plante en condition de culture. Nous savons que dans leur environnement naturel, les COV émis par les plantes peuvent être transportés par le vent et leur concentration devient de moins en moins importante plus on s'éloigne de la plante. En outre, une plante de service peut être efficace contre un ravageur *via* les COV dans des conditions contrôlées mais peut n'avoir aucun effet en conditions naturelles ou semi naturelles en particulier si les COV sont responsables d'autres interactions défavorables avec d'autres organismes.

Après une première étape d'identification des plantes de service ayant un effet sur les pucerons en conditions contrôlées, il nous a semblé légitime de nous interroger sur leur efficacité dans un milieu moins confiné. L'efficacité d'une plante de service peut dépendre en effet de sa densité et de sa distance par rapport à la plante hôte.

Les essais décrits dans ce chapitre ont un double objectif. Premièrement, se mettre dans une situation plus proche des conditions de culture horticole afin de vérifier l'efficacité de certaines plantes de service. Cependant pour limiter l'interaction avec d'autres facteurs nous avons placé les pucerons sous filet anti-insecte pour éviter la disparition de femelles liée à des prédateurs et faciliter leur localisation dans la serre et les comptages. Il n'est évidemment pas possible de tester l'ensemble des plantes de service que nous avons testé précédemment. Nous avons donc choisi de nous focaliser sur l'effet de trois plantes de service dont le romarin, la lavande et le basilic en association avec le poivron (infesté artificiellement) sur l'installation

d'une population de pucerons sous tunnels. La survie des femelles ainsi que leur potentiel reproducteur ont été étudiés. Des prélèvements de COV à l'aide du système dynamique ont été effectués. Après avoir confirmé le rôle de ces PdS sous tunnel nous avons choisi celle qui affectait le plus le comportement du puceron (à savoir le romarin) afin d'étudier l'importance de la densité de plantes et de la distance à la plante hôte sur l'efficacité d'une plante de service.

Ce travail est présenté sous la forme d'un article en préparation pour Journal of Animal Ecology.

Résumé

Les études en plein champ et en laboratoire indiquent que les plantes de service pourraient être associées avec des cultures dans des stratégies de lutte contre les insectes. Ces plantes peuvent affecter l'installation des insectes grâce à leur potentiel d'émission de composés organiques volatils (COV). Leur efficacité dépend de l'espèce choisie, mais aussi de leur agencement dans le système de culture. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de l'association (compagnonnage) de plantes de service (romarin, lavande ou basilic) sur l'installation de *Myzus persicae* sur des plantes de poivron cultivées sous tunnels. Deux dispositions de plantes de service ont été évaluées : les plantes de poivrons ont été placées à proximité d'une ou deux plantes de service. Une autre expérience, utilisant le romarin, a été menée afin d'examiner le rayon d'action de cette plante de service sur l'installation des pucerons lorsqu'elle était placée à 0,5 ; 1,5 ou 2,5 m de la plante hôte. L'association du poivron et du romarin a entraîné une forte diminution du nombre de femelles et de larves indépendamment de la disposition (à proximité d'une ou deux plantes de service). Le nombre de femelles et de larves varie considérablement avec la distance. Le romarin était plus efficace à 0,5 m et son efficacité diminue à 1,5 pour devenir nulle à 2,5 m. Les résultats suggèrent qu'une plante de service peut être efficace en conditions de culture sous tunnels à condition qu'elle soit à proximité de la plante cible.

Mots clés : *Myzus persicae*, plante de service, association des plantes, composé volatil, distance, romarin, lavande, basilic

Title: Influence of neighboring companions plants on the settling of aphid population on pepper plants under greenhouse conditions.

Refka Ben Issa, Hélène Gautier, Laurent Gomez

INRA, UR1115 PSH, F-84000 Avignon, France

Address for correspondence; Dr Hélène Gautier; INRA, UR1115 PSH, F-84000 Avignon, France. Tel.: +33 4 3272 2345; Fax: +33 4 3272 2432. E-mail: helene.gautier@avignon.inra.fr

Abstract

Fields and laboratory studies indicate that companion plants may be grown with crop for pest management purpose. These plants may affect the settling of pests in their hosts due to their potential to emit volatile organic compounds (VOC). Their effectiveness depends on the species but also on their arrangement in the crop system. The aim of this study was to evaluate the effect of intercropping companion species (rosemary, lavender or basil) on the settling of *Myzus persicae* population on pepper plants under greenhouses conditions. Two dispositions of companion plant were evaluated: pepper plants were neighbored by one or two companion plants. A further experiment using rosemary was conducted to examine rosemary's scope of action on aphid settling when placed at three distances (0.5; 1.5; 2.5m) from the host. Intercropping of pepper with rosemary resulted in the lowest females and nymph number regardless of its disposition (neighbored by one or two companion plants). The number of settled females and nymphs varies significantly with distance. Rosemary was most effective at 0.5m and its effectiveness decreases at 1.5m to become null at 2.5m. The results suggest that a companion plant may be effective under greenhouse conditions provided that it is located near the target plant.

Key words : *Myzus persicae*, plante de service, compagnonnage, composé volatil, distance, romarin, lavande, basilic

1. Introduction

Using companion plants (CP) within crops refers to a method of intercropping at small scale (Cunningham 1998; Finch and Collier 2000) where the main crop can be protected against herbivores when they are nearby other plant species. One purpose for using CP was to reduce the use of pesticides. In many cases, the effectiveness of this approach in lowering pest damage levels has been related to the putative role of volatile organic compounds (VOC) released by companion plants (Basedow et al. 2006; Lai et al. 2011). For example, Tang et al. (2013) found that intercropping *Saturela hortensis* and *Centaurea cyanus* in pear orchards reduce the relative abundance of scarab beetles *Serica orientalis* and *Maladera verticalis* compared to the control treatment. Jankowska et al. (2009) demonstrated that associating white cabbage with French marigold (*Tagetes patula* nana) and Pot marigold (*Calendula officinalis*) significantly reduced the number of cabbage aphids, flea beetles (*Phyllotreta*) and diamondback moth (*Plutella xylostella*). Nottingham et al. (1991) revealed, from olfactometric tests, that savory (*Satureja hortensis*) and thyme (*Thymus vulgaris*) affect the attractiveness of *Aphis fabae* for its hosts. The common hypothesis used to explain such effect is that VOC emitted by CP have a negative effect on herbivores, acting as behavioural repellents, deterrents or *via* chemical alteration of host profile. However, these effects were mostly extrapolated from empirical experiments using companion plant extracts or essential oils (Halbert et al. 2009; Hori 1998; Pavela 2006) but scarcely using living plant. In addition under natural conditions, the presence of external and physical interactions, such as natural enemies (Adedipe and Park 2010; Landis et al. 2000) and root interactions (Collier et al. 2003; Glinwood et al. 2004), respectively, could distort the interpretation of results.

One of the insects which had been mostly studied for testing chemicals is the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera, Aphididae). It is a major pest of more than 40 families (Blackman and Eastop 2007). It is very dangerous either in greenhouses or fields crops due to its immense capacity of reproduction (Hori and Harada 1995; Radcliffe 1982), and its role in the transmission of more than 100 virus diseases worldwide (Hori 1998; Mowry 2005) leading to significant weakness of plant growth and economic losses.

To control aphids, studies have shown that manipulating the behaviour of aphids *via* VOC is effective (Chapman et al. 1981; Nottingham et al. 1991). In fact, olfactory cues have been considered as primordial for aphids to locate as well as to accept a host at a distance (Bruce et al. 2005b; Campbell et al. 1990; Chapman et al. 1981; Powell and Hardie 2000). Given that aphids respond to the odors of non host plant from over 1 m (Chapman et al, 1981), the

efficiency of a CP may depend on the distance at which it changes the local environment of a host plant (Frost et al. 2007). Moreover, colonization of a host plant by aphids may differ in terms of neighboring plant chemistry or density. However, the effective density or distance at which a neighboring plant may induce a change at host plant level is still unknown (Barbosa et al. 2009).

Once aphids have settled on their host plants, they begin a behavioral sequence to explore the adequacy of the selected plant. At this stage, perceptions of volatiles (Storer et al. 1996), leaves texture (Powell et al. 2006), the presence of stimulant or deterrent chemical compounds (Jordens Rottger 1979) and also gustatory cues during stylet penetration (Powell et al. 2006; Storer et al. 1996) are determinant to achieve their permanent settling.

In a previous study, we tested in growth chamber, the effect of thirteen CP on the settling of *M. persicae* on their hosts (Ben Issa et al, 2014). From our data, it appears that in controlled conditions and without any physical contact, VOC from CP can disturb the settling behaviour and affect the performance of *M. persicae*. However, as a consequence of enclosed environment, concentration of VOC may accumulate, and thus be more effective against aphids (Tomova et al. 2005). We addressed the following questions to determine i) if a plant remains effective in a semi confined environment (greenhouse) compared to its effectiveness in lab condition ii) and to estimate its scope of action in semi confined environment.

In the present study, three CP species (rosemary, basil and lavender), which have shown strong reduction on aphid performance in previous experiments, have been used to evaluate their efficiency in semi confined conditions. We choose to work under greenhouses condition and with potted plants in order to limit external and roots interactions. Our experiments were carried out involving three intercropping systems (pepper with basil, pepper with rosemary, and pepper with lavender). In each intercropping system we followed the aphid population settling on pepper plants, which were neighbored either by one or two CPs, versus monoculture of pepper. We measured the survival and the reproductive performance of females. In an attempt to find correlation between aphid performance and changes in aerial environment, sampling of the microenvironment surrounding pepper plants was done using a dynamic system and VOC were analyzed by GC-MS. In a second set of experiment, the effect of rosemary was evaluated at three different distances from the host plant to estimate its scope of action on aphids. The present results are discussed to evaluate the feasibility of using CP on horticultural systems as a mean to limit aphids settling.

2. Material and methods

2.1. Intercropping experiments

2.1.1. Plants

Three companion plant species were tested: rosemary (*Rosmarinus officinalis*), basil (*Ocimum basilicum*) and lavender (*Lavandula latifolia*). They were purchased from a commercial nursery (Avignon, France). Rosemary and lavender plants (3 years old, ≈ 50 cm tall) were flowering throughout the experiment. Basil (one year old, ≈ 30 cm tall) was at vegetative stage during the first experiment and at early flowering in the second. The host plant, Pepper (*Capsicum annuum* L. (Solanaceae), cv yellow wonder) was tested 6 weeks after sowing when it had developed 10-15 fully expanded leaves (≈ 30 cm tall). Pepper plants were grown in a separate greenhouse from the CPs in 4L pots containing a mixture of soil substrate (80%) and vermiculite (20%) at $20^{\circ}\text{C} \pm 5$ and 40-80% relative humidity under natural light. Plants were irrigated twice a week. They did not receive any fertilizer or pesticide.

2.1.2. Insects

Wingless *Myzus persicae* Adults were obtained from laboratory colonies. They were maintained on potted pepper plant in an insectary at 20°C and under a light regime of 16L: 8D. To obtain even aged population, female adults were put on pepper plants and removed after 24 hours. The offspring produced (aged 0-24h) was maintained 8 days on pepper plants, until they reached the adult moult and were ready to produce their first nymphs.

2.1.3. Experimental set up

Two experiments were conducted to compare CP effect on aphid behaviour: the first one from 20 June to 2 July and the second one from 12 to 24 July 2012 in Avignon (France), at INRA (National Institute for Agricultural Research). Experiments were done in 4 similar plastic greenhouses (10 $\times$ 8m) equipped with insect-proof gates. Soil was covered with green mesh to reduce reflected radiation and weed growth. To facilitate plant observation, plants were grown at 1m high on 3 tables (6.5 $\times$ 1m) per greenhouse spaced by 1m. Tables' legs were covered with glue to avoid the interference of walking insects or predators on plants mainly earwigs and spiders. During both experiments, air temperature and hygrometry were measured every minute in each greenhouse using Sensors (HD 9817T1, Delta OHM. ITALIA) placed in air ventilated shelter. Temperature measurements were averaged and stored every 30 min on a delta logger (Delta-T DL2e, Delta-T Devices Ltd, Cambridge, UK). Temperature and

humidity were similar between the 4 greenhouses and ranged from $20\pm 5^{\circ}\text{C}$, 90% rh at night up to $40\pm 5^{\circ}\text{C}$, 20% rh during the day. In each greenhouse a different treatment was conducted: (A): pepper + rosemary, (B): pepper + lavender, (C): pepper + basil and (D): pepper as control. Plant arrangement and density were similar in each greenhouse (Figure 5.1A) : it corresponded to 66 pepper plants (22 pepper plants per table) intercropped with 24 CP (8 CP par table) in greenhouses A, B, C and 90 pepper plants in greenhouse D. Plants were separated by 40 cm and distributed along 2 rows spaced by 60 cm. All plants were identically watered daily by an automatic drip irrigation system (180ml/plant) and fertilized with 2.5 - 5 - 2.5 (N:P:K)-Mgo-OE (liquoplant, 5ml/l). Six individual pepper plants per block placed in the middle of each table to limit any border effect were monitored. During these experiments, two types of CP disposition were compared (Figure 5.1B):

- One pepper plant neighbored only by one CP (1)
- One pepper plant neighbored on both sides by CP (2)
- In the control treatment, pepper plants were surrounded by pepper plant instead of CP

In order to prevent females escape, a plastic plant saucer (25cm diameter) filled with water was placed bellow each pot and each pot was elevated on a saucer to avoid water accumulation. To protect selected plants from flying insects like hoverflies, parasitic wasps, or also the occurrence of other aphid species, each plant was covered with a fine meshed net, sealed around the plastic plant saucer. Metal supports have been made, to inhibit the net from touching plants.

Experiment was done as follows. On day 1 (D1) all plants (pepper + CP) were brought from the nursery to the plastic greenhouses and arranged as described previously (Figure 5.1).

Aphids were also transferred to the greenhouses with its source plants and placed on a separate table for a 1 day acclimation period.

On day 2 (D2): early in the morning, 5 adult females were placed with a fine paintbrush on 18 plants (3*6 pots) growing a total of 90 (5*18) replicates (individuals of *M. persicae*) per greenhouse. The experiment was run for 15 days, during which 4 counting were carried out on these plants, at D4, D8, D11 and D15. At each date, the total number of female adults and nymphs (including all stages) were recorded in the morning (from 8h to 11h) on each selected plant to evaluate the survival and fecundity of females.

Counting hour was also noted and all greenhouses were followed simultaneously. Investigators spent approximately 3 to 7 minutes to count adults and nymphs on one plant depending on treatment and date of counting. Once the counting finished, nets were resettled and resealed. Counting was conducted up to D15 because it was impossible to make an

exhaustive counting beyond this date due to the exponential development of aphids' colony in the control treatment. The whole experiment was repeated 10 days later using new *M. persicae* adults and new pepper plants but the same CP species. The location of the control and treatments were changed between the 2 replicates to avoid any greenhouse effect. Measurements data and layout of plants were performed as previously described.

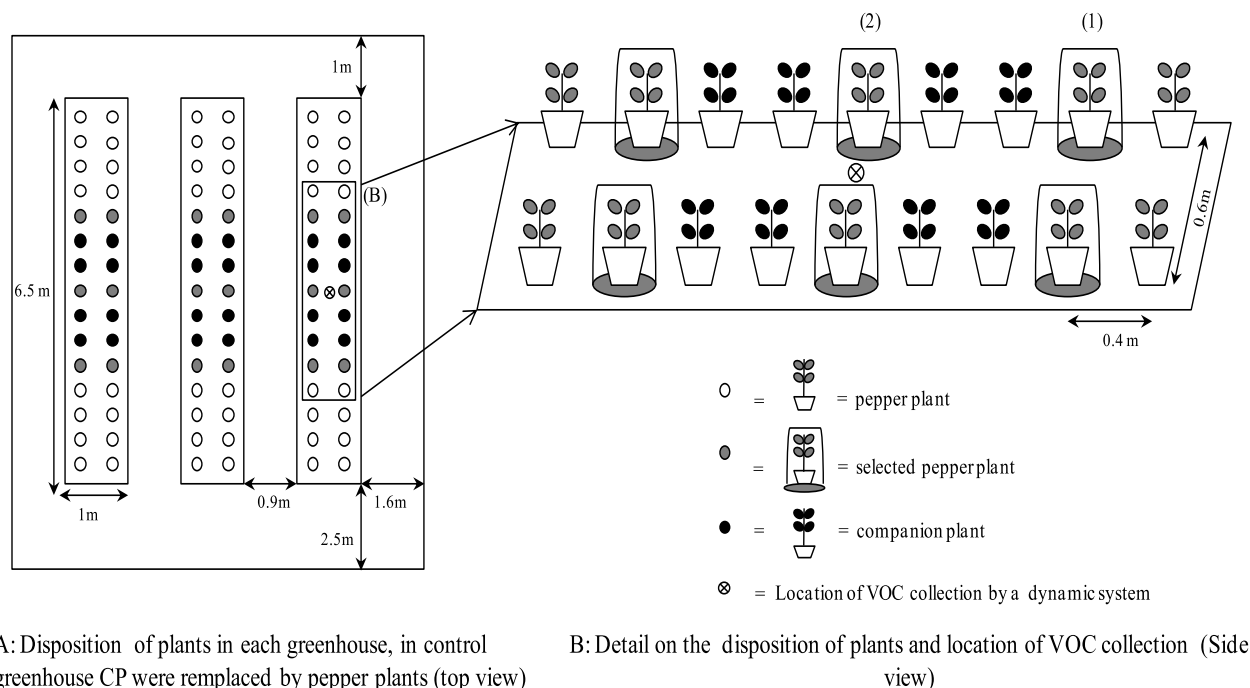


Figure 5.1: Layout of the greenhouse experiments. Each greenhouse includes three tables, in each table six pepper plants were selected to study aphid settling (grey circles ●). Selected plants were either neighbored by one CP (black circle ●) and a pepper plant (white circle ○) ie: disposition (1) or two CP (●) ie: disposition (2).

2.2.Distance experiment

Based on initial screening result (Chapter III), rosemary, the most promising intercrop, was selected for further greenhouse study to determine the limit above which a CP species did not disturb aphid development. The experiment was carried out from 8 to 25 October 2012 under the same greenhouses to test the effect of the distance on the efficiency of a CP species. Three greenhouses were arranged similarly where 24 rosemary plants were gathered on the north side of each greenhouse (Figure 5.2). 18 pepper plants per greenhouse were followed to compare aphid infestation depending on their distance of the rosemary setup. Six were located at 0.5m, six at 1.5m, and six at 2.5m from the strip to rosemary. Control greenhouse had only pepper. The same protocol of infestation has been used as described before. Aphid counting took place once a week. The number of adults and nymphs settled per pepper plant was recorded at D4; D11; D18 and differences between control and rosemary greenhouses were analyzed depending on the distance (18 replicates per each distance).

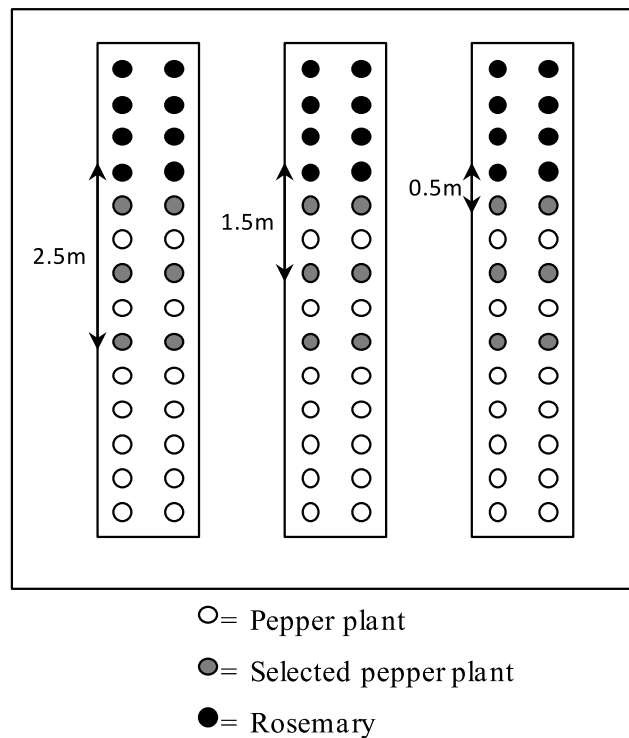


Figure 5.2: Layout of the distance experiments. 24 rosemary plants (black circle ●) were gathered on the north side of each greenhouse. 18 pepper plants per greenhouse (grey circles ●) were followed to compare aphid infestation depending on their distance to the rosemary setup. Six were located at 0.5m, six at 1.5m, and six at 2.5m from the strip of rosemary.

2.3. Volatile organic compounds (VOC) measurements

VOCs sampling was performed during experiment 2 in order to characterize the volatile profile of the ambient air surrounding pepper plants.

2.3.1. VOC collecting dynamic system

VOC in the vicinity of pepper plants infested with aphids were collected using a dynamic system described in figure 5.3. A Solid Phase Micro Extraction (SPME) method was used which involves passive adsorption of volatiles on the surface of a PDMS/ DVB 65µm fiber (Raguso, 2004).

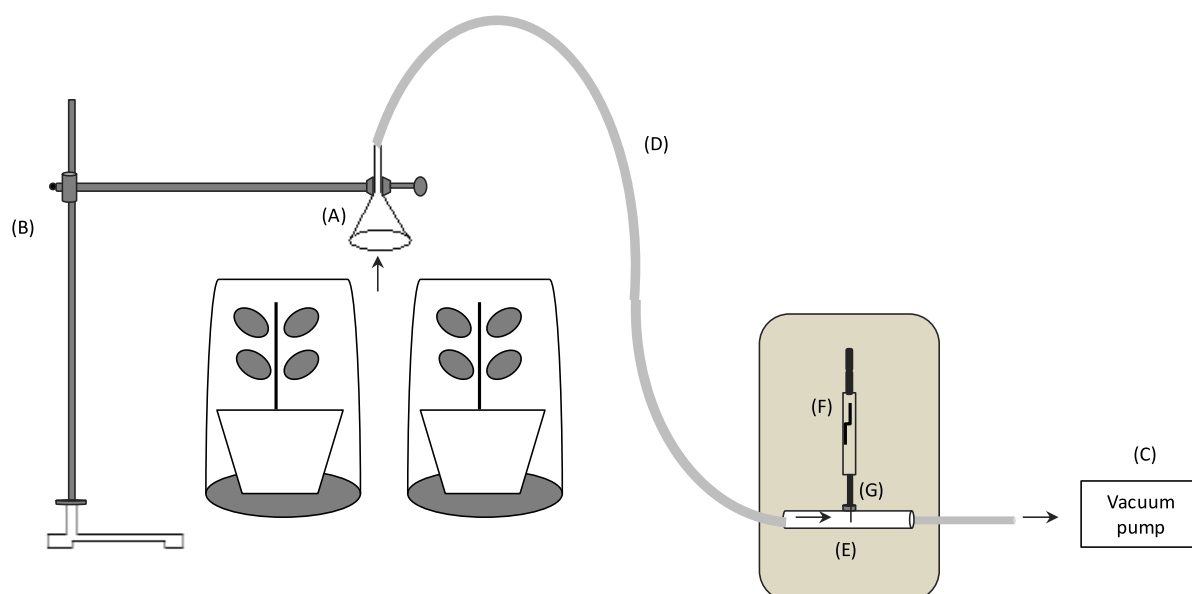


Figure 5.3: Dynamic system used to collect VOC in the greenhouse. Glass funnel (i.d: 10 cm) (A) supported by a ring stand (B) and connected to a vacuum pump (C) by a Teflon tube (i.d: 10 mm, D). A portion of the Teflon tube was replaced by a glass tubing (E) (15, 4 mm inner diameter) in order to insert easily the SPME fiber (F) via a Septum (G).

2.3.2. VOC sampling

Two minutes before sampling, the vacuum pump was initiated for purge. Then a SPME fiber was inserted into the glass tube through a septum and exposed to the air flow aspirated above pepper plant through the glass funnel and along the Teflon tube for 30 min at a constant rate of 5L/min.

The glass funnel was directly placed over and between two pepper plants (Figure 5.1 B). VOCs were sampled three times on every greenhouse: early (9a.m), middle (12a.m) and

later in the day (5p.m) with 30 min intervals between each greenhouse. The same position of the glass funnel was maintained during each sampling.

2.3.3. VOC Analysis

Fibers were transferred immediately after sampling to perform laboratory analysis. The fiber desorption was performed in a Trace-ISQ (Thermo) gas chromatograph coupled to mass spectrometer (GC-MS), scanning from m/z 35 to m/z 450; operating in electronic impact mode at 70eV (source temperature set at 200 °C). Helium was used as carrier gas at a flow rate of 0.4 mL min⁻¹. VOCs were separated on a TR-5MS (Thermo) capillary column (20 m × 0.1 mm internal diameter × 0.1 µm film thickness). The oven temperature was programmed from 40 °C to 300 °C. Desorption of the SPME took place for 2 min at 250 °C in the GC inlet followed by 30-min analysis. The identification of peaks and compounds was checked by appropriating the retention time of each compound and comparing the mass spectra and the retention indices with those found in the NIST mass spectra library (NIST 05: National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA). Standards, when available, were used to confirm compounds identification.

2.3. Statistical analysis

To evaluate the effect of 2 CP dispositions *vis-a-vis* pepper plants, a two way statistical analysis of variance was realized at each date considering the CP disposition, the CP species and any interaction between them. Since there was no significant effect of the CP disposition, data of 18 plants per treatment were pooled. The number of females settled in pepper and their produced nymphs were compared within control and CP treatments.

Experiments 1 and 2 were analyzed separately as there was a significant difference between replicates. Counts of females and nymphs were log transformed to homogenize variances. ANOVA for repeated measures was performed with SAS software using procedure glm (SAS, version 9.1.3) to analyze the time effect, the treatment effect and the interactions between time and treatment as data from one date to another were not independent. Comparisons were performed using a Fisher protected least significant difference test ($p < 5\%$).

The same statistic analyses were done to analyze time, distance and time*distance effects for the distance experiment. Given that there was no significant differences between rosemary greenhouses (data not shown), we pooled the data of rosemary greenhouse for each distance and conducted an ANOVA test to analyze distance effects.

No statistics were done on VOC samplings as only qualitative data were analyzed (presence or absence of each VOC).

3. Results

3.3. Intercropping experiments

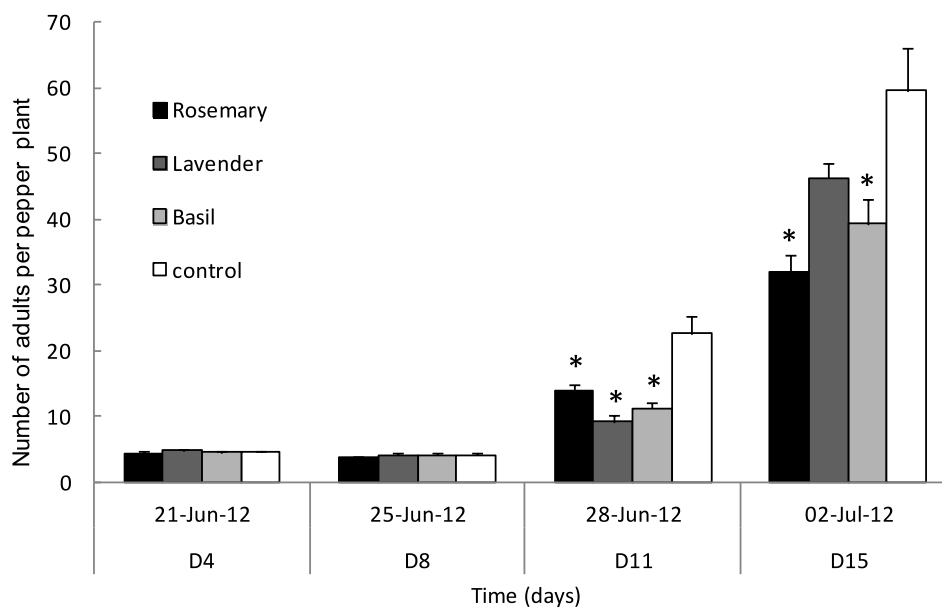
3.3.1. Survival

Whatever the intercropping system, the number of adults remained relatively stable (≈ 5 females/plant) for one week following their settling on plant (Figure 5.4). In both replicates, differences in adult number started from the third counting (D11), as older nymphs developed to form new adults. From D11, the number of adults per plant increased, but remained lower in the presence of CP species compared to the control. During the first experiment (Figure 5.4a), intercropping with rosemary, basil or lavender had significantly reduced adult proliferation ($p=0.0007$, $p<0.0001$, $p=0.0009$, respectively). The effect of lavender was only significant at day 11 ($p<0.001$). Rosemary and basil showed stronger reduction both at D11 (% $p=0.008$; % $p=0.0004$) and reached respectively 47 % ($p=0.001$) and 35% ($p=0.01$) respectively at D15. In the second experiment (Figure 5.4b), similar responses were observed with rosemary, intercropping reduced the number of females at D11 and D15 by 68 % and 63 % respectively. Intercropping with basil and lavender was less efficient and it reduced female number by 20 %.

3.3.2. Fecundity

For the control, the mean number of nymphs per plant increased exponentially in both experiments (Figure 5.5). It varied from 30 at D4 to 300 nymphs at D15 in experiment 1 (Figure 5.5.a) and from 24 (D4) up to 522 nymphs at day 15 in experiment 2 (Figure 5.5b). Intercropping CP species with pepper significantly reduced aphid fecundity. Lavender significantly reduced the number of nymphs in both experiments ($p=0.002$ experiment 1, $p=0.009$ experiment 2) with a larger effect during the second experiment (40% of reduction) compared to the first experiment (20% of reduction). Basil had also a significant effect in the first experiment ($p<0.0001$, 44%) and showed a similar trend in the second which was not significant ($p=0.2$, 22%). Rosemary was very efficient to limit aphid fecundity in both experiments ($p<0.0001$). Fifteen days following females settling, the mean number of nymphs per plant was reduced by 57% in experiment (1) and 77% in experiment (2).

a) Experiment 1



b) Experiment 2

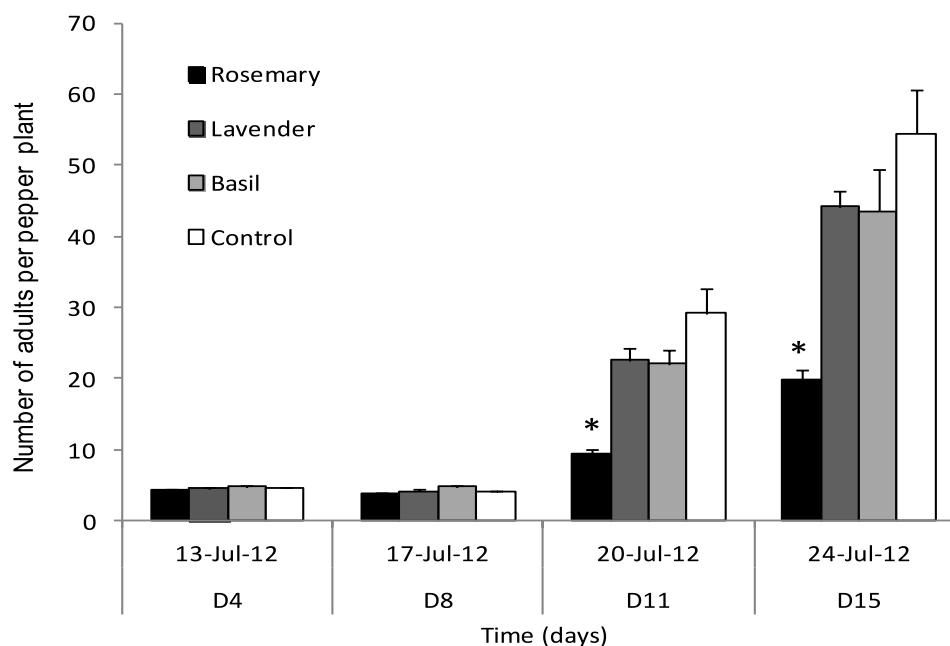


Figure 5.4: Number of *Myzus persicae* females on pepper plants (mean $\pm$ SE, 18 replicates) intercropped or no (control) with companion plants (rosemary, lavender, and basil) measured 3 days after the first infestation and up to 15 days. Females number on each pepper plant was counted as the number of all visible living females. Stars (*) indicate significant differences from the control mean (Fischer protected LSD, $P < 0.05$).

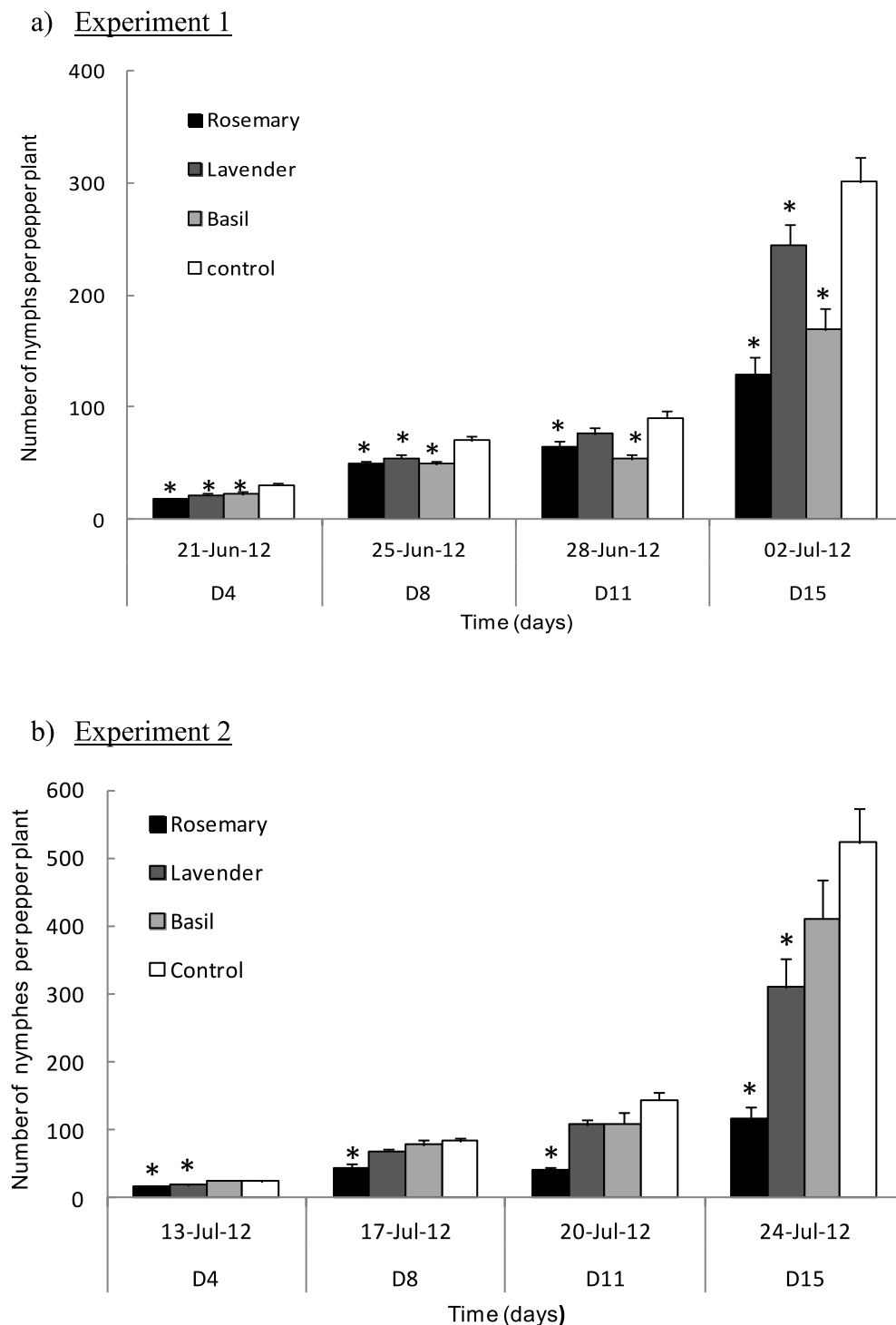


Figure 5.5: Number of nymphs on pepper plants (mean $\pm$ SE, 18 replicates) depended on companion plant treatment intercropped or no (control) with companion plants (rosemary, lavender, and basil) measured 3 days after the first infestation and up to 15 days. Stars (*) indicate significant differences from the control mean (Fischer protected LSD), $P < 0.05$.

3.4.Distance experiment

The mean adults ($P=0.12$) or nymphs' counts ($p=0.26$) were not significantly different depending on rosemary greenhouses (data not shown). However the mean number of adults and nymphs decreased significantly with the distance to rosemary compared to control treatment ($p<0.0001$). The lowest proliferation was observed on pepper plant neighbored by rosemary (at 0, 5 m). No significant differences were found for adult females in the first counting ($p=0.3$). The number of females per plant located at 0.5m from rosemary was significantly reduced by 54% at day 11 ($p=0.003$) and by 50% at day 18 ($p=0.002$) compared to control (Figure 5.6). In addition, fewer nymphs were found at this distance on day 18 (lower than 100 nymphs/ pepper plant, $p<0.0001$), while there were more than 250 nymphs/ pepper plant in the control treatment without rosemary (Figure 5.7). Plant distant at 1,5 m tended to have slightly less females and nymphs than the control at the end of the experiment, but differences were not very significant ($p=0.08$; $p=0.07$ respectively). There was no more significant effect of rosemary located at 2.5 m on aphid behavior ($p=0.20$), as on the last counting (D18), pepper plant at 2,5m had roughly the same number of nymphs and aphids compared to the control (Figure 5.7).

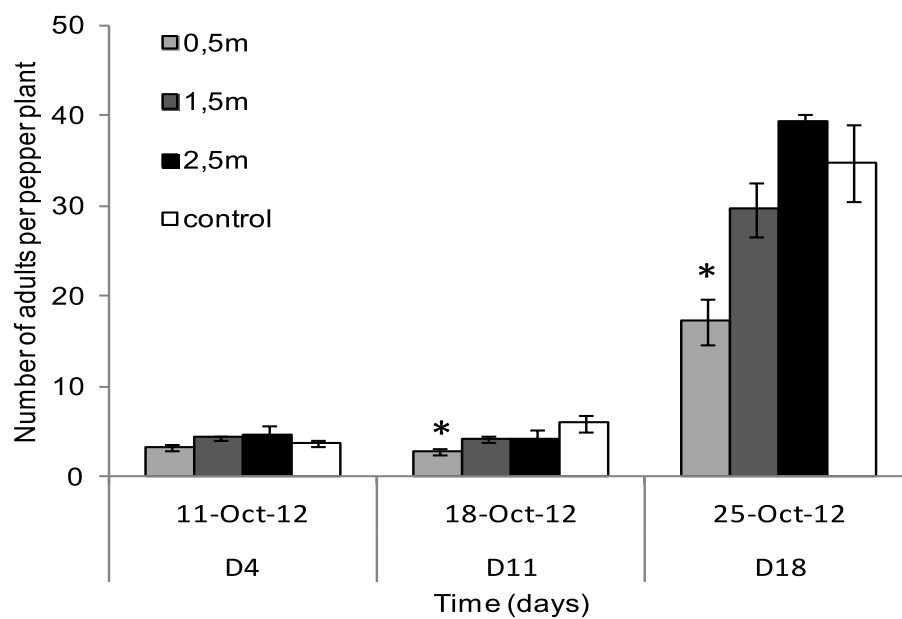


Figure 5.6: Number of *Myzus persicae* adult females on pepper plants (mean $\pm$ SE, 18 replicates) measured at three distances of rosemary set up and compared to control treatment. Females number on each pepper plant was counted as the number of all visible living females. Stars (*) indicate significant differences from the control mean (Fischer protected LSD, $P < 0.05$).

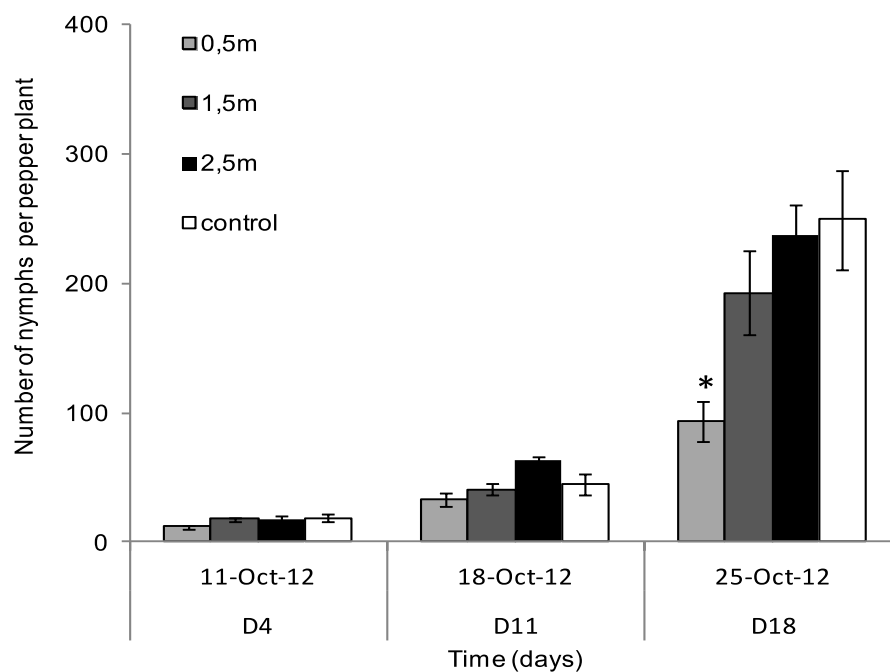


Figure 5.7: Number of nymphs on pepper plants (mean $\pm$ SE) measured at three different distances of rosemary set up and compared to control treatment (only pepper). Stars (*) indicate significant differences from the control mean (Fischer protected LSD, $P < 0.05$).

3.5.VOCs measurements

GC-MS analyses results showed that the micro environment of pepper plant differed depending on the neighbor CP species (Table 5.1). A total of 15 compounds have been identified corresponding to the larger pics. Three compounds, decanal, dodecanal, geranyl acetone, were common to all greenhouses. The camphor was not assayed in the control treatment but was found in the three intercrops. Two compounds, 1,8 cineole and borneol, were detected both in rosemary and lavender greenhouse. Rosemary greenhouse contained the highest number of compounds. Six specific compounds, α -pinene, limonene, γ -terpinene, verbenone, bornyl_acetate and α -farnesene, were tentatively identified in rosemary greenhouse. Three compounds, eugenol, methyl_eugenol and bergamotene, were only identified in basil greenhouse.

Table 5.1 Volatile profile of the ambient air in the vicinity of pepper plant in monoculture or intercropped with three companion plants (Basil, Rosemary and Lavender)

Volatile compounds ^a	class	RT ^b (min)	RI ^c	Treatment			
				Basil	Rosemary	Lavender	Pepper
α -pinene	Monoterpenes	4,25	938		X ^d		
Limonene		5,82	1034		X		
1,8-cineole		5,90	1039		X	X	
γ -terpinene		6,28	1064		X		
Camphor		7,99	1167	X	X	X	
Borneol	Others	8,42	1191		X	X	
Verbenone		9,15	1229		X		
Decanal		8,87	1215	X	X	X	X
Bornyl_acetate		10,47	1295		X		
Dodecanal		13,12	1419	X	X	X	X
Eugenol	Phenylpropanoids	12,02	1367	X			
Methyl_eugenol		13,06	1416	X			
Bergamotene	Sesquiterpenes	13,57	1439	X			
α -farnesene		15,13	1509		X		
Geranyl acetone	Apocarotenoids	13,95	1456	X	X	X	X
Total				7	12	6	3

^a The qualification of volatile compounds was limited for major compounds

^b Rt: retention time

^c RI: retention index

^d X: detected compound

4. Discussion

The present study indicates that the intercropping of companion plants near pepper plants reduced aphids performance. Since there was no contact between pepper plants and CP except aerial interaction *via* VOC, our results were consistent with the hypothesis that volatiles emitted by CP species may affect aphids' behaviour. Several studies have reported the importance of olfactory's cues on aphid behaviour (Bruce et al. 2005b; Francis et al. 2004; Pickett et al. 1992; Visser and Piron 1997). Their conclusions agreed that the presence of volatiles emitted by non host plants notably companion plants can influence aphid behaviour and change their decision to settle or not on plant. Amarawardana et al. (2007) reported that *M. persicae* cannot settle on a pepper plant neighboring chives. Similarly, Basedow et al (2006) have reported a reduced infection of *Vicia faba* by *Aphis fabae* in the presence of Lamiaceae (*Ocimum basilicum* L. and *Satureja hortensis* L).

In our study, the effects on aphid performance varied depending on CP species. This difference can be related to the profile of volatiles emitted by CP which was different from one greenhouse to another depending on CP. According to Hori (1999), the composition of VOC may differ markedly from plant to another even if they belong the same plant family influencing differently the settling of females on their hosts. Indeed, interesting effects of volatiles have been shown in several studies and attributed to several hypotheses. Previous studies have shown that volatiles and chemicals from aromatic plants affect herbivore landing or feeding in hosts due to their deterrent and repellent proprieties (Basedow et al. 2006 ; Hori 1998). It is also known that, within insect organisms, essential oils from aromatic plants like basil, lavender, mint and thyme can be toxic by affecting their gustatory perception, inhibiting sucking, triggering starvation and even death (Hori 1999; Munneke et al. 2004).

In the present study, all CP tested triggered reduced aphid performance whatever the experiments compared to control treatment. Interestingly, the neighborhood of rosemary was the most effective in disturbing *M. persicae* females and reducing their fecundity. So pepper plants were less infested when intercropped compared to control treatment. The efficiency of rosemary has previously been reported in laboratory conditions and results showed a rapid and sustained effect on both the number of females and their fecundity rates. The main mechanism may likely involve the strong repellent and antifeedant effect of rosemary volatiles on aphids settling as previously demonstrated by Hori (1999), using essentials oils. Our sampling of the micro environment of pepper plant intercropped with rosemary revealed the occurrence of 9 additional compounds compared to the control (Table 5.1). Terpenes

compounds such as α -pinene, 1,8 cineole, camphor, borneol, and bornyl-acetate have been identified as principal volatiles from rosemary essentials oils (Szumny et al. 2010) and have shown a repellent effect on aphids in a linear track olfactometer (Hori 1998; Hori and Komatsu 1997). Gutiérrez et al. (1997) have also shown that terpenes inhibit significantly the settling of *M. persicae* in a choice test. Moreover, their presence on the surface of pepper plants affects insect probing behavior by decreasing their probing activity and the number of intercellular punctures which consequently decreased offspring production.

The effects of lavender intercropping were less important compared to that of rosemary. Plants neighboring lavender have shown a slight reduction of female number but a stronger reduction in nymph number compared to the control. These results are in agreement with a previous study that we realized in laboratory controlled conditions. During these experiments, intercropping pepper plants with lavender in growth chamber had no effect on the number of females but it reduced significantly the number of nymphs.

We found that lavender profile contains fewer compounds compared to rosemary. According to Celiktaş et al. (2007), every mixture of chemicals compounds are marked by a specific biological activity. An antifeedant effect of terpenes compounds have been reported on *M. persicae* nymphs preventing them from feeding and causing their mortality (Gutiérrez et al. 1997). It turns out that nymphs are more sensible to volatiles than adults which may disturb and affect their settling on the pepper plant.

We have noted that the number of females and the number of nymphs are two dependant variables since neonates nymphs will become the future females. In our cases neonate nymphs needed 7-8 days to reach the adult moult so that nymphs laid in D4 should have been females in D11 and so forth. In control, nymphs were significantly moult into adult more rapidly compared to intercropping treatments. The number of females in rosemary treatment was the lowest compared to others treatments up to the end of experiments and consequently a lower numbers of neonate nymphs were produced. Indeed, offsprings are present as embryos in the ovarioles at the adult moult (Dixon 1977); their number, size and development rate can be achieved before their generation (Adams and Van Emden 1972). In fact, female potential fecundity can be changed depending on many factors such as host quality and/or presence of defensive compounds (Awmack and Leather 2002). In the same context, researchers have shown that plants can detect chemical signals emitted by neighboring plant (Heil and Karban 2010) which activate their VOC emission and the synthesis of defense chemicals substances (Choh et al. 2004; Glinwood et al. 2004) and consequently affect the abundance of herbivores (Karan 2007). Females may found that a site is unlivable for their offspring and may change

their reproductive strategy (Tosh et al. 2002). Thus, it is possible that pepper plants become less attractive due to the interaction with VOC from lavender plants. For example, Glinwood et al. (2004) have shown that chemical signals emitted by thistles (*Cirsium* spp.) can be detected by barley plants. Such chemical signal may affect and activate VOC emissions on a receiver plant. Another hypothesis can be proposed considering that lavender VOC have adhered on pepper leaves masking their profile and affecting their attractiveness for aphids. In a recent study, in laboratory experiments, Ninkovic and coauthors (2013) demonstrated that the exposition of potato plants to the volatiles from onions plant altered their volatiles profile and deterred *M. persicae*. Since aerial allelopathy between plants has not been largely explored, it should be considered as an important mechanism affecting insect orientation in intercropping.

Some hypotheses suggested for rosemary and lavender may also be valid for basil especially as some compounds identified in basil have been shown to have repellent and antifeedant proprieties notably eugenol (Isman 2000). We have shown that basil is effective against aphids, though significance has been revealed only in the first experiment. As basil was still vegetative in experiment (1) and flowering in experiment (2), phenological stage (Penuelas and Llusia 1997) may be a crucial parameter which should be taken into account to explain differences between the two replicates. Ngassoum et al. 2004) showed that the content and chemical composition of basil essential oils (*Ocimum canum*) extracted from leaves differed from those extracted from flowers. They found that the essential leaf and flower oils of *Ocimum canum* were dominated respectively by limonene (41.5% and 5.7%), 1,8-cineole (10.1% and 18.5%), α -pinene (4.7% and 10.2%) as main monoterpene hydrocarbons and oxygenated monoterpenes and δ -cadinene (4.0% and 18.0%) as sesquiterpenes derivatives. Other compounds were identified only in leaves essential oils (2,4-Dimethylpentan-3-one, 1-Hexanol, Artemisia alcohol) but in small quantities. Thus changes in volatile profile of basil between experiment 1 and 2 due to its phenological stage may be the cause for the lower effect of basil in the second experiment. Nevertheless, in our assay, difference between phenological stages could not be inspected, since we measured VOCs only in the second experiment.

In addition, Hori (1998) found that the concentration of essential oils is decisive. Following this findings, we can interpret that differences between experiments may be caused by difference in the quantities of VOC between basil in flowers and vegetative stage. These

hypothetical mechanisms need to be confirmed in future experiments, by studying each factor separately.

Evidence for the role of rosemary and its distance effect were more precisely studied during the distance experiment. It showed that the presence of rosemary from 0.5 up to 1.5 m from pepper plant limits aphid number, but has no more effect on plant located at 2.5 m. The largest effect was observed when the CP was in the very close neighborhood of the host plant. We speculate that the effect of a CP species depends on the distance from which it was installed. More the distance increases more the effect appears negligible. According to Barbosa et al. (2009), estimating the effective distance at which a neighboring plant can act is still unknown. However they supposed that plant induced volatiles may only trigger changes over short distances. For example, Karban (2001) found that clipped sagebrush plants proved less damage by herbivores at 0.15m from tobacco plants. In a recent study (Le Guigo et al. 2010), fewer aphids were recorded on *B. oleracea* at 0.3 m distant from *B. napus*. Similarly, Lai et al, 2011 showed that planting garlic plants at a distance of 0.55 m from tobacco plants can reduce the occurrence *M. persicae* in field. In our study, we also found no significant effect when comparing the disposition of CP in the first two experiments. Data on relationship between plant neighboring density and herbivores abundance on focal plant are equivocal. The likelihood of the detection of a host plant by herbivores depends on the number of individual neighboring plants and on their biomass (Basedow et al. 2006).

In summary, our intercropping assays improved the negative effect of some companion plants on *M. persicae* settling when they are near pepper plants. The interference of CP volatiles in hosts environment may be the element which kept aphids population unstable. Rosemary was the most effective CP which affects significantly the performance of *M. persicae*, confirming that compounds of rosemary have the potential to disturb the settling of aphids (Ben Issa et al., submitted). However we supposed that the distance and the availability of key compounds or mixture of volatile compounds could be limiting factors for the efficiency of a companion plant. Even if, this last is highly effective at reducing aphid population, results may depend on many factors influencing quantity and quality of volatile compounds and can make interactions between volatiles and aphids more complicated. The proportion of CP versus pepper plant is a subjective choice that meets a reasonable notion. Amplify this report to increase the density of VOC is therefore not a realistic assumption. However, a better studying of discrimination of key volatiles may create opportunities to reduce aphids' populations and improve crops protection.

References

- Adams J, Van Emden H (1972) The biological properties of aphids and their host plant relationships. *Aphid Technology*:48-104
- Adedipe F, Park Y-L (2010) Visual and olfactory preference of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) adults to various companion plants. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 13:319-323
- Amarawardana L, Bandara P, Kumar V, Pettersson J, Ninkovic V, 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
- Awmack CS, Leather SR (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual review of entomology* 47:817-844
- Barbosa P, Hines J, Kaplan I, Martinson H, Szczepaniec A, Szendrei Z (2009) Associational resistance and associational susceptibility: having right or wrong neighbors. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40:1-20
- Basedow T, Hua L, Aggarwal N (2006) The infestation of *Vicia faba* L.(Fabaceae) by *Aphis fabae* (Scop.) (Homoptera: Aphididae) under the influence of Lamiaceae (*Ocimum basilicum* L. and *Satureja hortensis* L.). *Journal of Pest Science* 79:149-154
- Blackman RL, Eastop VF (2007) Taxonomic issues. *Aphids as Crop Pests*. ed. by H.F.Van Emden and R.Harrington, pp.1-30. CAB International, U.K.
- Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock CM (2005b) Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science* 10:269-274
- Campbell C et al. (1990) Sex attractant pheromone of damson-hop aphid *Phorodon humuli* (Homoptera, Aphididae). *Journal of Chemical Ecology* 16:3455-3465
- Celiktas OY, Kocabas EEH, Bedir E, Sukan FV, Ozek T, Baser KHC (2007) Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry* 100:553-559
- Chapman RF, Bernays EA, Simpson SJ (1981) Attraction and repulsion of the aphid, *Cavariella aegopodii*, by Plant Odors. *Journal of Chemical Ecology* 7:881-888
- Choh Y, Shimoda T, Ozawa R, Dicke M, Takabayashi J (2004) Exposure of Lima Bean Leaves to Volatiles from Herbivore-Induced Conspecific Plants Results in Emission of Carnivore Attractants: Active or Passive Process? *Journal of Chemical Ecology* 30:1305-1317

- Collier RH, Finch S, Bcpc (2003) The effect of increased crop diversity on colonisation by pest insects of brassica crops. British Crop Protection Council, Farnham
- Cunningham SJ (1998) Great garden companions: a companion planting system for a beautiful, chemical-free vegetable garden. Rodale Books
- Dixon A (1977) Aphid ecology: life cycles, polymorphism, and population regulation. Annual Review of Ecology and Systematics 8:329-353
- Finch S, Collier R (2000) Host-plant selection by insects—a theory based on ‘appropriate/inappropriate landings’ by pest insects of cruciferous plants. Entomologia Experimentalis et Applicata 96:91-102
- Finch S, Collier RH (2012) The influence of host and non-host companion plants on the behaviour of pest insects in field crops. Entomologia Experimentalis et Applicata
- Francis F, Lognay G, Haubruge E (2004) Olfactory responses to aphid and host plant volatile releases:(E)- α -farnesene an effective kairomone for the predator *Adalia bipunctata*. Journal of Chemical Ecology 30:741-755
- Frost CJ, Appel HM, Carlson JE, De Moraes CM, Mescher MC, Schultz JC (2007) Within-plant signalling via volatiles overcomes vascular constraints on systemic signalling and primes responses against herbivores. Ecology Letters 10:490-498
- Glinwood R, Ninkovic V, Pettersson J, Ahmed E (2004) Barley exposed to aerial allelopathy from thistles (*Cirsium* spp.) becomes less acceptable to aphids. Ecological Entomology 29:188-195
- Gutiérrez C, Fereres A, Reina M, Cabrera R, González-Coloma A (1997) Behavioral and Sublethal Effects of Structurally Related Lower Terpenes on *Myzus persicae*. Journal of Chemical Ecology 23:1641-1650
- Halbert SE, Corsini D, Wiebe M, Vaughn SF (2009) Plant-derived compounds and extracts with potential as aphid repellents. Annals of Applied Biology 154:303-307
- Heil M, Karban R (2010) Explaining evolution of plant communication by airborne signals. Trends in Ecology & Evolution 25:137-144
- Hori M (1998) Repellency of Rosemary Oil Against *Myzus persicae* ; in a Laboratory and in a Screenhouse. 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 34:113-118
- Hori M, Harada H (1995) Screening plants resistant to green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae).

- Hori M, 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
- Isman MB (2000) Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection 19:603-608
- Jankowska B, Poniedziaek M, Jedrszczyk E (2009) Effect of intercropping white cabbage with French Marigold (*Tagetes patula* nana L.) and Pot Marigold (*Calendula officinalis* L.) on the colonization of plants by pest insects. Folia Horticulturae 21:95-103
- Jordens Rottger D (1979) The role of phenolic substances for host-selection behaviour of the black bean aphid, *aphis fabae*. Entomologia Experimentalis et Applicata 26:49-54
- Karban R (2001) Communication between sagebrush and wild tobacco in the field. Biochemical Systematics and Ecology 29:995-1005
- Karban R (2007) Associational resistance for mule's ears with sagebrush neighbors. Plant Ecology 191:295-303
- 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
- Landis DA, Wratten SD, Gurr GM (2000) Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. Annual review of entomology 45:175-201
- Le Guigo P, Qu Y, Le Corff J (2010) Plant-mediated effects on a toxin-sequestering aphid and its endoparasitoid. Basic and Applied Ecology 12:72-79
- Mowry TM (2005) Insecticidal reduction of Potato leafroll virus transmission by *Myzus persicae*. Annals of Applied Biology 146:81-88
- Munneke M, Bruin A-d, Moskal J, van Tol R (2004) Repellence and toxicity of plant essential oils to the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae* Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology-netherlands entomological society, vol. 15, pp 81-86
- Mutiga SK, Gohole LS, Auma EO (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
- Ngassoum MB, Ousmaila H, Ngamo LT, Maponmetsem PM, Jirovetz L, Buchbauer G (2004) Aroma compounds of essential oils of two varieties of the spice plant *Ocimum canum* Sims from northern Cameroon. Journal of Food Composition and Analysis 17:197-204

- Ninkovic V, Dahlin I, Vucetic A, Petrovic-Obradovic O, Glinwood R, Webster B (2013) Volatile Exchange between Undamaged Plants - a New Mechanism Affecting Insect Orientation in Intercropping. Plos One 8
- Nottingham S et al. (1991) Behavioral and electrophysiological responses of Aphids to host and nonhost plant volatiles. Journal of Chemical Ecology 17:1231-1242
- Parker JE, Snyder WE, Hamilton GC, Rodriguez-Saona C (2013) Companion Planting and Insect Pest Control.
- Pavela R (2006) Insecticidal activity of essential oils against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. Journal of Essential Oil Bearing Plants 9:99-106
- Penuelas J, Llusia J (1997) Effects of carbon dioxide, water supply, and seasonality on terpene content and emission by *Rosmarinus officinalis*. Journal of Chemical Ecology 23:979-993
- Pickett J, Wadhams L, Woodcock C, Hardie J (1992) The chemical ecology of aphids. Annual review of entomology 37:67-90
- Powell G, Hardie J (2000) Host-selection behaviour by genetically identical aphids with different plant preferences. Physiological Entomology 25:54-62
- Powell G, Tosh CR, Hardie J (2006) Host plant selection by aphids: Behavioral, evolutionary, and applied perspectives. Annual Review of Entomology 51:309-330
- Radcliffe EB (1982) Insect pests of potato. Annual review of entomology 27:173-204
- Storer JR, Powell G, Hardie J (1996) Settling responses of aphids in air permeated with non-host plant volatiles. Entomologia Experimentalis et Applicata 80:76-78
- Szumny A, Figiel A, Gutiérrez-Ortiz A, Carbonell-Barrachina ÁA (2010) Composition of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) as affected by drying method. Journal of Food engineering 97:253-260
- Tang GB et al. (2013) Repellent and attractive effects of herbs on insects in pear orchards intercropped with aromatic plants. Agroforestry systems:1-13
- Tomova BS, Waterhouse JS, Doberski J (2005) The effect of fractionated Tagetes oil volatiles on aphid reproduction. Entomologia Experimentalis Et Applicata 115:153-159
- Tosh CR, Powell G, Hardie J (2002) Maternal reproductive decisions are independent of feeding in the black bean aphid, *Aphis fabae*. Journal of Insect Physiology 48:619-629
- Visser JH, Piron PGM (1997) Odour response profiles in aphids differentiating for species, clone, form and food Proceedings of the 8th meeting of experimental and applied entomologists held in Utrecht on 13 December 1996., vol. 8, pp 115-120

Discussion et perspectives

Discussion générale

Intérêt des PdS : contexte général et rappel de la problématique

Les travaux de recherche sur l'association de plantes de service avec les cultures, dont il est question dans cette thèse, s'inscrivent dans une démarche de recherche de durabilité des agro-systèmes avec le souci de réduire l'usage des intrants notamment des pesticides, afin de protéger l'environnement mais aussi de trouver des solutions alternatives pour limiter la prolifération des ravageurs. Le choix des associations entre plantes de service et cultures horticoles doit être pensé pour optimiser les services rendus par ces plantes. Il nécessite de comprendre leur mode d'action et les limites de leur fonctionnalité afin de permettre leur intégration judicieuse au sein des écosystèmes visant à réduire la sensibilité des écosystèmes aux bio-agresseurs et plus particulièrement dans le cadre de cette étude vis-à-vis des pucerons.

Les critères pour choisir une plante de service sont nombreux selon les services que l'on souhaite promouvoir. Des travaux ont montré que les propriétés physiques de certaines plantes mais également leur compositions chimiques (en particulier en composés organiques volatiles, COV) peuvent jouer un rôle important dans les interactions avec les ravageurs du fait de leur propriétés attractive, répulsive ou anti-appétante. Le bénéfice de ces associations entre une plante non hôte et une plante hôte est basé sur le fait que les insectes qui localisent leurs plantes hôtes grâce à leur bouquets olfactifs émis, sont perturbés par la présence d'autres composés émis par les plantes non hôtes (Lai et al, 2010). Par conséquent, le mélange de volatils émis par les plantes en association correspond à un signal olfactif plus complexe que celui émis par la plante hôte en monoculture, rendant la plante hôte moins détectable par l'insecte et provoquant ainsi une colonisation moins importante de la plante cible. En milieu naturel différents facteurs de l'environnement (la température, des stimuli visuels, des stimuli olfactifs, des interactions racinaires, des interactions avec des ennemis naturels,...) peuvent agir sur les relations entre plante hôte, plante de service et insecte ravageur, rendant leur analyse complexe. Dans le cadre de cette thèse nous nous sommes intéressés aux rôles des COV dans ces interactions. C'est pourquoi nous avons développé différents outils et protocoles pour prélever et identifier les COV émis et réduire au maximum toutes autres interactions en contrôlant le climat, et en isolant le système étudié (plante-plante de service-puceron) de toute autre interaction.

L'objectif général de cette thèse était de *sélectionner des plantes de service efficaces contre le puceron vert du pêcher et de rechercher quels étaient leur mode d'action, ce qui constituait les premières étapes nécessaires en vue de promouvoir ces associations de plantes dans la recherche de méthodes de lutte alternatives et innovantes contre ces insectes ravageurs.*

Pour mettre en évidence cette hypothèse d'interaction olfactive nous avons mis en place différentes expérimentations en conditions contrôlées de façon à vérifier que la présence d'une plante de service à proximité d'une plante hôte et sans contact physique pouvait perturber l'installation d'une population de pucerons, une deuxième partie avait pour objectif de comprendre les mécanismes impliqués, et enfin dans une troisième étape nous avons testé dans des conditions moins confinées l'efficacité des associations avec les plantes de service.

Rappel des principaux résultats

Les expériences en enceintes climatiques : screening des plantes de service en conditions contrôlées

La sélection des plantes de service utilisées pendant ce travail a été basée sur leur capacité à émettre des composés organiques volatils, et à modifier le comportement de pucerons. Une analyse bibliographique a permis de sélectionner différentes plantes qui avaient été caractérisées comme ayant des propriétés chimiques lorsqu'elles étaient utilisées directement ou sous forme d'extraits sur les pucerons.

Pour chaque plante de service sélectionnée, nous avons étudié le comportement d'installation de *Myzus persicae* sur sa plante hôte en présence de la PdS. Nous avons analysé la survie et la fécondité des femelles. Nous avons pu vérifier que les infestations de pucerons étaient statistiquement plus élevées en monoculture de poivron par rapport à la culture associée avec certaines PdS. Certaines PdS ont réduit le nombre de femelles alors que d'autres ont limité essentiellement le nombre de larves pondues. Les paramètres choisis pour caractériser le comportement des pucerons ont été le calcul du nombre de femelles et la fécondité journalière, même si d'autres paramètres tels que le taux intrinsèque d'accroissement (R_m) aurait également été intéressant à suivre. Nous avons remarqué, pour certaines espèces comme le romarin (*Rosmarinus officinalis*), l'œillet d'inde (*Tagetes patula*, *Tagetes erecta*), le géranium (*Pelargonium zonal*), la lavande (*Lavandula latifolia*), le basilic (*Ocimum basilicum*), le souci (*Calendula officinalis* L), la ciboulette (*Allium schoenoprasum*), que la survie et /ou la

fécondité des femelles diminuaient en cours du temps en comparaison avec le témoin. Pour d'autres espèces comme le carthame (*Carthamus tinctorius*), l'inule visqueuse (*Dittrichia viscosa*), le thym (*Thymus vulgaris*), la sarriette (*Satureja hortensis*), et la menthe poivrée (*Mentha piperita*), aucune différence significative n'a été observée en comparaison avec le témoin. Par ailleurs, nous avons caractérisé chaque plante par un profil de composés volatils et recherché des relations entre ces profils de COV et l'efficacité des PdS lors de nos expérimentations mais également sur des résultats publiés obtenus avec des extraits ou des huiles essentielles.

Pour sélectionner les PdS testées, nous avons notamment considéré le potentiel aphicide de leur huile essentielle ou de leurs extraits (Basedow et al, 2006; Beizhou et al, 2010 ; Hori 1998 ; Nottingham and Hardie 1993). Nos résultats montrent que ce critère n'est pas forcément pertinent pour présager de l'efficacité d'une PdS. Ainsi, l'introduction de plantes de carthame, d'inule visqueuse ou de thym a été inefficace contrairement aux résultats obtenus en utilisant leurs huiles essentielles dans d'autres études (Sampson et al. 2005). En effet, les profils de COV libérés par une plante ou par son huile essentielle ne sont pas analogues. Les extraits de plantes ou leur huile essentielle contiennent un large spectre de composés et peuvent être plus concentrés que les COV émis par la plante elle-même. C'est pourquoi, en utilisant des PdS, il ne faut pas escompter un effet aphicide comparable à celui des huiles essentielles mais plutôt un ralentissement significatif du développement des populations de pucerons.

Ainsi, le thym, comme la plupart des plantes testées, possède une action aphicide avérée par pulvérisation d'huile essentielle (Isman 2000; Kassimi et al. 2012). Dans ce cas le contact direct avec l'insecte (Isman 1999) et la concentration des substances aphicides sont déterminants. On peut supposer que, dans le cadre de nos essais, la densité des plantes de service n'était pas suffisante pour émettre des quantités suffisantes de volatils et affecter le comportement des pucerons. La proportion PdS / poivrons (1/2) que nous avons testée dans nos travaux a été fixé de façon arbitraire qui nous paraissait raisonnable par rapport à la surface occupée par les plantes de service. Amplifier ce rapport pour accroître la densité de COV n'est donc pas une hypothèse réaliste. Par contre moduler la conduite de culture des PdS, notamment en matière de nutrition hydrominérale, ou jouer sur leur stade phénologique constituent des leviers potentiels pour optimiser la production de COV.

Le dispositif et le protocole expérimental mis en œuvre ont répondu à nos attentes en nous permettant de caractériser et comparer l'effet des PdS sur le comportement des pucerons.

Notre approche est innovante et ne trouve que peu d'équivalent dans la littérature (Amarawardana et al. 2007; Ninkovic et al. 2013), l'essentiel des études sur les PdS ayant été réalisées au champ (Basedow et al. 2006; Collier et al. 2003; Lai et al. 2011). Le contrôle et la stabilité des conditions environnementales nous permettent d'attribuer les modifications du comportement des pucerons à la seule présence des PdS, et l'absence de contact entre plantes à la seule émission de COV. La maîtrise des conditions expérimentales est essentielle car le comportement des pucerons mais aussi l'émission de COV par les plantes sont notamment sensibles à l'environnement abiotique (T°, hydrométrie, rayonnement...) (Hardie and Vaz Nunes 2001; Hussain et al. 2008; Moccaldi and Runkle 2007; Niinemets et al. 2002; Penuelas and Llusia 1997).

Modes d'action d'une plante de service : influence des odeurs sur le comportement de choix et l'installation d'une population de puceron

Les résultats obtenus en enceintes climatiques nous ont ouvert la voie pour mieux appréhender le rôle joué par les volatils émis directement par les PdS et analyser les mécanismes à l'origine de cet effet. Notre objectif était de déterminer si les volatils émis par une plante de service allaient agir soit directement sur le puceron ou indirectement sur la plante hôte. Ce travail a débuté par l'étude du comportement de choix des pucerons en présence de la plante de service en faisant des mesures olfactométriques. Il a effectivement été noté que certaines plantes possèdent des vertus répulsives sur *M. persicae* et affectent son comportement d'orientation. Nous avons montré que *M. persicae* n'est pas affecté par l'odeur de sa plante hôte par contre il est sensible aux volatils émis par le romarin, l'œillet d'Inde en fleur, le géranium, la lavande, le basilic, ou la menthe poivrée. Dans ces cas d'association, les femelles se dirigent préférentiellement vers l'odeur de leur plante hôte (le poivron). Ce type de réponse peut correspondre à un effet direct des COV émis par les plantes de service sur les pucerons. Le comportement d'orientation des femelles révèle, *a priori*, un effet répulsif de ces plantes comme l'ont déjà observé Hori et Kamatsu (1997) ou Murugan et al. (2007).

Malgré l'intérêt du dispositif olfactométrique utilisé, on ne peut exclure que, selon la concentration de COV émis pendant la durée des tests, les odeurs se mélangent entre les deux chambres au niveau de la boîte inférieure. Il est difficile de généraliser les résultats trouvés lors des expérimentations en olfactomètre. Ne connaissant pas la vitesse de dispersion des COV dans l'olfactomètre, une exposition trop longue peut mélanger complètement les flux

rendant le choix du puceron obsolète. Des tests sur la durée d'exposition des pucerons dans les olfactomètres ont été réalisés, mais n'ont pas permis de mettre en évidence ces phénomènes de saturation (données non présentées dans le manuscrit). Il serait intéressant de confirmer les résultats obtenus en utilisant d'autres dispositifs qui permettraient de séparer et de canaliser les odeurs des deux plantes à tester comme l'olfactomètre en Y. Nos résultats ont confirmé qu'il faut considérer la variabilité du profil volatil des plantes de service en fonction de leur stade de développement avec une attention toute particulière entre stade végétatif et stade génératif comme nous l'avons mis en évidence sur l'œillet d'inde et sur l'émission propre des différents organes de la plante (fleur, feuille).

Pour compléter ces travaux et identifier le rôle spécifique des volatils émis par les plantes de service, il serait intéressant de réaliser des expérimentations avec un suivi d'électro-antennographie sur *M. persicae*. C'est une méthode qui permet de reproduire la réaction d'une antenne touchée par une odeur (Sauvion et al. 2013) et mettre en évidence les molécules perçues par le système nerveux de ces insectes. Connaître les volatils ou le mélange clé de volatils qui perturbent le comportement de ce puceron nous permettrait de bien cibler le choix des espèces voire des clones de plantes de service en fonction du bouquet odorant caractéristique.

En complément de cette étude, nous avons exposé des plantes de poivrons aux odeurs des plantes de service afin de vérifier si elles avaient un effet sur le poivron. Nous avons remarqué que cette exposition ou pré-conditionnement a permis de modifier le profil volatil du poivron. Le cas de l'œillet d'inde est particulièrement intéressant. C'est la seule plante pour laquelle nous avons trouvé un effet négatif de l'installation des pucerons sur les poivrons pré-conditionnés. Malgré la rareté des études effectuées sur ce sujet, ce résultat a permis de poser plusieurs hypothèses en lien avec le changement de profil des plantes pré-conditionnées. Des analyses complémentaires seraient intéressantes pour déterminer par quel mécanisme le poivron pré-conditionné affecte le comportement du puceron. Y-a-t-il eu d'autres modifications de la biologie du poivron induites par le pré-conditionnement en dehors de l'altération du profil de COV émis ? Peut-on mettre en évidence des modifications du métabolisme primaire ou secondaire sur ces plantes pré-conditionnées ?

L'altération du profil du poivron par l'adhésion de COV de l'œillet d'inde sur ces feuilles est l'hypothèse la plus simple pour expliquer ce résultat. La plante hôte pourrait perdre son attractivité et même se révéler répulsive (Amarawardana et al. 2007).

Il serait aussi intéressant de prolonger le temps de pré-conditionnement et de réaliser des suivis à plus long terme et sur d'autres paramètres tels que le taux de croissance relatif afin de mieux comprendre les interactions et les effets possibles engendrés par le pré-conditionnement sur plusieurs générations de puceron. L'évolution de la composition biochimiques, notamment en métabolites secondaires (polyphénols, acide salicylique,...), dans les tissus de poivrons associés à des PdS pourrait nous éclairer sur l'effectivité de ce mode d'action.

Cette étude constitue un point de départ qui ouvre une nouvelle voie concernant les interactions aériennes entre les plantes et leurs conséquences potentielles sur la perturbation du comportement d'une population de pucerons.

Etude de la faisabilité et les limites de la fonctionnalité d'une plante de service sous tunnels

A la suite des résultats obtenus en enceintes climatiques, nous avons voulu tester l'efficacité de ces associations dans des conditions de cultures moins confinées afin de vérifier sous tunnels si les pucerons étaient perturbés par la présence d'une plante de service. Un autre objectif de ce travail consistait à déterminer le rayon d'action des PdS, et si on pouvait optimiser l'efficacité des PdS en modulant leur densité et leur distance par rapport aux poivrons. Nous avons donc suivi la survie des femelles ainsi que le nombre de larves pondues. Le choix des plantes de service pour cette étude était plus limité pour des questions logistiques. Nous avons testé trois plantes, le romarin, la lavande et le basilic. Parmi ces trois plantes, le romarin a montré l'effet le plus significatif sur les performances de *Myzus persicae* (nombre de femelles, nombre de larves). La lavande a essentiellement diminué le nombre des larves alors que l'effet du basilic a été différent entre les deux expérimentations. Dans cette étude nous avons constaté, la plus forte efficacité pour des plantes situées à proximité des romarins et que cette efficacité diminuait rapidement avec l'éloignement.

Bien que le dispositif mis en place dans cette étude soit différent de celui rencontré en condition naturelle où le puceron effectue tout seul son choix, notre dispositif expérimental nous a permis de vérifier l'effet d'une plante de service en conditions semi naturelles. Cependant, on ne peut pas cibler notre choix en fonction d'un seul ravageur vu que dans la nature les plantes peuvent être attaquées par une multitude de ravageurs. En outre, une plante peut être efficace contre un ravageur mais peut présenter un foyer pour d'autres. Le choix

d'une plante de service devient très difficile. Pour cela, les futures expérimentations doivent donc porter sur la sensibilité des plantes de service à l'attaque d'autres ravageurs.

Echantillonnage des composés volatils

Nous avons mis au point des dispositifs pour prélever les COV afin de mieux caractériser qualitativement les COV émis par les plantes de service sur lesquelles nous avons travaillé. Nous avons construit un dispositif de prélèvement statique, constitué d'une enceinte qui nous a permis de faire une caractérisation des COV émis par les plantes que nous avons testé en expérimentation. Le protocole établi pour caractériser la signature olfactive des PdS, permet de traiter chaque échantillon en moins d'une heure (durée de prélèvement de 15 minutes suivie de 30 minutes d'analyse). La bibliographie contient beaucoup d'information sur la composition des huiles essentielles et on manque d'information sur la composition des émissions de volatils. Même si celle-ci est souvent proche de celle des huiles essentielles, les abondances relatives des constituants n'est pas la même. Nos prélèvements de COV sont dominés par la présence des terpènes et terpénoides, ceci en accord avec D'Alessandro et Turlings (2006). Se sont des produits chimiques non dangereux (Dharmagadda et al. 2005) qui peuvent modifier le comportement de puceron (Dawson et al. 1990). Le dispositif mis en place sera amélioré pour tester s'il permet d'avoir des informations quantitatives et non plus seulement qualitatives sur les COV émis. En effet, il peut être placé au laboratoire pour avoir un bon contrôle de l'environnement abiotique ce qui favorise la répétabilité des prélèvements. Les premières mesures dans ce dispositif de comparaison des COV émis par un clone de romarin, lorsqu'on diminue la surface foliaire en jouant sur le nombre de plantes, donne corrélations positives intéressantes entre quantité d'un volatil émis et surface foliaire. Ce type de relation pourrait être utilisé pour comparer les émissions de COV de différents clones de romarin et aider à identifier le mélange de volatils émis par le romarin qui perturbe le comportement du puceron. Néanmoins, notre système demeure limité par sa taille, ce qui implique que les plantes à tester soient suffisamment petites pour y être introduites sans toucher les parois. Dans le cas de plantes plus importantes, il conviendra d'utiliser le dispositif de prélèvement dynamique ; dans ces conditions il sera plus difficile d'isoler la plante de son environnement extérieur et la durée de prélèvement est plus importante (30 minutes). Pour remédier à ces inconvénients, nous avons également utilisé ce dispositif dans les enceintes climatiques (Cf chapitre pré-conditionnement). Dans ce cas il est possible de tester l'effet de facteurs abiotiques tels que le rayonnement ou la température, et les effets du cycle circadien sur l'émission des COV. Les premiers tests réalisés nous ont permis de mettre

en évidence l'importance de la température et ont souligné la nécessité de bien contrôler ce facteur dans nos essais. Ce dispositif sera particulièrement intéressant si l'on veut optimiser l'efficacité des PdS en modulant les facteurs abiotiques ou la conduite des plantes (ferti-irrigation) et permettra d'avoir des mesures quantitatives de leurs effets sur l'émission des COV.

Conclusions et Perspectives

Il a été démontré dans ce travail que la présence de certaines plantes compagnes à proximité du poivron affectait l'installation du puceron vert du pêcher. Ce résultat est intéressant dans le cadre d'essais en milieu confiné et semi confiné. Il s'agit maintenant d'évaluer la faisabilité d'intégrer des plantes compagnes dans des essais en plein champ et d'analyser leur efficacité en conditions agronomiques réelles pour aider à lutter d'une manière préventive contre l'installation des pucerons notamment au cours des phases clés de colonisation. Pour cela il faudra considérer la capacité de ces PdS à repousser les pucerons *via* les COV et à attirer leurs ennemis naturels. L'étude simultanée des modes d'action de ces PdS sur différents pathosystèmes permettra d'apprécier la généricité des résultats. Il sera en particulier intéressant de déterminer si les résultats observés dans le cadre de cette étude avec *M. persicae* peuvent être généralisés à d'autres types de pucerons. Au cours d'un stage de master 2 en collaboration avec A. Schoeny (INRA Avignon, pathologie) et dans le cadre d'un projet CASDAR (Agath), l'efficacité de différentes plantes à mettre dans des bandes fleuries a été testée par des tests olfactométriques sur trois espèces de pucerons (*M. persicae*, *A. gossypii*, *A. craccivora*). La nature des plantes *a priori* neutre et le travail sur de très jeunes plantes n'ont pas permis de mettre en évidence d'effet sur le comportement de choix des pucerons mais il serait intéressant de refaire ce type de comparaison avec les plantes plus matures ayant présenté des propriétés répulsives dans le cadre de cette thèse.

La localisation de la plante hôte est une des étapes cruciales du cycle des pucerons (vol de printemps, vol d'automne), c'est aussi une phase critique pour la protection des cultures. La concordance des deux vols avec la présence de plantes de service apparaît comme une intervention préventive au regard de la sensibilité des ailés aux volatils émis par ces plantes (ce qui évite la colonisation par les pucerons ou retarde leur installation) et la possibilité de créer des abris pour les auxiliaires et maintenir leur présence. Cette stratégie pourrait permettre d'économiser des traitements qui peuvent s'avérer à *posteriori* non utiles.

Des plantes compagnes comme le romarin, la lavande pourraient associer ces deux modes d'action contre les pucerons. Ces plantes possèdent la particularité de dégager de fortes odeurs permettant d'éloigner les pucerons. Il faudra vérifier s'il existe une bonne concordance entre la phénologie des plantes et les périodes de colonisation par les pucerons, car elles regorgent de nectar qui nourrit et attire de nombreux auxiliaires à une saison où les fleurs sont

rares, ce qui doit permettre d'augmenter la régulation des populations de pucerons par les auxiliaires.

Nos observations renforcent l'hypothèse de plusieurs modes d'action potentiels des PdS *via* l'émission de COV. En freinant le développement de la colonie de *M. persicae*, la plupart des PdS testées présentent un intérêt écologique. Compte tenu de ces résultats et après avoir identifié les espèces les plus prometteuses par rapport à leur phénologie et leur efficacité, un travail important reste à faire pour optimiser leurs effets en identifiant en particulier les facteurs qui peuvent les rendre encore plus efficace et en recherchant au sein des collections s'il existe de la variabilité génétique sur l'émission des COV. En effet la production des volatils est complexe (Pickersky et al, 2006 cité par Ninkovic, 2009) et sensible à plusieurs facteurs environnementaux (Delfine et al. 2005, Filella et al. 2009, Ormeno et al. 2008). La température et la luminosité sont parmi les facteurs les plus importants qui influent l'émission des volatils par les plantes (Niinemets et al. 2002 ; Moccaldi et Runkle 2007). D'autre part, la date de plantation affecte aussi l'émission des COV ainsi que la production des huiles essentielles (Ramesh et Singh, 2007).

L'émission des volatils dépend aussi du stade phénologique de la plante émettrice. Une température modérée (15°C) peut diminuer le nombre de fleurs de *Tagetes* spp (Moccaldi et Runkle 2007).

La production des composés volatils peut être affectée par le mode de conduite en particulier par la disponibilité hydrique (Oemeno et al. 2007). Un déficit hydrique (4 jours) diminue l'émission des sesquiterpènes de plantes de romarin (*R. officinalis*) mais pas celle des monoterpènes (Oemeno et al, 2007). Les opérations de taille des plantes de service favorise également l'émission des volatils et réduisent l'infestation des plantes (Preston et al, 2004). Par exemple tailler des plantes d'armoise (*Artemisia tridentata*) induit l'émission de Méthyl jasmonate dans les feuilles qui augmente la production de composés de défense chez les plantes de tabac sauvage voisines (*Nicotiana attenuata*) et améliore l'attraction des prédateurs spécifiques (Karban et al, 2000, Dewhirst et al. 2012). Le même constat a été observé après la taille de la luzerne (*Medicago sativa*. L) (Lin et al, 2003). L'association des plantes de coton (*Gossypium hirsutum*) avec de la luzerne taillée a augmenté le nombre des prédateurs (araignées et chrysopes) et diminué ainsi la densité du puceron noir de coton (*Aphis gossypii*). Dans le contexte de changement climatique, avec une réduction des précipitations pour le

bassin méditerranéen, des plantes compagnes dont l'efficacité serait optimisée par un stress hydrique et/ ou des opérations de taille, constitueraient une solution d'intérêt majeur.

A cet argument concernant leur efficacité utilitariste s'ajoutent la valeur intrinsèque de la biodiversité. L'importance de l'habitat pour les auxiliaires est liée à leur besoin d'abri et d'un microclimat favorable à leur croissance et survie. Les plantes compagnes représentent une source supplémentaire de nectar et de pollen (Beizhou et al. 2010) ce qui favorise le développement des populations d'auxiliaires en maintenant leur survie, et en améliorant leur fécondité et leur longévité.

L'association des plantes compagnes avec les cultures à protéger peut prendre plusieurs formes, en jouant sur l'emplacement (cultures intercalaires ou simultanées), l'arrangement spatial (en rang, en bloc, en mélange...). En plus, l'association de ces plantes au sein des cultures pourrait se raisonner en fonction de la saison et du temps de croissance des végétaux ou en fonction des exigences physiologiques des espèces (croissance lente et croissance rapide, l'ombre/soleil, protection contre le vent ...).

Le choix d'une plante de service doit être réfléchi en prenant en compte ces différentes exigences et leur développement phénologique en adéquation avec les insectes avec lesquels elles vont interagir. Les futures recherches devraient prendre en compte différents paramètres comme l'adéquation du stade phénologique de la plante de service avec le cycle de vie des pucerons et les périodes d'attaque, la distance entre la plante de service et les plantes à protéger. Une plante de service ne doit pas offrir en soi de refuge à d'autres ravageurs.

On voit qu'il reste encore de nombreux travaux à mener et d'expériences à réaliser afin d'optimiser les services qui peuvent être rendu par l'association de plantes de service à des écosystèmes. Ces associations ne permettront pas de remplacer complètement la lutte chimique et ne procureront pas seules un contrôle satisfaisant du fait de leur efficacité partielle qui peut être limitée par différentes contraintes (climatiques, etc.). Cependant, ces associations avec des PdS peuvent être développées en combinaison avec d'autres approches de lutte intégrée afin de réduire le nombre de traitements préventifs, en particulier. De plus comme observé en Agriculture Biologique, la substitution des pesticides par les techniques alternatives pourrait permettre de réduire les effets secondaires des programmes de traitement sur les auxiliaires, permettant progressivement d'installer de nouveaux équilibres basés sur une meilleure régulation entre les communautés d'espèces.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Adams J, Van Emden H (1972) The biological properties of aphids and their host plant relationships. *Aphid Technology*:48-104
- Adedipe F, Park Y-L (2010) Visual and olfactory preference of *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) adults to various companion plants. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 13:319-323
- Agelopoulos NG, Hooper AM, Maniar SP, Pickett JA, Wadhams LJ (1999) A novel approach for isolation of volatile chemicals released by individual leaves of a plant in situ. *Journal of Chemical Ecology* 25:1411-1425
- Ahuja I, Rohloff J, Bones AM (2010) Defence mechanisms of Brassicaceae: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 30:311-348
- Amarawardana L, Bandara P, Kumar V, Pettersson J, Ninkovic V, 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, 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
- Andersson M (2007) The effects of non-host volatiles on habitat location by phytophagous insects.
- Andow DA (1991) Vegetational diversity and arthropod population response. *Annual review of entomology* 36:561-586
- Arimura G-i, Ozawa R, Shimoda T, Nishioka T, Boland W, Takabayashi J (2000) Herbivory-induced volatiles elicit defence genes in lima bean leaves. *Nature* 406:512-515
- Atsatt PR, O'Dowd DJ (1976) Plant defense guilds. *Science* 193:24
- Auger J, Lecomte C, Thibout E (1989) Leek odor analysis by gas chromatography and identification of the most active substance for the leek moth, *Acrolepiopsis assectella*. *Journal of Chemical Ecology* 15:1847-1854
- Awmack CS, Leather SR (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual review of entomology* 47:817-844

- Baldwin IT, Schultz JC (1983) Rapid changes in tree leaf chemistry induced by damage: evidence for communication between plants. *Science, USA* 221:277-279
- Baldwin IT, Kessler A, Halitschke R (2002) Volatile signaling in plant-plant-herbivore interactions: what is real? *Current Opinion in Plant Biology* 5:351-354
- Banks JE, Ekbom B (1999) Modelling herbivore movement and colonization: pest management potential of intercropping and trap cropping. *Agricultural and Forest Entomology* 1:165-170
- Barbosa P, Hines J, Kaplan I, Martinson H, Szczepaniec A, Szendrei Z (2009) Associational resistance and associational susceptibility: having right or wrong neighbors. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40:1-20
- Basedow T, Hua L, Aggarwal N (2006) The infestation of *Vicia faba* L.(*Fabaceae*) by *Aphis fabae* (Scop.)(*Homoptera: Aphididae*) under the influence of *Lamiaceae* (*Ocimum basilicum* L. and *Satureja hortensis* L.). *Journal of Pest Science* 79:149-154
- Beizhou S, Jie Z, Jinghui H, Hongying W, Yun K, Yuncong Y (2010) Temporal dynamics of the arthropod community in pear orchards intercropped with aromatic plants. *Pest Management Science* 67(9), 1107-1114
- Beizhou S, Jie Z, Wiggins NL, Yuncong Y, Guangbo T, Xusheng S (2012) Intercropping With Aromatic Plants Decreases Herbivore Abundance, Species Richness, and Shifts Arthropod Community Trophic Structure. *Environmental Entomology* 41:872-879
- Bernays EA, Chapman RF (1994) Host-plant selection by phytophagous insects. Kluwer Academic Pub
- Birkett MA et al. (2000) New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:9329-9334
- Blackman R, Eastop V (2000) Aphids on the world's crops an identification and information guide. 2000. England, John Wiley & Sons
- Blackman RL, Eastop VF (1984) Aphids on the world's crops. An identification and information guide, 2nd edn. John Wiley & Sons Ltd., England
- Blackman RL, Eastop VF (1994) Aphids on the world's trees: an identification and information guide. Cab international
- Blackman RL, Eastop VF (2007) Taxonomic issues. *Aphids as Crop Pests*. ed. by H.F.Van Emden and R.Harrington, pp.1-30. CAB International, U.K.
- Brault V, Uzest M, Monsion B, Jacquot E, Blanc S (2010) Aphids as transport devices for plant viruses. *Comptes Rendus Biologies* 333:524-538

- Broad ST, Schellhorn NA, Lisson SN, Mendham NJ, Corkrey R (2008) Host location and parasitism of *Brevicoryne brassicae* in diversified broccoli cropping systems. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 129:166-171
- Bromley AK, Dunn JA, Anderson M (1979) Ultrastructure of the antennal sensilla of aphids. *Cell and Tissue Research* 203:427-442
- Bruce TJA et al. (2005a) Response of economically important aphids to components of *Hemizygia petiolata* essential oil. *Pest Management Science* 61:1115-1121
- Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock CM (2005b) Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science* 10:269-274
- Campbell C et al. (1990) Sex attractant pheromone of damson-hop aphid *Phorodon humuli* (Homoptera, Aphididae). *Journal of Chemical Ecology* 16:3455-3465
- Castro, Zavaleta-Mejia E, Zamudio-Guzman V (1990) Effect of association of cempoaxochitl (*Tagetes erecta* L.) with tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) or chilli (*Capsicum annuum* L.) on aphid populations in Tecamachalco, Puebla Efecto de la asociacion de cempoaxochitl (*Tagetes erecta* L.) con tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) o chile (*Capsicum annum* L.) sobre poblaciones de afidos en Tecamachalco, Puebla. *Revista Mexicana de Fitopatologia* 8:198-200
- Celiktas OY, Kocabas EEH, Bedir E, Sukan FV, Ozek T, Baser KHC (2007) Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry* 100:553-559
- Chapman RF, Bernays EA, Simpson SJ (1981) Attraction and repulsion of the aphid, *Cavariella aegopodii*, by Plant Odors. *Journal of Chemical Ecology* 7:881-888
- Choh Y, Shimoda T, Ozawa R, Dicke M, Takabayashi J (2004) Exposure of Lima Bean Leaves to Volatiles from Herbivore-Induced Conspecific Plants Results in Emission of Carnivore Attractants: Active or Passive Process? *Journal of Chemical Ecology* 30:1305-1317
- Chon SU, Nelson C (2010) Allelopathy in Compositae plants. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 30:349-358
- Colley M, Luna J (2000) Relative attractiveness of potential beneficial insectary plants to aphidophagous hoverflies (*Diptera: Syrphidae*). *Environmental Entomology* 29:1054-1059
- Collier RH, Finch S, Bcpc (2003) The effect of increased crop diversity on colonisation by pest insects of brassica crops. British Crop Protection Council, Farnham

- Comeau A (1992) La résistance aux pucerons: aspects théoriques et pratiques in La lutte biologique. Boucherville (Canada): Ed Gaëtan Morin, pp 433-449
- Costello MJ, Altieri MA (1995) Abundance, growth rate and parasitism of *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) on broccoli grown in living mulches. Agriculture, Ecosystems & Environment 52:187-196
- Cunningham SJ (1998) Great garden companions: a companion planting system for a beautiful, chemical-free vegetable garden. Rodale Books
- D'Alessandro M, Turlings TCJ (2006) Advances and challenges in the identification of volatiles that mediate interactions among plants and arthropods. Analyst 131:24-32
- Dagar JC, Minhas PS, Mukesh K (2011) Cultivation of medicinal and aromatic plants in saline environments. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 6:1-11
- Dahlin I, Ninkovic V (2013) Aphid performance and population development on their host plants is affected by weed–crop interactions. Journal of Applied Ecology 50:1281-1288
- Dancewicz K, Gabry B (2008) Effect of extracts of garlic (*Allium sativum* L.), wormwood (*Artemisia absinthium* L.) and tansy (*Tanaceum vulgare* L.) on the behaviour of the peach potato aphid *Myzus persicae* (Sulz.) during the settling on plants.
- Dawson GW et al. (1990) Aphid semiochemicals — A review, and recent advances on the sex pheromone. Journal of Chemical Ecology 16:3019-3030
- Delfine S, Loreto F, Pinelli P, Tognetti R, Alvino A (2005) Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress. Agriculture, Ecosystems & Environment 106:243-252
- De Kogel W, Visser J, Van Tol R (2000) Repellent odours to protect crops from aphids. Agro Food Industry Hi-Tech 11:42-44
- De Vos M, Jander G (2010) Volatile communication in plant–aphid interactions. Current Opinion in Plant Biology 13:366-371
- Dethier V, Browne BL (1960) The Designation of Chemicals in Terms of the Responses They Elicit from Insects1. Journal of Economic Entomology 53:134-136
- Devonshire AL, Field LM, Foster SP, Moores GD, Williamson MS, Blackman RL (1998) The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences 353:1677-1684

- Dewhurst SY et al. (2012) Activation of defence in sweet pepper, *Capsicum annum*, by cis-jasmone, and its impact on aphid and aphid parasitoid behaviour. Pest Management Science
- Dharmagadda VSS, Naik SN, Mittal PK, Vasudevan P (2005) Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. Bioresource Technology 96:1235-1240
- Dicke M, Hilker M (2003) Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. Basic and Applied Ecology 4:3-14
- Dicke M, Agrawal AA, Bruin J (2003a) Plants talk, but are they deaf? Trends in Plant Science 8:403-405
- Dicke M, van Poecke RMP, de Boer JG (2003b) Inducible indirect defence of plants: from mechanisms to ecological functions. Basic and Applied Ecology 4:27-42
- Dixon A (1977) Aphid ecology: life cycles, polymorphism, and population regulation. Annual Review of Ecology and Systematics 8:329-353
- Dixon A (1997) Patch quality and fitness in predatory ladybirds. Vertical Food Web Interactions. Springer, pp 205-223
- Dixon AFG (1998) Aphid Ecology An optimization approach: An Optimization Approach. Springer
- Dong M, Zhang D, Du X (2011) The relationship between aphids and their natural enemies and the ecological management. Acta Phytophylacica Sinica 38:327-332
- Döring TF, Chittka L (2007) Visual ecology of aphids—a critical review on the role of colours in host finding. Arthropod-Plant Interactions 1:3-16
- Douglas AE (2003) The nutritional physiology of aphids. Advances in Insect Physiology 31:73-140
- Duchamp-Viret P, Duchamp A, Chaput MA (2003) Single olfactory sensory neurons simultaneously integrate the components of an odour mixture. European Journal of Neuroscience 18:2690-2696
- Dunn J (1969) The colonization by *Cavariella aegopodii* Scop, of carrot plants of different sizes. Annals of Applied Biology 63:318-324
- Eigenbrode SD, Ding H, Shiel P, Berger PH (2002) Volatiles from potato plants infected with potato leafroll virus attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences 269:455

- Emden H, Eastop V, Hughes R, Way M (1969) The ecology of *Myzus persicae*. Annual review of entomology 14:197-270
- Facknath S, Lalljee B (2008) Study of Various Extracts of *Ayapana triplinervis* for their Potential in Controlling Three Insect Pests of Horticultural Crops. Tropicultura 26:119-124
- Farmer EE (2001) Surface-to-air signals. Nature 411:854-856
- Farmer EE, Ryan CA (1990) Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. Proceedings of the National Academy of Sciences 87:7713
- Farooq M, Jabran K, Cheema ZA, Wahid A, Siddique KHM (2011) The role of allelopathy in agricultural pest management. Pest Management Science 67:493-506
- Feeny P (1976) Plant apparency and chemical defense. Biochemical interaction between plants and insects. Springer, pp 1-40
- Feng D, Yang B (2011) Effects of *Tagetes patula* Mixed Planted with *Rosa chinensis* on *Macrosiphum rosirvorum* Zhang. Hubei Agricultural Sciences 8:025
- Filella I, Penuelas J, Seco R (2009) Short-chained oxygenated VOC emissions in *Pinus halepensis* in response to changes in water availability. Acta Physiologiae Plantarum 31:311-318
- Finch S, Collier R (2000) Host-plant selection by insects—a theory based on ‘appropriate/inappropriate landings’ by pest insects of cruciferous plants. Entomologia Experimentalis et Applicata 96:91-102
- Finch S, Collier RH (2012) The influence of host and non-host companion plants on the behaviour of pest insects in field crops. Entomologia Experimentalis et Applicata
- Finch S, Skinner G (1982) Upwind flight by the cabbage root fly, *Delia radicum*. Physiological Entomology 7:387-399
- Flowerdew J (1997) Mammal biodiversity in agricultural habitats Biodiversity and conservation in agriculture: proceedings of an international symposium organised by the British Crop Protection Council and held at the Stakis Brighton Metropole Hotel, UK, on 17 November 1997
- Foster S, Harris M (1997) Behavioral manipulation methods for insect pest-management. Annual review of entomology 42:123-146
- Foster SP, Harrington R, Dewar AM, Denholm I, Devonshire AL (2002) Temporal and spatial dynamics of insecticide resistance in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). Pest Management Science 58:895-907

- Francis F, Lognay G, Haubruge E (2004) Olfactory responses to aphid and host plant volatile releases:(E)- α -farnesene an effective kairomone for the predator *Adalia bipunctata*. *Journal of Chemical Ecology* 30:741-755
- Frost CJ, Appel HM, Carlson JE, De Moraes CM, Mescher MC, Schultz JC (2007) Within-plant signalling via volatiles overcomes vascular constraints on systemic signalling and primes responses against herbivores. *Ecology Letters* 10:490-498
- Gabrys B, Dancewicz K, Halarewicz-Pacan A, Janusz E (2005) Effect of natural monoterpenes on the behaviour of the peach potato aphid, *Myzus persicae* (Sulz.). *Bulletin OILB/SROP* 28:29-34
- Gabrys B, Tjallingii W, Van Beek T (1997) Analysis of EPG recorded probing by cabbage aphid on host plant parts with different glucosinolate contents. *Journal of Chemical Ecology* 23:1661-1673
- Gadgil M, Berkes F, Folke C (1993) Indigenous Knowledge for Biodiversity Conservation. *Ambio* 22:151-156
- Gao N, Foster RG, Hardie J (2000) Two opsin genes from the vetch aphid, *Megoura viciae*. *Insect Molecular Biology* 9:197-202
- Gibson RW, Rice AD (1989) Modifying aphid behaviour in Aphids, their biology, natural enemies and control. Amsterdam : A.K. Minks & P. Harrewijn, Ed Elsevier 2C:209-224
- Gish M, Inbar M (2006) Host location by apterous aphids after escape dropping from the plant. *Journal of insect behavior* 19:143-153
- Glinwood R (2010) Volatiles chemical interaction between undamaged plants : effects at higher trophics levels. in: Plant communication from an ecological perspective. eds Baluška, František Ninkovic, Velemir. Springer Heidelberg Dordrecht London, New York
- Glinwood R, Ninkovic V, Pettersson J (2011) Chemical interaction between undamaged plants – Effects on herbivores and natural enemies. *Phytochemistry* 72:1683-1689
- Glinwood R, Ninkovic V, Pettersson J, Ahmed E (2004) Barley exposed to aerial allelopathy from thistles (*Cirsium spp.*) becomes less acceptable to aphids. *Ecological Entomology* 29:188-195
- Glinwood R, Pettersson J, Ahmed E, Ninkovic V, Birkett M, Pickett J (2003) Change in Acceptability of Barley Plants to Aphids After Exposure to Allelochemicals from Couch-Grass (*Elytrigia repens*). *Journal of Chemical Ecology* 29:261-274

- González-Coloma A, Martín-Benito D, Mohamed N, García-Vallejo MC, Soria AC (2006) Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochemical Systematics and Ecology* 34:609-616
- Gutiérrez C, Fereres A, Reina M, Cabrera R, González-Coloma A (1997) Behavioral and Sublethal Effects of Structurally Related Lower Terpenes on *Myzus persicae*. *Journal of Chemical Ecology* 23:1641-1650
- Halbert SE, Corsini D, Wiebe M, Vaughn SF (2009) Plant-derived compounds and extracts with potential as aphid repellents. *Annals of Applied Biology* 154:303-307
- Hardie J, Isaacs R, Pickett J, Wadhams L, Woodcock C (1994) Methyl salicylate and (–)-(1R,5S)-myrtenal are plant-derived repellents for black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. (*Homoptera: Aphididae*). *Journal of Chemical Ecology* 20:2847-2855
- Hardie J, Vaz Nunes M (2001) Aphid photoperiodic clocks. *Journal of Insect Physiology* 47:821-832
- Harmel N, Francis F, Haubruge E, Giordanengo P (2008) Physiologie des interactions entre pomme de terre et pucerons: vers une nouvelle stratégie de lutte basée sur les systèmes de défense de la plante. *Cahiers Agricultures* 17:395-400
- Heil M (2010) Within-plant signalling by volatiles triggers systemic defences. *Plant Communication from an Ecological Perspective*. Springer, pp 99-112
- Heil M, Karban R (2010) Explaining evolution of plant communication by airborne signals. *Trends in Ecology & Evolution* 25:137-144
- Heil M, Silva Bueno JC (2007) Within-plant signaling by volatiles leads to induction and priming of an indirect plant defense in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104:5467
- Herrbach E (1985) Rôle des sémiochimiques dans les relations pucerons-plantes. II. Les substances allélochimiques. *Agronomie* 5:375-384
- Hildebrand JG, Shepherd GM (1997) Mechanisms of olfactory discrimination: converging evidence for common principles across phyla. *Annual review of neuroscience* 20:595-631
- Himanen SJ, Blande JD, Klemola T, Pulkkinen J, Heijari J, Holopainen JK (2010) Birch (*Betula spp.*) leaves adsorb and re-release volatiles specific to neighbouring plants – a mechanism for associational herbivore resistance? *New Phytologist* 186:722-732
- Hodgson C (1991) Dispersal of apterous aphids (*Homoptera: Aphididae*) from their host plant and its significance. *Bulletin of Entomological Research* 81:417-427

- Hokkanen HMT (1991) Trap cropping in pest management. Annual review of entomology 36:119-138
- Holopainen JK (2004) Multiple functions of inducible plant volatiles. Trends in Plant Science 9:529-533
- Hooks CRR, Johnson MW (2003) Impact of agricultural diversification on the insect community of cruciferous crops. Crop Protection 22:223-238
- Hori M (1998) Repellency of Rosemary Oil Against *Myzus persicae*; in a Laboratory and in a Screenhouse. 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 34:113-118
- Hori M, 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, Harada H (1995) Screening plants resistant to green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae).
- Huang Y, Chen SX, Ho SH (2000) Bioactivities of methyl allyl disulfide and diallyl trisulfide from essential oil of garlic to two species of stored-product pests, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Economic Entomology 93:537-543
- Hunter A, Aarssen L (1988) Plants helping plants. BioScience 38:34-40
- Hurej M (2000) Trap plants and their application in plant protection against pests. Progress in plant protection 40:249-253
- Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, Przybylski R (2008) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry 108:986-995
- Hussein M, Samad NA (1993) Intercropping chilli with maize or brinjal to suppress populations of *Aphis gossypii* Glov., and transmission of chilli viruses. International Journal of Pest Management 39:216-222
- Ikeura H, Kobayashi F, 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:p139
- Isman M (1999) Pesticides based on plant essential oils. Pesticide Outlook 10

- Isman MB (2000) Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19:603-608
- Jaloux B (2011) Cultures associées et contrôle des populations de pucerons, mécanismes et perspectives. *Journées Techniques Nationales Fruits & Légumes Biologiques*:76-80
- Jankowska B, Poniedziaek M, Jedrszczyk E (2009) Effect of intercropping white cabbage with French Marigold (*Tagetes patula* nana L.) and Pot Marigold (*Calendula officinalis* L.) on the colonization of plants by pest insects. *Folia Horticulturae* 21:95-103
- Jarmo KH (2004) Multiple functions of inducible plant volatiles. *Trends in Plant Science* 9:529-533
- Jeanneret P, Schüpbach B, Luka H (2003) Quantifying the impact of landscape and habitat features on biodiversity in cultivated landscapes. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 98:311-320
- Jordens Rottger D (1979) The role of phenolic substances for host-selection behaviour of the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 26:49-54
- Karban R, Maron J (2002) The fitness consequences of interspecific eavesdropping between plants. *Ecology* 83:1209-1213
- Karban R, Baldwin I, Baxter K, Laue G, Felton G (2000) Communication between plants: induced resistance in wild tobacco plants following clipping of neighboring sagebrush. *Oecologia* 125:66-71
- Karban R (2001) Communication between sagebrush and wild tobacco in the field. *Biochemical Systematics and Ecology* 29:995-1005
- Karban R (2007) Associational resistance for mule's ears with sagebrush neighbors. *Plant Ecology* 191:295-303
- Kassimi A, El Watik L, Moumni M (2012) Study of the insecticidal effect of Oregano and Thyme essential oils and Neem carrier oil on the alfalfa aphid. *Journal of Environmental Solutions* 1:1-5
- Kirchner SM, Doring TF, Saucke H (2005) Evidence for trichromacy in the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulz.) (*Hemiptera: Aphididae*). *Journal of Insect Physiology* 51:1255-1260
- Klingauf F (1987) Host plant finding and acceptance. *Aphids: their biology, natural enemies and control* 2:209-223

- Kloen H, Altieri MA (1990) Effect of mustard (*Brassica hirta*) as a non-crop plant on competition and insect pests in broccoli (*Brassica oleracea*). Crop Protection 9:90-96
- Kost C, Heil M (2006) Herbivore-induced plant volatiles induce an indirect defence in neighbouring plants. Journal of Ecology 94:619-628
- Kring JB (1977) Structure of the eyes of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. Annals of the Entomological Society of America 70:855-860
- 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
- Landis DA, Wratten SD, Gurr GM (2000) Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. Annual review of entomology 45:175-201
- Lattanzio V, Arpaia S, Cardinali A, Di Venere D, Linsalata V (2000) Role of endogenous flavonoids in resistance mechanism of Vigna to aphids. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48:5316-5320
- Lattanzio V, Lattanzio VM, Cardinali A (2006) Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. Phytochemistry: Advances in research 66:23-67
- Lawrence E (2005) Henderson's dictionary of biology. Pearson Education
- Le Guigo P, Qu Y, Le Corff J (2010) Plant-mediated effects on a toxin-sequestering aphid and its endoparasitoid. Basic and Applied Ecology 12:72-79
- Leszczynski B, Warchol J, Niraz S (1985) influence of phenolic compounds on the preference of winter wheat cultivars by cereal aphids. Insect science and its application 1985
- Li W, Fu G, Chai X, Wang Y, Zhang Y, Yuan G (2010) Recognition responses of apterous *Myzus persicae* to the visual and olfactory cues from *Propylaea japonica* adults. Acta Entomologica Sinica 53:354-359
- Liu Y, Ni H, Sun J, Hu C (2001) Different olfactory responses of wheat aphids to the volatiles of wheat plant with different resistant levels. Scientia Agricultura Sinica 34:391-395
- Lombaert E, Boll R, 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
- Lopez R, Shepard BM (2007) Arthropods associated with medicinal plants in coastal South Carolina. Insect Science 14:519-524
- Loreto F, Schnitzler J-P (2010) Abiotic stresses and induced BVOCs. Trends in Plant Science 15:154-166

- Moccaldi LA, Runkle ES (2007) Modeling the effects of temperature and photosynthetic daily light integral on growth and flowering of *Salvia splendens* and *Tagetes patula*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 132:283-288
- MacLeod A (1992) Alternative crops as floral resources for beneficial hoverflies (*Diptera: Syrphidae*). *Proceedings - Brighton Crop Protection Conference Pests and Diseases - 1992 Brighton, November 23-26, 1992*:997-1002
- Malézieux E et al. (2009) Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 29:43-62
- Månsson PE (2005) Host selection and antifeedants in *Hylobius abietis* pine weevils
- Mathews CR, Bottrell DG, Brown M (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
- Masatoshi H (1999) Role of host plant odors in the host finding behaviors of aphids. *Applied entomology and zoology* 34:293-298
- Matson PA, Parton WJ, Power A, Swift M (1997) Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* 277:504-509
- Mayse MA (1983) Culture control in crop fields: A habitat management technique. *Environmental Management* 7:15-22
- Mensah R (1997) Local density responses of predatory insects of *Helicoverpa spp.* to a newly developed food supplement 'Envirofeast' in commercial cotton in Australia. *International Journal of Pest Management* 43:221-225
- Menzel R (1979) Spectral sensitivity and color vision in invertebrates. *Comparative physiology and evolution of vision in invertebrates*. Springer, pp 503-580
- Miles PW (1989) The responses of plants to the feeding of *Aphidoidea*: principles. In: *Aphids their biology, natural enemies and control*. Edited by Minks AK, Harrewijn, P. Elsevier vol. 2C:1-21
- Miñarro M, Hemptinne J-L, Dapena E (2005) Colonization of apple orchards by predators of *Dysaphis plantaginea*: sequential arrival, response to prey abundance and consequences for biological control. *BioControl* 50:403-414
- Miyazaki M (1987) Forms and morphs of aphids. *Aphids: their biology, natural enemies, and control*/edited by AK Minks and P. Harrewijn
- Mizutani F, Sugaya K, Yamauchi Y (2010) Intercropping of buckwheat as an insectary plant for hover flies of aphid enemy in non-pesticide peach orchard. *Bulletin of the Experimental Farm, Faculty of Agriculture, Ehime University*:1-6

- Morales H, Perfecto I (2000) Traditional knowledge and pest management in the Guatemalan highlands. *Agriculture and Human Values* 17:49-63
- Mowry TM (2005) Insecticidal reduction of Potato leafroll virus transmission by *Myzus persicae*. *Annals of Applied Biology* 146:81-88
- Müller CB, Williams IS, Hardie J (2001) The role of nutrition, crowding and interspecific interactions in the development of winged aphids. *Ecological Entomology* 26:330-340
- Munneke M, Bruin A-d, Moskal J, van Tol R (2004) Repellence and toxicity of plant essential oils to the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae* proceedings of the section experimental and applied entomology-netherlands entomological society, vol. 15, pp 81-86
- Murugan K, Murugan P, Noortheen A (2007) Larvicidal and repellent potential of *Albizia amara* Boivin and *Ocimum basilicum* Linn against dengue vector, *Aedes aegypti* (Insecta: Diptera:Culicidae). *Bioresource Technology* 98:198-201
- Mutiga SK, Gohole LS, Auma EO (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
- Nault L (1997) Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Annals of the Entomological Society of America* 90:521-541
- Ngassoum MB, Ousmaila H, Ngamo LT, Maponmetsem PM, Jirovetz L, Buchbauer G (2004) Aroma compounds of essential oils of two varieties of the spice plant *Ocimum canum* Sims from northern Cameroon. *Journal of Food Composition and Analysis* 17:197-204
- Ninkovic V (2003) Volatile communication between barley plants affects biomass allocation. *Journal of experimental botany* 54:1931
- Ninkovic V, Dahlin I, Vucetic A, Petrovic-Obradovic O, Glinwood R, Webster B (2013) Volatile Exchange between Undamaged Plants - a New Mechanism Affecting Insect Orientation in Intercropping. *Plos One* 8
- Ninkovic V, Glinwood R, Dahlin I (2009) Weed–barley interactions affect plant acceptance by aphids in laboratory and field experiments. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 133:38-45
- Ninkovic V, Olsson U, Pettersson J (2002) Mixing barley cultivars affects aphid host plant acceptance in field experiments. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 102:177-182

- Niraz S, Leszczyński B, Ciepiela A, Urbańska A (1987) The importance of various plant chemical compounds to constitutive aphid resistance in winter wheats. *Rocz. Nauk Rol* 17:61-70
- Niraz S, Leszczyński B, Ciepiela A, Urbańska A, Warchol J (1985) Biochemical aspects of winter wheat resistance to aphids. *Insect. Sci. Appl* 6:253-257
- Nottingham S et al. (1991) Behavioral and electrophysiological responses of Aphids to host and nonhost plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 17:1231-1242
- Nottingham SF, Hardie JIM (1993) Flight behaviour of the black bean aphid, *Aphis fabae*, and the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*, in host and non-host plant odour. *Physiological Entomology* 18:389-394
- Novoplansky A (2009) Picking battles wisely: plant behaviour under competition. *Plant, Cell & Environment* 32:726-741
- Ormeño E et al. (2007) Effect of Intraspecific Competition and Substrate Type on Terpene Emissions from Some Mediterranean Plant Species. *Journal of Chemical Ecology* 33:277-286
- Park K, Hardie J (1998) An improved aphid electroantennogram. *Journal of Insect Physiology* 44:919-928
- Park KC, Hardie J (2002) Functional specialisation and polyphenism in aphid olfactory sensilla. *Journal of Insect Physiology* 48:527-535
- Parker JE, Snyder WE, Hamilton GC, Rodriguez-Saona C (2013) Companion Planting and Insect Pest Control. In: Soloneski S, Larramendy M (eds) *Agricultural and biological sciences, weed and pest control-conventional and new challenges*. InTech, p 30
- Pavela R (2006) Insecticidal activity of essential oils against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 9:99-106
- Pavela R, Vrchotová N, Sera B (2009) Repellency and toxicity of three Impatiens species (*Balsaminaceae*) extracts on *Myzus persicae* Sulzer (*Homoptera: Aphididae*). *Journal of Biopesticides* 2:48-51
- Pettersson J (1970) Studies on *Rhopalosiphum padi* (L.). I. Laboratory studies on olfactometric responses to the winter host *Prunus padus* L. Uppsala Lantbrukshögsk Ann
- Pettersson J (1973) Olfactory reactions of *Brevicoryne brassicae* (L.) (*Homoptera, Aphididae*). *Swedish journal of agricultural research* 1973
- Pettersson J, Tjallingii WF, Hardie J (2007) 4 Host-plant Selection and Feeding. *Aphids as crop pests*:87

- Pickett J, Wadhams L, Woodcock C (1997) Developing sustainable pest control from chemical ecology. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 64:149-156
- Pickett J, Wadhams L, Woodcock C, Hardie J (1992) The chemical ecology of aphids. *Annual review of entomology* 37:67-90
- Pino JA, Fuentes V, Correa MT (2001) Volatile Constituents of Chinese Chive (*Allium tuberosum* Rottl. ex Sprengel) and Rakkyo (*Allium chinense* G. Don). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:1328-1330
- Poessel JLS, M. H.; Staudt, M.; et al. (2013) Metabolite profiling and feeding bioassays suggest a major role for a dicaffeoylquinic acid in induced resistance of peach to *Myzus persicae* aphid. *Proceedings of the IOBC/WPRS Working Group "Induced resistance in plants against insects and diseases"*, Neuchatel, Switzerland, 4-8 September 2011. *IOBC/WPRS Bulletin* Volume: 88 Pages: 181
- Potting RPJ, Perry JN, Powell W (2005) Insect behavioural ecology and other factors affecting the control efficacy of agro-ecosystem diversification strategies. *Ecological Modelling* 182:199-216
- Potts MJ, Gunadi N (1991) The influence of intercropping with *Allium* on some insect populations in potato (*Solanum tuberosum*). *Annals of Applied Biology* 119:207-213
- Powell G, Hardie J (2000) Host-selection behaviour by genetically identical aphids with different plant preferences. *Physiological Entomology* 25:54-62
- Powell G, Maniar SP, Pickett JA, Hardie J (1999) Aphid responses to non-host epicuticular lipids *Proceedings of the 10th International Symposium on Insect-Plant Relationships*. Springer, pp 115-123
- Powell G, Tosh CR, Hardie J (2006) Host plant selection by aphids: Behavioral, evolutionary, and applied perspectives. *Annual Review of Entomology* 51:309-330
- Preston CA, Laue G, Baldwin IT (2004) Plant–plant signaling: application of trans- or cis-methyl jasmonate equivalent to sagebrush releases does not elicit direct defenses in native tobacco. *Journal of Chemical Ecology* 30:2193-2214
- Radcliffe EB (1982) Insect pests of potato. *Annual review of entomology* 27:173-204
- Ramesh K, Singh V (2008) Effect of planting date on growth, development, aerial biomass partitioning and essential oil productivity of wild marigold (*Tagetes minuta*) in mid hills of Indian western Himalaya. *Industrial Crops and Products* 27:380-384
- Rasmann S et al. (2005) Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature* 434:732-737

- Reigosa MJ, Sánchez-Moreiras A, González L (1999) Ecophysiological approach in allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18:577-608
- Renwick J (1989) Chemical ecology of oviposition in phytophagous insects. *Cellular and Molecular Life Sciences* 45:223-228
- Riba G, Silvy C (1989) Combattre les ravageurs des cultures: enjeux et perspectives. Editions Quae
- Rice EL (1984) Allelopathy. Academic press
- Richard K (2001) Communication between sagebrush and wild tobacco in the field. *Biochemical Systematics and Ecology* 29:995-1005
- Robert P-C (1986) Les relations plantes-insectes phytophages chez les femelles pondeuses: le rôle des stimulus chimiques et physiques. Une mise au point bibliographique. *Agronomie* 6:127-142
- Röse UR, Tumlinson JH (2004) Volatiles released from cotton plants in response to *Helicoverpa zea* feeding damage on cotton flower buds. *Planta* 218:824-832
- Rousse P, Fournet S, Porteneuve C, Brunel E (2003) Trap cropping to control *Delia radicum* populations in cruciferous crops: first results and future applications. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 109:133-138
- Régnauld-Roger C (1997) The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews* 2:25-34
- Sampson BJ et al. (2005) Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Aphididae: Homoptera). *Pest Management Science* 61:1122-1128
- Sarker P, Rahman M, Das B (2009) Effect of Intercropping with Mustard with Onion and Garlic on Aphid Population and Yield. *Journal of Bio-Science* 15:35-40
- Schaller M, Nentwig W (2000) Olfactory orientation of the seven-spot ladybird beetle, *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae): attraction of adults to plants and conspecific females. *European Journal of Entomology* 97:155-160
- Schooley RL, Wiens JA (2003) Finding habitat patches and directional connectivity. *Oikos* 102:559-570
- Schoonhoven LM, van Loon JJA, Dicke M (2005) Insect-plant biology. from physiology to evolution. Oxford University Press, Oxford, UK
- Schröder R, Hilker M (2008) The relevance of background odor in resource location by insects: A behavioral approach. *BioScience* 58:308-316

- Shelton A, Badenes-Perez F (2006) Concepts and applications of trap cropping in pest management. *Annu. Rev. Entomol.* 51:285-308
- Shelton A, Nault B (2004) Dead-end trap cropping: a technique to improve management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Crop Protection* 23:497-503
- Shinoda T et al. (2002) Identification of a triterpenoid saponin from a crucifer, *Barbarea vulgaris*, as a feeding deterrent to the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Journal of Chemical Ecology* 28:587-599
- Shrivastava G, Rogers M, Wszelaki A, Panthee DR, Chen F (2010) Plant Volatiles-based Insect Pest Management in Organic Farming. *Critical Reviews in Plant Sciences* 29:123-133
- Simon J-C, Stoeckel S, Tagu D (2010) Evolutionary and functional insights into reproductive strategies of aphids. *Comptes Rendus Biologies* 333:488-496
- Singh HP, Batish DR, Kohli RK (2001) Allelopathy in Agroecosystems. *Journal of Crop Production* 4:1-41
- Slesak E, Slesak M, Gabrys B (2001) Effect of methyl jasmonate on hydroxamic acid content, protease activity, and bird cherry oat aphid *Rhopalosiphum padi* (L.) probing behavior. *Journal of Chemical Ecology* 27:2529-2543
- Smith JG (1976) Influence of crop background on aphids and other phytophagous insects on Brussels sprouts. *Annals of Applied Biology* 83:1-13
- Sauvion N, Calatayud P-A, Thiéry D, Marion-Poll F (2013) Interactions insectes-plantes. Editions Quae
- Spellman B, Brown M, Mathews C (2006) Effect of floral and extrafloral resources on predation of *Aphis spiraecola* by *Harmonia axyridis*; on Apple. *BioControl* 51:715-724
- Srinivasan K, Krishna Moorthy P (1992) Development and adoption of integrated pest management for major pests of cabbage using Indian mustard as a trap crop, pp 10-14
- Storer JR, Powell G, Hardie J (1996) Settling responses of aphids in air permeated with non-host plant volatiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80:76-78
- Szumny A, Figiel A, Gutiérrez-Ortiz A, Carbonell-Barrachina ÁA (2010) Composition of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) as affected by drying method. *Journal of Food engineering* 97:253-260

- Tahvanainen JO, Root RB (1972) The influence of vegetational diversity on the population ecology of a specialized herbivore, *Phyllotreta cruciferae* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Oecologia* 10:321-346
- Talekar N, Shelton A (1993) Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annual review of entomology* 38:275-301
- Tang GB et al. (2013) Repellent and attractive effects of herbs on insects in pear orchards intercropped with aromatic plants. *Agroforestry systems*:1-13
- Tao Y et al. (2008) Rapid synthesis of auxin via a new tryptophan-dependent pathway is required for shade avoidance in plants. *Cell* 133:164-176
- Thiery D, Visser JH (1986) Masking of host plant odour in the olfactory orientation of the Colorado potato beetle. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 41:165-172
- Tomova BS, Waterhouse JS, Doberski J (2005) The effect of fractionated Tagetes oil volatiles on aphid reproduction. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 115:153-159
- Tosh CR, Powell G, Hardie J (2002) Maternal reproductive decisions are independent of feeding in the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Journal of Insect Physiology* 48:619-629
- Tscharntke T, Thiessen S, Dolch R, Boland W (2001) Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*. *Biochemical Systematics and Ecology* 29:1025-1047
- Turlings T, Tumlinson JH (1992) Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89:8399
- Turlings TCJ, Tumlinson JH, Lewis WJ (1990) Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* 250:1251
- Vandermeer JH (1992) The ecology of intercropping. Cambridge Univ Pr
- Vargas RR, Troncoso AJ, Tapia DH, Olivares-Donoso R, Niemeyer HM (2005) Behavioural differences during host selection between alate virginoparae of generalist and tobacco-specialist *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 116:43-53
- Visser J, Avé D (1978) General green leaf volatiles in the olfactory orientation of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 24:738-749
- Visser JH (1986) Host Odor Perception in Phytophagous Insects. *Annual review of entomology* 31:121-144

- Visser JH, Piron PGM (1997) Odour response profiles in aphids differentiating for species, clone, form and food Proceedings of the 8th meeting of experimental and applied entomologists held in Utrecht on 13 December 1996., vol. 8, pp 115-120
- Visser JH, Piron PGM, Hardie J (1996) The aphids' peripheral perception of plant volatiles. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 80:35-38
- Wells C, Bertsch W, Perich M (1992) Isolation of volatiles with insecticidal properties from the genus *Tagetes* (Marigold). *Chromatographia* 34:241-248
- White AJ, Wratten SD, Berry NA, Weigmann U (1995) Habitat manipulation to enhance biological control of *Brassica* pests by hover flies (*Diptera: Syrphidae*). *Journal of Economic Entomology* 88:1171-1176
- Will T, van Bel AJE (2006) Physical and chemical interactions between aphids and plants. *Journal of experimental botany* 57:729
- Wool D (2004) Gallling aphids: specialization, biological complexity, and variation. *Annual Reviews in Entomology* 49:175-192
- Yamasaki T, SATO M, Sakoguchi H (1997) (-)-Germacrene D: Masking Substance of Attractants for the Cerambycid Beetle, *Monochamus alternatus* (HOPE). *Applied entomology and zoology* 32:423-429
- Yano E (2006) Ecological considerations for biological control of aphids in protected culture. *Population Ecology* 48:333-339
- Zhang Q-H, Schlyter F (2003) Redundancy, Synergism, and Active Inhibitory Range of Non-Host Volatiles in Reducing Pheromone Attraction in European Spruce Bark Beetle *Ips typographus*. *Oikos* 101:299-310
- Zhang Q-H, Schlyter F (2004) Olfactory recognition and behavioural avoidance of angiosperm nonhost volatiles by conifer-inhabiting bark beetles. *Agricultural and Forest Entomology* 6:1-20

Abstract

In this work, the effect of intercropping companion plants (CP) near a host plant (*Capsicum annuum*) on the performance and the installation of an aphid's population (*Myzus persicae*) was studied to contribute to the search of alternative and innovative methods of pests control. First, a bibliographic study based on the literature and traditional gardening was performed to identify mediterranean CP characterized by their insecticidal and mainly aphicide properties. We selected thirteen CP: *Rosmarinus officinalis*, *Lavandula latifolia*, *Ocimum basilicum*, *Tagetes patula*, *Tagetes erecta*, *Pelargonium zonal*, *Calendula officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Satureja hortensis*, *Mentha piperita*, *Allium schoenoprasum*, *Carthamus tinctorius*, *Dittrichia viscosa*. In a second step, we investigated the settling of *Myzus persicae* on its host plant when intercropped with CP under controlled conditions. The results showed that intercropping with some species such as *R. officinalis*, *T. patula*, *T. erecta*, *P. zonal*, *L. latifolia*, *O. basilicum*, *C. officinalis* or *A. schoenoprasum*, affects the survival and / or female fecundity over time compared to the control. We also characterized each plant by a volatile compounds profile and looked for relationships between these profiles and the effectiveness of CP. Then, we investigated the mechanisms of action of a CP. We studied the direct effect of CP on aphids by olfactometric tests. We found that, in the presence of *R. officinalis*, flowering *T. patula*, *zonal P.*, *L. latifolia*, *O. basilicum*, or *M. piperita*, females prefer the odor of its host plant. We also tested a second hypothesis that VOCs emitted by a CP may affect the host plant. Plants were preconditioned with CP for five days. This preconditioning modified the volatile profile of pepper but had only a negative effect on the settling of aphids on pepper preconditioned with *T. patula*. Finally, we tested the association with *R. officinalis*, *L. latifolia* and *O. basilicum* under greenhouse conditions. We found a significant effect on the settling of aphid when using these CP and a decrease of rosemary efficiency when moving away from rosemary plants. The larger effect was observed on peppers located close to rosemary. These data provide new avenues of research and indication on judiciously CP that could be intercropped within agro-ecosystems.

Keywords: aphid, *Myzus persicae*, companion plants, intercropping, volatile organic compounds, allelobiose, repulsion

Résumé

Dans ce travail, l'effet de la présence de certaines plantes de service (PdS) à proximité d'une plante hôte (*Capsicum annuum*) sur le comportement et l'installation d'une population de puceron (*Myzus persicae*) a été étudié afin de contribuer à la recherche de méthodes de lutte alternatives et innovantes contre ces insectes.

Dans une première étape, une étude bibliographique a été réalisée, à partir de la littérature et des connaissances sur des pratiques de jardinage traditionnel afin d'identifier des PdS méditerranéennes caractérisées par leurs propriétés insecticides et surtout aphicides. Nous avons sélectionné treize PdS : *Rosmarinus officinalis*, *Lavandula latifolia*, *Ocimum basilicum*, *Tagetes patula*, *Tagetes erecta*, *Pelargonium zonal*, *Calendula officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Satureja hortensis*, *Mentha piperita*, *Allium schoenoprasum*, *Carthamus tinctorius*, *Dittrichia viscosa*. Nous avons étudié dans une deuxième étape, le comportement d'installation de *Myzus persicae* sur sa plante hôte en présence d'une PdS en conditions contrôlées. Les résultats de ces travaux ont montré que la présence de certaines espèces comme *R. officinalis*, *T. patula*, *T. erecta*, *P. zonal*, *L. latifolia*, *O. basilicum*, *C. officinalis* ou *A. schoenoprasum*, affectait la survie et /ou la fécondité des femelles au cours du temps en comparaison avec le témoin. Nous avons aussi caractérisé chaque plante par un profil de composés volatils et rechercher des relations entre ces profils de COV et l'efficacité des PdS.

Ensuite nous nous sommes intéressés aux mécanismes d'action des PdS et nous avons étudié l'effet direct des PdS sur les pucerons par olfactométrie. Nous avons trouvé qu'en présence de *R. officinalis*, *T. patula* en fleur, *P. zonal*, *L. latifolia*, *O. basilicum*, ou *M. piperita* les femelles se dirigent préférentiellement vers l'odeur de leur plante hôte. Nous avons également testé une deuxième hypothèse correspondant à l'effet des COV émis par les PdS sur la plante hôte. Pour cela les plantes hôtes ont été pré-conditionnées avec les PdS pendant 5 jours. Ce pré-conditionnement a modifié le profil volatil du poivron et a eu un effet négatif sur l'installation des pucerons sur les poivrons pré-conditionnés avec *T. patula*. Enfin, nous avons testé l'efficacité de l'association avec *R. officinalis*, *L. latifolia* ou *O. basilicum* dans des conditions de cultures moins confinées (sous tunnels). Nous avons retrouvé un effet significatif sur le comportement du puceron de ces PdS. Dans le cas du romarin nous avons observé une diminution de l'efficacité de l'association lorsque l'on s'éloigne des plantes de romarin. L'efficacité maximale a été observée sur les poivrons placés à côté du romarin. A plus grande distance, l'efficacité des PdS diminuait et n'était plus significative. Ces données offrent des nouvelles pistes de recherche en vue de l'utilisation judicieuse des PdS au sein des agroécosystèmes.

Mots clés : puceron, *Myzus persicae*, plante de service, compagnonnage, composés organiques volatils, allélobiose, répulsion