



Intégration de la Cameline au sein des agro-écosystèmes : des relations multi-trophiques complexes

Quentin Chesnais

► To cite this version:

Quentin Chesnais. Intégration de la Cameline au sein des agro-écosystèmes : des relations multi-trophiques complexes. Sciences agricoles. Université de Picardie Jules Verne, 2016. Français. <NNT : 2016AMIE0030>. <tel-03651140>

HAL Id: tel-03651140

<https://theses.hal.science/tel-03651140v1>

Submitted on 25 Apr 2022

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.



HAL Authorization

Thèse de Doctorat

*Mention Sciences Écologiques
Spécialité AgroÉcologie et Écophysiologie*

présentée à *l'Ecole Doctorale en Sciences Technologie et Santé (ED 585)*

de l'Université de Picardie Jules Verne

par

Quentin CHESNAIS

pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Picardie Jules Verne

***Intégration de la Cameline au sein des agro-écosystèmes :
des relations multi-trophiques complexes.***

Soutenue le 08.12.2016, après avis des rapporteurs, devant le jury d'examen :

M ^{me} A.M. CORTESERO, Professeur à l'Université de Rennes 1	Rapporteur
M. T. HANCE, Professeur à l'Université Catholique de Louvain	Rapporteur
M. S. BLANC, Directeur de Recherche INRA - Montpellier	Examineur
M. D. GIRON, Directeur de Recherche CNRS - Tours	Examineur
M. A. AMELINE, Maître de Conférences - HDR à l'UPJV	Directeur
M ^{me} A. COUTY, Maître de Conférences à l'UPJV	Co-Directeur

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé et financé, en partenariat avec la SAS PIVERT, dans le cadre de l'Institut pour la Transition Energétique (ITE) P.I.V.E.R.T. (www.institut-pivert.com/fr) retenu parmi les Investissements d'Avenir. Ce travail a bénéficié d'une aide de l'État au titre du programme d'Investissements d'avenir portant la référence ANR-001-01. Je tiens donc, en premier lieu, à remercier vivement Mr Gilles RAVOT, Directeur Général de la SAS PIVERT, pour m'avoir accueilli et financé au sein de l'entreprise durant ces trois années. J'en profite également pour remercier l'équipe de la SAS PIVERT, pour m'avoir conseillé tout au long de ces trois années de thèse.

Ce travail a été réalisé dans l'Unité de recherche FRE-CNRS 3498 EDYSAN (Écologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), au sein du laboratoire Biologie des Insectes Phytophages et Entomophages. Ainsi, je tiens à remercier Guillaume DECOCQ, Directeur de l'unité, de m'avoir accueilli au sein d'EDYSAN.

Mes plus sincères remerciements à mes deux Directeurs de thèse, Arnaud AMELINE et Aude COUTY, qui m'ont fait confiance et confié ce projet de thèse. Cette aventure de trois ans a été des plus enrichissantes et c'est en grande partie grâce à la qualité de votre encadrement et à votre disponibilité sans faille. Je vous remercie profondément pour vos conseils scientifiques et votre soutien tout au long de ces trois années qui m'ont permis de mûrir professionnellement et personnellement.

Je tiens aussi à remercier Vincent LE ROUX et Géraldine DOURY pour leur accompagnement, disponibilités, conseils et nombreuses relectures durant ces trois années de thèse.

Je souhaite remercier Anne-Marie CORTESERO, Professeur à l'Université de Rennes 1 et Thierry HANCE, Professeur à l'Université Catholique de Louvain, d'avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse. Je tiens également à remercier Stéphane BLANC, Directeur de recherche au CNRS à Montpellier et David GIRON, Directeur de recherche au CNRS à Tours, d'avoir accepté de juger mes travaux de recherche.

Je remercie vivement Jérôme MOREAU, Maître de conférences à l'Université de Bourgogne, Sébastien DUGRAVOT, Maître de conférences à l'Université de Rennes 1 et Véronique BIARNES, chargée d'études à Terres Inovia, pour leurs nombreuses suggestions durant mes comités de thèse.

Un grand merci à Charles VINCENT, Chercheur à Agriculture et Agroalimentaire Canada, pour ses relectures critiques des manuscrits. Et je remercie également Andrew ROOTS et Shan WILLIAMS, au nom de la Maison de Langues d'Amiens, pour leurs relectures et suggestions concernant la langue anglaise.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont collaboré avec moi durant ces trois années, Manuella CATTEROU et Fabien SPICHER, du Laboratoire Agroécologie, Ecophysiologie et Biologie intégrative d'EDYSAN, Véronique BRAULT et son équipe de l'INRA de Colmar, Marilyne UZEST de l'INRA de Montpellier, Pauline LASUE de la FREDON Picardie pour les identifications de pucerons et Pierre MENU de la Chambre départementale d'agriculture de la Somme pour les expérimentations de terrain. Par ailleurs, je remercie Messieurs PROOT et DERA EVE, agriculteurs dans la Somme, pour leurs collaborations au projet et la mise à disposition de leurs parcelles.

J'adresse un grand merci à tous mes collègues de l'équipe BIPE pour leur accueil, leur bonne humeur (surtout le vendredi !) et les agréables moments passés ensemble : Adèle, Anas, Annie, Caroline, Fatima, Geneviève, Jean-Philippe, Patrice et Yvelise. Merci aussi à tous les étudiants, doctorants, post-doctorants : Antoine B., Antoine R., Chloé, Elven, Gabriela, Jessy, Ludmilla, Maïra, Nicole, Quentin (Fou !), Quentin (Cou !), Rania, Rihab et Sophie.

Je remercie également Florent BOGAERT, qui a occupé une place toute particulière durant ma thèse, en m'ayant assisté comme stagiaire sur bon nombre de mes travaux. Je tiens à remercier également Joffrey MOIROUX, ATER au laboratoire, pour ses conseils et sa participation aux derniers travaux. De même, je remercie Julien VERZEAUX, qui a initié les travaux sur la cameline. Ça a été un réel plaisir de travailler avec vous et j'espère que nous pourrons re-collaborer ensemble.

D'énormes remerciements à Françoise, pour son aide inestimable dans la conception des dispositifs expérimentaux et à Marie, pour son accompagnement administratif. Un gros merci à toutes les deux pour votre patience et votre bonne humeur.

Je remercie toute ma famille et mes amis, de m'avoir encouragé, soutenu et rendu visite dans le « Nord » !

Et je finirai par te remercier, toi, mi pequeñita Gabi, pour m'avoir supporté et encouragé durant ces derniers mois de rédaction.

La SAS PIVERT

La SAS PIVERT a été créée le 29 mai 2012 dans le cadre du programme « Investissements d'Avenir ». Il s'agit d'une société de droit privé issue d'un partenariat public-privé qui a notamment pour objet de porter l'ITE P.I.V.E.R.T. (Institut de Transition Energétique Picardie Innovations Végétales Enseignements et Recherches Technologiques).

Le programme de recherche GENESYS

Le programme de recherche précompétitif GENESYS vise à déterminer les bases de la bio-raffinerie oléagineuse du futur. Le programme GENESYS vise à lever des verrous technologiques dans le but de développer de nouveaux produits et procédés en chimie du végétal qui pourront par la suite être transposés à l'échelle industrielle dans le cadre de Projets de maturation. La recherche porte sur les trois aspects du cycle de la biomasse : production (agronomie, récolte, logistique), fractionnement et transformation de la biomasse, et enfin livraison de bioproduits industriels, et s'organise en sept sous-programmes (<http://www.institut-pivert.com/genesys/>).

Le programme GENESYS est mené par un imposant consortium constitué des meilleurs laboratoires français dans les différents domaines de recherche concernés par le programme GENESYS et la SAS PIVERT.

Sous-programme n°1 (SP1) : Nouveaux systèmes de cultures

Le but de ce sous-programme est d'adapter et de mobiliser les ressources agricoles oléagineuses territoriales afin d'alimenter les bio-raffineries basées sur la valorisation des lipides et de la ligno-cellulose.

La recherche porte sur la production et la disponibilité de la biomasse oléagineuse, en prenant en compte tous les paramètres du champ à l'usine. Ce sous-programme permet d'anticiper, dans les principaux territoires de production de la biomasse, la mise en place de stratégies agricoles, environnementales et sociales respectueuses de l'environnement.

Le projet ANOI

Intégré au SP1, le projet ANOI (Amélioration des caractères pour les Nouveaux Oléagineux d'Intérêt industriel) a pour but d'étudier quatre cultures oléagineuses : deux variétés de colza, colza 00 et colza érucique (culture de référence), la moutarde d'Éthiopie *Brassica carinata* et la cameline *Camelina sativa*, avec comme objectifs principaux :

- de fournir une connaissance exhaustive de la variabilité des caractères d'intérêt dans les plantes oléagineuses en connexion avec les autres sous-programmes.
- de produire du matériel végétal brut provenant de plantes oléagineuses possédant un potentiel agronomique acceptable dans les conditions de culture locales (Nord-Ouest de la France) et celui plus spécifique issu de plantes au potentiel agronomique plus faible pour des applications ciblées (source de gènes d'intérêt, composés lipidiques inhabituels...).
- d'améliorer les caractéristiques de productivité des plantes sélectionnées pour une intégration durable de ces productions à l'échelle des exploitations agricoles et des territoires.
- d'identifier les principaux effets régulateurs des populations de ravageurs de cultures oléagineuses à vocation industrielle dans un contexte de protection intégrée des cultures.

Autour de Terres Inovia (Institut technique des producteurs d'oléagineux, de protéagineux, de chanvre et de leurs filières), porteur du projet, les équipes impliquées sont l'ITERG (Institut des corps gras), l'UPJV-FRE 3498 EDYSAN (Écologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), l'UTC-UMR 6022 GEC (Génie Enzymatique et Cellulaire), FRD (Fibres Recherches Développement), l'UPJV-EA 3990 BioPI (Biologie des Plantes & Innovation) et l'UPJV – CRRBM (Plateforme de Biologie Moléculaire).

Le projet ANOI s'articule autour de trois tâches essentielles :

La **première tâche** consiste en l'identification et la classification des plantes oléagineuses d'intérêt pour des usages industriels.

Pour chacune des quatre plantes oléagineuses sélectionnées en 2012 (colza 00, colza érucique, cameline et moutarde d'Éthiopie), la **deuxième tâche** consiste à préciser la variabilité génétique sur des critères d'intérêt (biomasse, phénologie, conditions de production). Elle doit également préciser les conditions de développement des graines (cinétique de développement des embryons, taille, poids, structure, ..) et de l'accumulation des réserves (huile, protéines, amidon, autres substances d'intérêt telles qu'antioxydants, fibres, ...). Il s'agit aussi et surtout d'obtenir des données qualitatives et quantitatives concernant le remplissage des graines, leur profil lipidique (acides gras, phospholipides, glycolipides...) et d'identifier les éventuels composés indésirables (glucosinolates...).

Enfin la **troisième tâche** a pour objectif l'amélioration de la productivité de ces cultures oléagineuses d'intérêt incluant l'étude physiologique (en priorité l'étude du métabolisme azoté), l'étude de l'intégration de ces plantes oléagineuses d'intérêt dans les systèmes de culture existants et, les

interactions Plante-Parasite (effets de ces nouvelles productions sur les insectes ravageurs, auxiliaires, les pathogènes...).

C'est essentiellement au sein de cette troisième tâche que ce travail de thèse a été réalisé. Cette tâche a été subdivisée en différentes sous-tâches :

Tâche 3 : Amélioration de la productivité des cultures oléagineuses sélectionnées

Sous-tâche 3.1 : Besoins en Azote et incidence sur les ravageurs

Sous-tâche 3.2 : Intégration dans les systèmes existants

Sous-tâche 3.3 : Interactions Plante-Insectes, vers une complexité croissante

- 3.3.1. La cameline : un nouveau réservoir potentiel de ravageurs ?
- 3.3.2. Étude des facteurs de résistance de variétés de cameline et de moutarde d’Ethiopie vis-à-vis des ravageurs de cultures et auxiliaires.
- 3.3.3. Étude des interactions Phytovirus – Plantes – Phytophages.

Objectifs de la thèse

Les travaux présentés dans ce mémoire concernent la tâche 3 du projet ANOI et ont pour but d'étudier la complexité des interactions plante-insectes autour de la cameline dans le contexte des agro-écosystèmes du Nord de la France.

Pour cela, nous avons en premier lieu étudié le rôle potentiel de la cameline comme réservoir de ravageurs (1 publication scientifique, sous-tâche 3.3.1), puis les effets de différentes pratiques culturales sur les interactions tri-trophiques cameline-pucerons-parasitoïdes (2 publications scientifiques, sous-tâche 3.1 et 3.2) et enfin, les effets des phytovirus sur un système bi-trophique cameline-pucerons (1 publication scientifique, sous-tâche 3.3.3) et sur un système tri-trophique cameline-puceron-parasitoïde (1 publication scientifique, sous-tâche 3.3).

1. La cameline : un nouveau réservoir potentiel de ravageur ?

Dans le chapitre n°3, nous avons cherché à étudier le rôle potentiel de la cameline comme réservoir de ravageurs, plus particulièrement les pucerons, qui seraient susceptibles de coloniser les cultures de cameline dans le nord de la France.

Dans la perspective de réintroduire la cameline dans les agrosystèmes du nord de la France, nous avons évalué sa sensibilité vis-à-vis des principales espèces de pucerons ravageurs de grandes cultures. Il nous a semblé important de caractériser les interactions bi-trophiques cameline-puceron avant de complexifier notre étude en intégrant des ennemis naturels de pucerons et des virus transmis par les pucerons vecteurs.

2. Influences de pratiques culturales sur les interactions tri-trophiques.

Dans le chapitre n°4, nous avons cherché à étudier d'une part, l'impact d'une association culturale et d'autre part, l'effet d'intrants azotés, sur le contrôle biologique des pucerons par des parasitoïdes.

La première étude s'appuie sur certaines caractéristiques culturales de la cameline qui, utilisée en association avec des Fabaceae ou Poaceae, peut jouer un rôle de tuteur pour la plante focale. Nous avons recherché si, en plus de ce rôle de tuteur, la cameline pouvait aussi avoir un rôle bénéfique dans le contrôle biologique des pucerons par des insectes auxiliaires parasitoïdes de pucerons. Nous avons ainsi étudié les réponses comportementales d'une espèce de parasitoïde face à une espèce de puceron identifiée comme colonisatrice de la cameline et de la plante associée (cf. Chapitre 3). Cette première étude nous a permis non seulement d'approfondir nos connaissances sur l'impact de cette pratique culturale sur le contrôle biologique des pucerons par les auxiliaires mais aussi sur le comportement de sélection d'hôte d'un parasitoïde dans un environnement complexe en testant l'hypothèse de « Mother knows best ».

La deuxième étude concerne la caractérisation des effets d'intrants azotés sur les interactions tri-trophiques, cameline-pucerons-parasitoïdes. D'après la bibliographie, la cameline présente de faibles besoins en intrants azotés, cependant des doses modérées d'intrant azoté ont montré des effets significatifs positifs sur les rendements en biomasse et la composition des huiles. Ainsi, afin d'améliorer sa productivité, la culture recevra éventuellement des intrants azotés, ces derniers étant susceptibles de modifier l'équilibre des interactions tri-trophiques. Cette étude nous a permis de mettre en relation le transfert d'azote le long de la chaîne trophique et les répercussions sur les différents niveaux trophiques.

3. Incidence des phytovirus sur les interactions multi-trophiques.

Le chapitre n°5 vise à caractériser l'effet de phytovirus sur les niveaux trophiques supérieurs, premièrement dans un contexte d'interactions bi-trophiques puis tri-trophiques.

Dans la première étude, nous avons caractérisé les interactions de différents pathosystèmes impliquant la cameline, deux phytovirus présentant des modes de transmission distincts et deux pucerons-vecteurs.

La seconde étude s'est intéressée aux répercussions de l'infection virale sur la régulation « bottom-up » des deux niveaux trophiques supérieurs, et plus particulièrement les parasitoïdes de pucerons.

Table des matières

Remerciements	- 2 -
Avant-propos :	- 4 -
La SAS PIVERT	- 4 -
Le programme de recherche GENESYS	- 4 -
Le projet ANOI	- 5 -
Objectifs de la thèse	- 7 -
Index des Figures	- 12 -
Index des Tableaux	- 14 -
Introduction générale	- 16 -
Chapitre 1. Synthèse bibliographique	- 21 -
Les interactions multi-trophiques	- 21 -
Influences de pratiques culturales sur les interactions tri-trophiques	- 24 -
1. Les associations culturales	- 24 -
1.1. Effets des associations culturales sur les plantes	- 24 -
1.2. Effets des associations culturales sur les herbivores	- 25 -
1.3. Effets des associations culturales sur les parasitoïdes	- 26 -
2. La fertilisation azotée	- 28 -
2.1. Effets des intrants azotés sur les plantes	- 28 -
2.2. Effets des intrants azotés sur les herbivores	- 30 -
2.3. Effets des intrants azotés sur les parasitoïdes	- 31 -
Incidence des phytovirus sur les interactions tri-trophiques	- 33 -
1. Modifications phénotypiques des plantes suite à l'infection virale	- 33 -
2. Effets des phytovirus sur les herbivores vecteurs	- 34 -
2.1. Manipulation indirecte du vecteur <i>via</i> des modifications de la plante hôte	- 35 -
2.2. Manipulation directe du vecteur	- 36 -
3. Effets des phytovirus sur les parasitoïdes de vecteurs	- 37 -
Chapitre 2. Matériels et Méthodes expérimentales	- 40 -
Partie 1 : Modèles biologiques	- 40 -
1. La Cameline (<i>Camelina sativa</i> L.)	- 40 -
1.1. Généralités sur <i>Camelina sativa</i>	- 40 -
1.2. Cultures de la <i>Camelina sativa</i>	- 42 -

1.3. Chimie de <i>Camelina sativa</i>	- 42 -
2. Les pucerons	- 44 -
2.1. Biologie des pucerons et sélection de la plante-hôte	- 44 -
2.2. <i>Brevicoryne brassicae</i> (L.)	- 45 -
2.3. <i>Myzus persicae</i> (Sulzer)	- 46 -
2.4. <i>Aphis fabae</i> (Scopoli)	- 46 -
2.5. <i>Rhopalosiphum padi</i> (L.)	- 46 -
3. Les parasitoïdes de pucerons	- 47 -
3.1. Biologie et sélection de l'hôte	- 47 -
3.2. <i>Aphidius matricariae</i> (Haliday) et <i>Aphidius colemani</i> (Viereck)	- 48 -
3.3. <i>Diaeretiella rapae</i> (M'Intosh)	- 49 -
4. Les phytovirus	- 49 -
4.1. Classification	- 51 -
4.2. Le TuYV	- 53 -
4.3. Le CaMV	- 53 -
Partie 2 : Méthodes expérimentales	- 54 -
1. Élevage des plantes, insectes et maintien des souches virales	- 54 -
2. Études physiologiques et morphométriques	- 55 -
2.1. Suivi physiologique des pucerons en « Clip-cages »	- 55 -
2.2. Mesures biométriques	- 56 -
3. Études comportementales sur les insectes	- 57 -
3.1. Comportement d'orientation à courte distance des insectes	- 57 -
3.2. Comportement alimentaire des pucerons	- 60 -
3.3. Test de mesure du taux d'attaque des parasitoïdes	- 61 -
4. Analyses biochimiques	- 63 -
4.1. Tests ELISA sur plantes	- 63 -
4.2. Activité photosynthétique des plantes	- 63 -
4.3. Mesure du ratio C :N sur plantes et pucerons	- 64 -
4.4. Dosages des sucres de pucerons	- 64 -
4.5. Dosages des lipides de parasitoïdes et de pucerons	- 64 -
5. Analyses statistiques	- 65 -
Chapitre 3. La Cameline : un nouveau réservoir potentiel de ravageur ?	- 67 -
Présentation de l'étude et principaux résultats :	- 68 -
Article n°1:	- 69 -
Chapitre 4. Effets des pratiques culturales sur les interactions tri-trophiques	- 88 -
Étude 1 : Effet des associations culturales sur les interactions tri-trophiques	- 88 -
Présentation de l'étude et principaux résultats :	- 89 -
Article n°2:	- 90 -

Étude 2 : Effet de l'intrant azoté sur les interactions tri-trophiques	- 110 -
Présentation de l'étude et principaux résultats :	- 111 -
Article n°3:	- 113 -
Chapitre 5. Effets des phytovirus sur les interactions tri-trophiques	- 134 -
Étude 1 : Effets des phytovirus sur un système bi-trophique	- 134 -
Présentation de l'étude et principaux résultats :	- 135 -
Article n°4:	- 136 -
Étude 2 : Effets des phytovirus sur un système tri-trophique	- 157 -
Présentation de l'étude et principaux résultats :	- 158 -
Article n°5:	- 159 -
Chapitre 6. Discussion générale et perspectives	- 181 -
Conclusion	- 199 -
Références Bibliographiques	- 201 -
Annexe 1 : Poster Bogaert <i>et al.</i> (2016)	- 226 -
Annexe 2 : Poster Chaumont <i>et al.</i> (2015)	- 227 -
Annexe 3 : Contributions scientifiques issues de la thèse	- 228 -
Annexe 4 : Autres contributions scientifiques	- 230 -

Index des Figures

Fig. 1. Nombre de publications sur la cameline et superficie dédiée à la cameline dans le Montana (issue de Faure & Tepfer (2016)).	17
Fig. 2. Marchés potentiels pour l'huile et le tourteau de cameline (issus de Pilgeram <i>et al.</i> (2007)).	18
Fig. 3. Schématisation des effets (trait pointillé) de trois facteurs (culture en association, fertilisation azotée, phytovirus) pouvant influencer les relations tri-trophiques (trait plein) cameline/pucerons/ parasitoïdes de puceron.	19
Fig. 4. Facteurs influençant les dynamiques de populations et la structure des communautés dans les systèmes naturels, en faisant apparaître les boucles rétroactives. Les organismes de tous niveaux trophiques peuvent influencer les autres niveaux trophiques par des effets en cascade ascendants ou descendants sur le système (issue de Hunter & Price 1992).	22
Fig. 5. Phylogénies des Brassicaceae établies par concaténation de 113 gènes résultant d'une analyse ML (Maximum likelihood) sous différents modèles avec des taxons supplémentaires (rouge) en utilisant des séquences amplifiées par PCR (issus de Huang <i>et al.</i> (2016)).	41
Fig. 6. Schéma représentant les sites de rétention probables (flèches) pour les virus circulants de type « cuticulaire » au sein des stylets, de l'intestin antérieur et des glandes salivaires de l'insecte (issus de Fereres & Moreno (2009)).	52
Fig. 7. Dispositif de suivi physiologique « clip-cage ».	56
Fig. 8. Mesure du tibia chez un parasitoïde de puceron.	57
Fig. 9. Dispositif expérimental utilisé pour tester l'attraction vers une plante des pucerons ailés (modifié à partir de Boquel <i>et al.</i> (2012)).	58
Fig. 10. Dispositif expérimental utilisé pour tester la rétention et la dispersion des pucerons aptères entre deux plantes (modifié à partir de Mauck, De Moraes & Mescher (2010)).	59
Fig. 11. Dispositif expérimental utilisé pour tester le choix à courte distance des insectes parasitoïdes entre deux plantes ou deux complexes plante/pucerons (modifié à partir de Boquel <i>et al.</i> (2012)).	60
Fig. 12. Schéma du dispositif d'électro-pénétrographie pour étudier le comportement alimentaire des pucerons. Le cadre montre un enregistrement au sein duquel sont représentées différentes ondes/phases alimentaires (Source : F. Tjallingii).	60
Fig. 13. Arène constituant le dispositif expérimental utilisé lors des tests de mesure du taux d'attaque de femelles parasitoïdes (adaptées de Pope <i>et al.</i> (2012)).	62
Fig. 14. Représentation schématique des items comportementaux de femelles parasitoïdes observés face à un puceron hôte (adapté de Rehman & Powell (2010)). a) AE: Examen Antennaire ; b) AB: Courbure de l'abdomen ; c) OI: Insertion de l'ovipositeur).	63
Fig. 15. Interactions bi-trophiques cameline-pucerons.	67
Fig. 16. Influence de l'association culturale sur les interactions tri-trophiques cameline-puceron-parasitoïde.	88
Fig. 17. Influence de la fertilisation azotée sur les interactions tri-trophiques cameline-puceron-parasitoïde.	110
Fig. 18. Influence d'un virus sur les relations bi-trophiques cameline-puceron.	134
Fig. 19. Influence d'un virus sur les relations tri-trophiques cameline-puceron-parasitoïde.	157
Fig. 20. Espèces principales de pucerons piégées en champs de a) Féverole-Cameline, b) Miscanthus.	185
Fig. 21. Association féverole-cameline en champ.	187
Fig. 22. Bilan des dynamiques des performances (lignes pleines) et des teneurs en azote (histogrammes) des acteurs (vert : plante ; rouge/orange : puceron ; bleu : parasitoïde) des deux différentes chaînes trophiques étudiées selon trois niveaux de fertilisation azotée.	190

Fig. 23. Pourcentage de *M. persicae* aptères ou ailés s'orientant vers une plante de *Camelina sativa* infectée (orange) ou non-infectée (vert) (pour les individus aptères : test de Wilcoxon pour échantillons appariés ; *, $P < 0,05$; pour les individus ailés : test du Chi-deux ; *, $P < 0,05$). Pourcentage de *M. persicae* aptères ou ailés non répondants (gris) (données non publiées). **194**

Fig. 24. Plants de cameline saine (à gauche) et infectée (à droite) par un virus à transmission mécanique proche du WWVV (*Watercress white vein virus*) (photo de Dr.Mark Tepfer INRA-Versailles). **196**

Index des Tableaux

Tableau 1. Différents modes de transmission de virus de plante par les insectes piqueurs-suceurs (adapté et traduit de Blanc, 2008 et Brault et al. 2010). **51**

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

De nos jours, l'agriculture fournit non seulement les produits de l'alimentation humaine, mais aussi des matières premières du secteur bioénergétique. La consommation, sans cesse grandissante, d'énergie à l'échelle mondiale ainsi que la demande croissante en énergies renouvelables conduisent à une progression forte de la production en matières premières agricoles destinées aux biocarburants (BP 2016; OECD.Stat 2016). Dans les régions tempérées, les principales cultures pour la matière première des biocarburants sont le maïs (*Zea mays* L.), le colza (*Brassica napus* L.) et le soja (*Glycine max* (L.) Merr.) (FAO 2008; Bringezu *et al.* 2009).

Plus récemment, les plantes oléagineuses ont suscité l'intérêt du secteur bioénergétique. Au cours de la dernière décennie, la production et la distribution de plantes oléagineuses et de leurs produits dans le monde entier ont connu une expansion remarquable; la superficie consacrée aux plantes oléagineuses a augmenté de 19%, tandis que la production a augmenté de 34% depuis 2005 (source USDA, 2016). Le marché de l'huile végétale est donc soumis à une demande de rendement de plus en plus élevée, à une demande de production plus durable des principales cultures, mais aussi à une nécessité d'augmentation de la diversification des cultures. En effet, l'industrie chimique est un nouveau marché, demandeur de matières premières originales et à la recherche de cultures oléagineuses adaptées. Cependant, les cultures oléagineuses traditionnelles souffrent de plusieurs inconvénients qui limitent la diversification de leur utilisation. Elles possèdent une diversité génétique relativement faible et la longueur des cycles de croissance de ces plantes entrave le potentiel pour créer de nouvelles variétés par sélection classique. En outre, pour de nombreuses cultures oléagineuses, le génie génétique est un processus long et difficile. Enfin, l'expansion de ces cultures pour la production de matière première à vocation bioénergétique et sa durabilité écologique est discutables. Des critiques émergent en ce qui concerne la façon dont l'exploitation à grande échelle de cultures oléagineuses à des fins industrielles, telles que la production de nouveaux lipides, va coexister avec l'utilisation de la culture oléagineuse pour la consommation humaine. Les principaux domaines de préoccupation sont les changements d'affectation des sols indirects (CASI), la simplification des paysages et les effets néfastes sur la biodiversité, la rivalité de nourriture et de carburant, l'utilisation de produits agrochimiques et des engrais (Lüdeke-Freund *et al.* 2012). Par conséquent, la recherche de systèmes de culture alternatifs et des espèces biocarburants de matières premières est en cours.

La dernière décennie a vu l'émergence de la cameline (*Camelina sativa* (L.) Crantz) en tant qu'espèce alternative pour diversifier la production oléagineuse (**Fig. 1.**). La combinaison de traits agronomiques très attractifs de la cameline et sa facilité d'utilisation pour le génie génétique (proximité avec la plante modèle *Arabidopsis thaliana*), en ont fait une plante idéale pour les applications en biotechnologie et en

particulier pour les stratégies de biologie de synthèse (Napier *et al.* 2014; Vollmann & Eynck 2015; Bansal & Durrett 2016). Par ailleurs, la cameline reste une culture relativement mineure en termes d'alimentation humaine et ses besoins en eau et en engrais sont faibles, signifiant qu'elle peut être cultivée sur des terres marginales (à faibles valeurs agricoles) (Bansal & Durrett 2016). Donc, allier différentes utilisations devrait être plus facile et moins sujet à critique qu'avec les principales cultures vivrières oléagineuses, comme le colza, le soja ou le tournesol (Faure & Tepfer 2016).

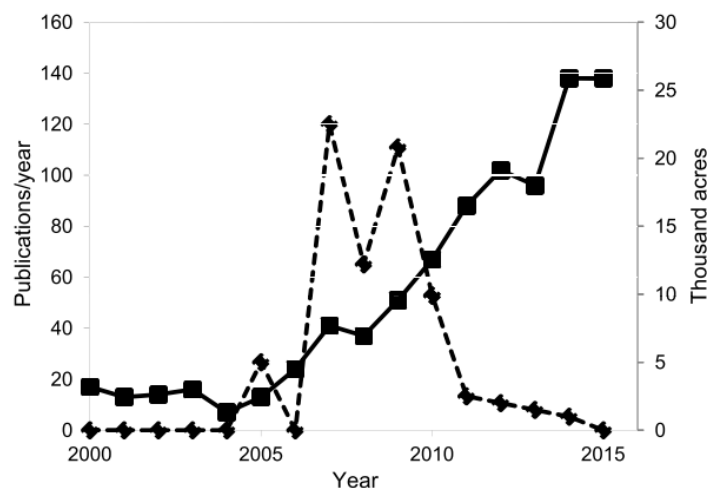


Fig. 1. Nombre de publications sur la cameline et superficie dédiée à la cameline dans le Montana (issue de Faure & Tepfer (2016)). Nombre de publications avec « Camelina » dans le titre dans Google Scholar (ligne pleine) et superficie de Cameline semée dans le Montana (ligne pointillée).

Une activité de recherche récente et intense s'est donc développée aux Etats-Unis et au Canada autour de la cameline, principalement pour le potentiel bioénergétique de son huile (Fröhlich & Rice 2005), et ceci grâce à une évaluation des émissions de gaz à effet de serre particulièrement favorable (Shonnard, Williams & Kalnes 2010; Chen *et al.* 2015; Keshavarz-Afshar, Mohammed & Chen 2015). C'est pourquoi les superficies plantées en cameline ont fortement augmenté durant quelques années dans le Montana (États-Unis), mais cela a été rapidement suivi par une baisse en raison de rendements faibles et de l'incapacité à faire concurrence aux carburants à base de pétrole (McLaren & Sun 2015) (**Fig. 1.**). Actuellement, les faibles niveaux des prix du pétrole suggèrent que cultiver la cameline pour les biocarburants est peu susceptible d'être économiquement viable dans un avenir proche, mais que d'autres utilisations, et en particulier l'utilisation des huiles de cameline comme matières premières industrielles semblent être un objectif plus réaliste (**Fig. 2.**). En effet, plusieurs niches sont en développement pour l'utilisation des huiles de cameline dans les cosmétiques, savons, lubrifiants... (Bonjean & Le Goffic 1999; Pilgeram *et al.* 2007). Pour finir, les niveaux élevés en acides gras oméga-3 dans l'huile de cameline sont considérés comme bénéfiques pour la santé humaine (Zubr 1997; Abramovič & Abram 2005) et les niveaux importants de tocophérols, tels que la vitamine E, font que l'huile de cameline est plus stable à l'oxydation que les autres huiles riches en oméga-3 présentes sur le marché (Abramovič, Butinar & Nikolič 2007).

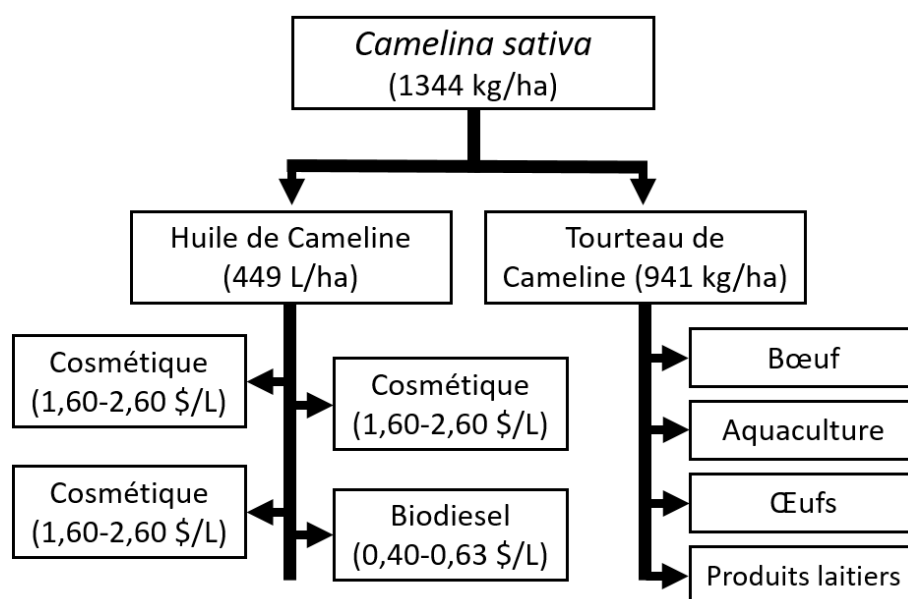


Fig. 2. Marchés potentiels pour l'huile et le tourteau de cameline (traduit de Pilgeram *et al.* (2007)).

Avant la production commerciale, des informations sur les interactions avec les parasites, les agents pathogènes et les réponses aux pratiques agricoles sont essentielles pour assurer une gestion écologique et économique durable (Fig. 3.).

Dans ce manuscrit, je commencerai par un premier chapitre qui présentera l'état de l'art sur les interactions multi-trophiques plantes – herbivores (pucerons) – ennemis naturels (parasitoïdes). Ce premier chapitre sera divisé en plusieurs sous-parties, les cascades trophiques seront tout d'abord définies, puis les influences de pratiques culturales et des phytovirus sur les interactions trophiques seront abordées. Le second chapitre détaillera le matériel biologique d'étude et les différentes méthodologies expérimentales utilisées. Le troisième chapitre sera consacré à une étude préliminaire statuant sur le rôle potentiel de la Cameline comme plante réservoir à différentes espèces de pucerons ravageurs. Le quatrième chapitre sera divisé en deux sous-parties consacrées respectivement aux effets de deux pratiques culturales, l'association culturale et la fertilisation azotée, sur les niveaux trophiques supérieurs. Le cinquième chapitre présentera une première partie caractérisant des interactions au sein de pathosystème impliquant la cameline, deux phytovirus et deux pucerons vecteurs. Une seconde partie présentera une étude des effets ascendants d'un phytovirus sur le système tri-trophique plante - puceron - parasitoïde en faisant un focus particulier sur les effets directs et indirects du phytovirus sur le parasitoïde de puceron. Pour finir, le chapitre six sera une synthèse des résultats obtenus qui seront discutés et abordera les perspectives issues de l'ensemble de ces études.

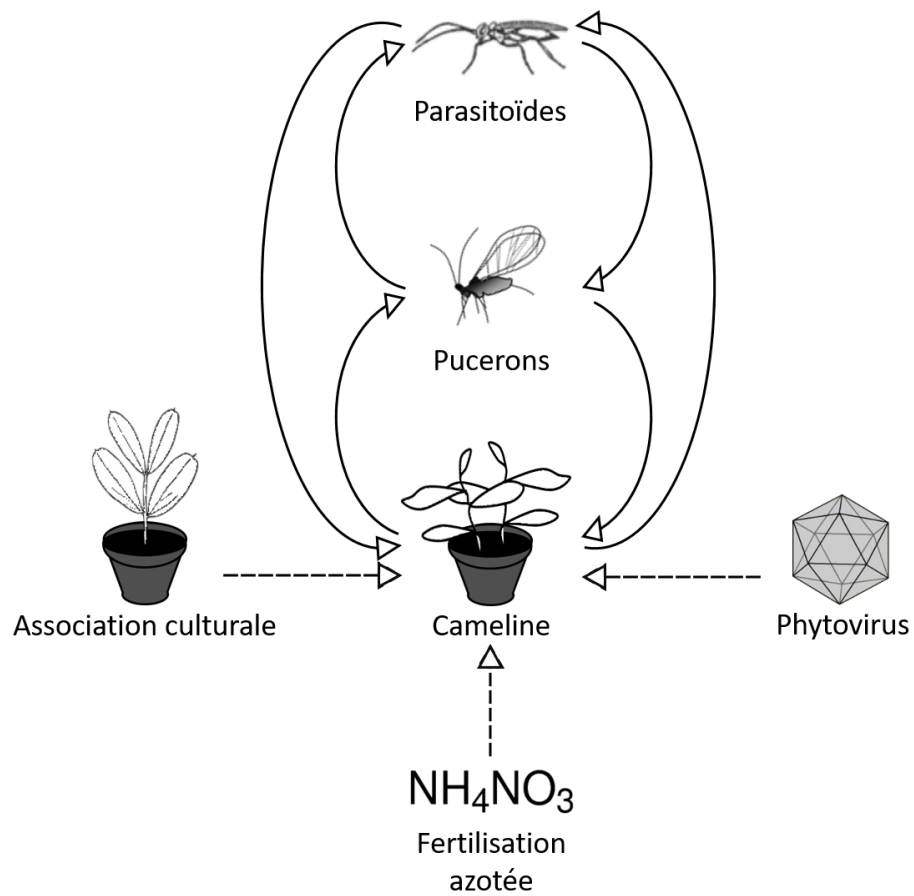


Fig. 3. Schématisation des effets (trait pointillé) de trois facteurs (culture en association, fertilisation azotée, phytovirus) pouvant influencer les relations tri-trophiques (trait plein) cameline/pucerons/ parasitoïdes de puceron.

CHAPITRE 1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les interactions multi-trophiques

Les cascades trophiques peuvent être définies comme des interactions fortes au sein des chaînes alimentaires qui influencent les propriétés du système et incluent au moins deux niveaux trophiques (Pace *et al.* 1999; Knight *et al.* 2005). Les deux cascades trophiques « bottom-up » (régulation ascendante basée par exemple sur la disponibilité en nutriment) et « top-down » (régulation descendante basée notamment sur la présence d'ennemis naturels) peuvent influencer les interactions au niveau de la communauté mais aussi les dynamiques de population des espèces (Hunter & Price 1992; Forkner & Hunter 2000; Polis *et al.* 2000; Aquilino, Cardinale & Ives 2005) (**Fig. 4.**). Les effets des plantes sur les herbivores peuvent se répercuter (« cascade-up ») le long de la chaîne alimentaire et déterminer la diversité des espèces et la dynamique des populations appartenant aux niveaux trophiques supérieurs (Hunter & Price 1992; Bukovinszky *et al.* 2008; Johnson 2008).

L'écologie stœchiométrique étudie l'équilibre des éléments énergétiques et chimiques (par exemple, le carbone, l'azote ou le phosphore) dans les interactions écologiques, afin de déterminer comment les lois thermodynamiques affectent les cascades trophiques (Sternner & Elser 2002; Moe *et al.* 2005). En effet, il existe des différences de teneurs en azote (N) entre les niveaux trophiques indiquant que le développement des consommateurs serait limité par la quantité en N dans leurs ressources (White 1993). La quantité d'azote est un important facteur limitant la survie et la croissance de nombreux herbivores et prédateurs (Mattson 1980; Denno & Fagan 2003). Par conséquent, la teneur en azote dans les plantes hôtes et son accumulation par les insectes herbivores peuvent influencer les performances des ennemis naturels (Kagata & Ohgushi 2006).

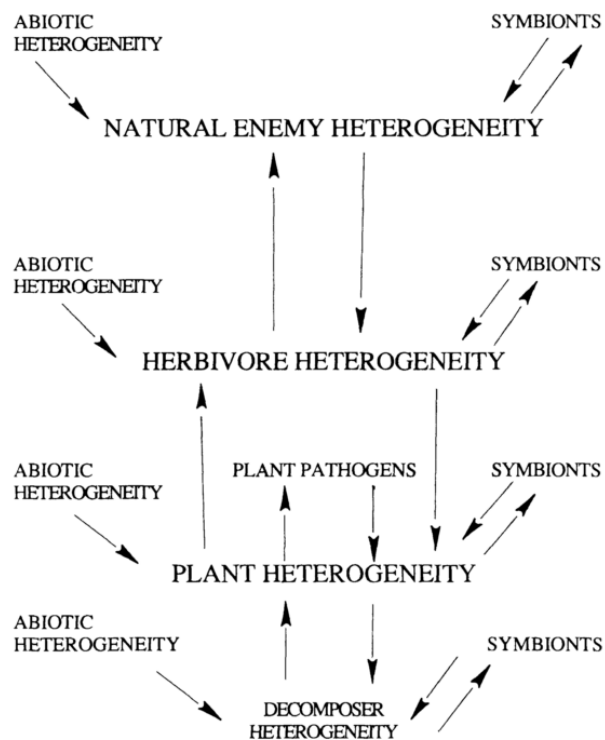


Fig. 4. Facteurs influençant les dynamiques de populations et la structure des communautés dans les systèmes naturels, en faisant apparaître les boucles rétroactives. Les organismes de tous niveaux trophiques peuvent influencer les autres niveaux trophiques par des effets en cascade ascendants ou descendants sur le système (issue de Hunter & Price 1992).

Les ennemis naturels peuvent avoir des effets sur les communautés d'herbivores à travers des interactions prédateurs-proies (« cascade-down ») et peuvent donc aussi, indirectement, influencer l'abondance et la répartition des espèces végétales (Schmitz, Hambäck & Beckerman 2000; Halaj & Wise 2001; Schuman, Barthel & Baldwin 2012). Bien que souvent étudiés séparément, les forces « bottom-up » et « top-down » n'agissent pas indépendamment, mais interagissent de manière complexe (Dicke & Hilker 2003). Cependant, leur importance relative dans la gestion des communautés d'arthropodes continue à être débattue (Hunter & Price 1992; Forkner & Hunter 2000; Walker, Hartley & Jones 2008).

Les forces de régulation « bottom-up » et « top-down » peuvent toutes deux être affectées par des variations intraspécifiques au niveau de la plante, suite à des modifications environnementales (stress biotiques ou abiotiques, ajouts d'intrants). Par exemple, les différences de concentrations en métabolites secondaires de défense, chez des populations de plantes sauvages ou pour certains cultivars de plantes domestiquées, peuvent influencer l'abondance des insectes herbivores et, par conséquent, indirectement l'abondance de leurs ennemis naturels (régulation « bottom-up ») (Whitham *et al.* 2003; Bukovinszky *et al.* 2008; Newton, Bullock & Hodgson 2009a; Poelman *et al.* 2009a). Des modifications dans la qualité de la plante peuvent avoir des effets convergents sur les niveaux trophiques supérieurs (Barbosa, Gross & Kemper 1991; Zvereva & Rank 2003; Kagata, Nakamura & Ohgushi 2005), de telle sorte que les plantes à valeur nutritive supérieure (ou avec moins de défenses) augmentent les

performances des insectes herbivores et de leurs ennemis naturels (Kagata & Ohgushi 2006), alors que les plantes ayant des défenses importantes peuvent avoir un impact négatif sur les phytophages et également réduire indirectement les performances des ennemis naturels (Vos *et al.* 2004; Gols & Harvey 2009). D'autres études ont montré des effets opposés de la qualité des plantes sur les insectes herbivores et leurs ennemis naturels (Holton, Lindroth & Nordheim 2003). Par exemple, les insuffisances en nutriments ou des variations en composés de défenses peuvent réduire l'immunocompétence générale des insectes contre leurs ennemis naturels (Rantala *et al.* 2003; Bukovinszky *et al.* 2009).

Par ailleurs, les métabolites secondaires peuvent affecter directement les niveaux trophiques supérieurs (Bradburne & Mithen 2000; Kessler & Baldwin 2001; Heil 2008). Des différences intraspécifiques dans la qualité ou la quantité des Composés Organiques Volatils (COVs) émis par les plantes peuvent également entraîner une attraction modifiée des ennemis naturels pour les herbivores (Fritzsche-Hoballah, Tamò & Turlings 2002; Poelman *et al.* 2009b; Gols *et al.* 2009). Ces volatils peuvent attirer des parasitoïdes de pucerons, dont certaines espèces peuvent discriminer entre les COVs des plantes infestées ou non-infestées, et discriminer les plantes infestées par des hôtes ou par des non-hôtes (De Moraes *et al.* 1998; Du *et al.* 1998; Röse, Lewis & Tumlinson 1998; Van Poecke *et al.* 2003; Girling *et al.* 2006; Clavijo McCormick, Unsicker & Gershenzon 2012). Ceci peut conduire à des différences, médiées par les plantes, dans la régulation « top-down » des herbivores par les ennemis naturels.

Ainsi, les variations intraspécifiques au niveau des plantes peuvent donc avoir des effets profonds sur leur qualité nutritionnelle, et influencer les communautés d'insectes ravageurs via les deux forces de régulation « bottom-up » et « top-down » (Johnson, Lajeunesse & Agrawal 2006; Ode 2006; Crutsinger 2006; Poelman *et al.* 2009a; Newton, Bullock & Hodgson 2009b; Schuman *et al.* 2012; Xiao *et al.* 2012).

Influences de pratiques culturelles sur les interactions tri-trophiques

1. Les associations culturelles

1.1. Effets des associations culturelles sur les plantes

La culture en association est une pratique agricole impliquant la culture de plusieurs espèces de plantes dans un même espace et sur une même période temporelle (Ofori & Stern 1987; Malézieux *et al.* 2009; Lithourgidis *et al.* 2011). C'est une pratique culturelle ancienne, couramment utilisée, qui vise à allier efficacement les besoins des plantes pour leur croissance avec les ressources disponibles mais aussi avec les contraintes de l'exploitation en champs. Les principaux avantages de l'association culturale sont l'utilisation plus efficace des ressources disponibles et une productivité accrue par rapport à celles de deux monocultures (Szumigalski & Van Acker 2006; Andersen *et al.* 2007; Agegnehu, Ghizaw & Sinebo 2008; Launay *et al.* 2009; Mucheru-Muna *et al.* 2010). Des rendements supérieurs sont observables car les ressources telles que la lumière, l'eau et les éléments nutritifs sont absorbées et converties en biomasse en plus grandes quantités par les cultures associées soumises à une concurrence interspécifique accrue (Midmore 1993; Tsubo, Walker & Mukhala 2001). D'autre part, les associations impliquant des légumineuses sont susceptibles d'enrichir le sol en fixant l'azote atmosphérique, d'une forme inorganique vers des formes assimilables par les plantes. Cette fixation biologique de l'azote atmosphérique peut remplacer la fertilisation azotée entièrement ou en partie. Lorsque l'intrant azoté est limité, la fixation biologique de l'azote peut devenir la principale source d'azote dans les systèmes de culture mixte légumineuse-céréale (Fujita, Ofori-Budu & Ogata 1992). Par ailleurs, l'association culturale permet d'augmenter la conservation des sols, en limitant l'érosion grâce à une meilleure couverture végétale (El-Swaify *et al.* 1988). Elle offre une meilleure résistance des plantes à la verse (plantes couchées au sol) que les monocultures (Assefa & Ledin 2001).

La cameline associée à des cultures de pois (*Pisum sativum* L. – Fabaceae) a un effet suppressif significatif sur la couverture des mauvaises herbes ou « adventices » (Saucke & Ackermann, 2006). Ces effets allélopathiques ont été également observés avec la cameline en association avec le maïs (Haan *et al.* 1994). Que ce soit le pois ou le maïs, leur association avec la cameline a montré de meilleurs rendements des cultures d'intérêt (Haan *et al.*, 1994; Saucke & Ackermann, 2006).

Enfin, les cultures mixtes peuvent souvent agir sur la pression en ravageurs grâce aux mécanismes de dilutions de la culture permettant de « tromper », « attirer » ou « repousser » les ravageurs suite à l'émission de COVs (Lithourgidis *et al.* 2011).

1.2. Effets des associations culturales sur les herbivores

Des expérimentations impliquant une augmentation de la diversité végétale dans les agroécosystèmes, soit avec une culture associée ou avec l'inter-plantation d'une culture focale avec de la végétation non-cultivée, ont montré des résultats variables sur la régulation des populations d'insectes ravageurs (revus par Russell 1989; Andow 1991; Knops *et al.* 1999; Smith & McSorely 2000). Cette variabilité est liée à la complexité des stimuli (visuels ou olfactifs) perçus par l'herbivore lors de sa recherche de plante-hôte (Costello & Altieri 1995).

Par exemple, les populations de pucerons sur les cultures annuelles sont généralement réduites par la mise en place de cultures associées ou de couverts végétaux (Altieri, Wilson & Schmidt 1985; Andow *et al.* 1986; Cartwright *et al.* 1990). Dans ces systèmes, la diminution des effectifs de pucerons est souvent attribuée à une réduction du nombre de migrants ailés, fortement affectés par les cultures en arrière-plan (Costello 1995; Döring & Röhrig 2016). D'autres exemples détaillés, concernant les paillis de couverture de légumineuses dans des cultures de brocoli, ont mis en évidence des réductions sensibles des infestations de pucerons (Costello 1994; Costello & Altieri 1995).

En plus des effets directs sur les herbivores, la diversité végétale peut affecter la qualité de la plante. Lorsque les espèces végétales sont mélangées, la qualité de la plante hôte est souvent modifiée en raison d'une concurrence accrue aux ressources telles que la lumière, les nutriments et l'eau (Andow 1991; Baumann, Bastiaans & Kropff 2002). Ces modifications de la qualité de la plante peuvent induire des taux plus élevés de dispersion des herbivores (Kareiva 1982; Banks & Ekbom 1999) ou altérer négativement les taux de croissance de la population herbivore par rapport à ceux observés dans les monocultures (Bukovinszky *et al.* 2004; Björkman *et al.* 2009).

La culture en association peut être utilisée dans des stratégies de détournement stimulo-dissuasif (« Push-Pull ») qui ont la particularité d'avoir recours simultanément à deux stimuli (Miller & Cowles 1990; Cook, Khan & Pickett 2007; Khan *et al.* 2016). La première composante (« Push ») vise à réduire la présence d'un ravageur sur une culture d'intérêt agronomique. La deuxième composante (« Pull ») permet quant à elle d'attirer le ravageur dans une zone restreinte de la parcelle. La situation de choix qui en résulte limite les mécanismes de résistance adaptative pouvant apparaître dans des méthodes de lutttes conventionnelles (Perry, Batterham & Daborn 2011). Ainsi, au Kenya par exemple, une stratégie de « Push-Pull » a été mise en place avec succès pour protéger les cultures de maïs associées à l'herbe à éléphant (*Pennisetum purpureum* Schumach) contre certains lépidoptères (Khan *et al.* 2008; Hassanali *et al.* 2008).

1.3. Effets des associations culturelles sur les parasitoïdes

L'« enemies hypothesis » prédit que les populations d'ennemis naturels d'insectes seront plus abondantes dans les systèmes de cultures diversifiés en raison de la variété des micro-habitats et/ou des ressources alimentaires (Root 1973). Cependant, les résultats des études qui ont testé cette hypothèse pour les parasitoïdes sont variés. Les taux de parasitisme dans les cultures diversifiées en végétation sont parfois améliorés, diminués ou encore restent inchangés par rapport à ceux observés en monocultures (e.g. Letourneau 1987; Russell 1989; Björkman *et al.* 2010).

La complexité des cultures diversifiées est une des raisons invoquées concernant la baisse des taux de parasitisme : elle peut affecter le mouvement des insectes dans la communauté végétale ainsi que les processus biologiques plus fins tels que l'agrégation et le comportement de recherche de partenaire sexuel. Ceci est particulièrement important pour les guêpes parasitoïdes, qui sont souvent très limitées dans la gamme d'espèces d'insectes hôtes qui conviennent à leur développement (Godfray 1994).

Des études de laboratoire réalisées dans un environnement contrôlé ont montré que les parasitoïdes peuvent exploiter une série d'indices liés à l'hôte et/ou la plante pour localiser leurs hôtes (revue dans Vet & Godfray 2007). Cependant, la façon dont les signaux sont perçus par une guêpe parasitoïde peut également être influencée par les plantes voisines d'espèces différentes, qu'elles soient infestées ou non. Par exemple, les plantes environnantes peuvent diminuer la fiabilité des signaux chimiques émis par l'hôte ou la plante hôte infestée (Bukovinszky *et al.* 2007; Randlkofer, Obermaier & Meiners 2007) ou visuellement masquer la plante-hôte infestée et entraver le mouvement des parasitoïdes (Gols *et al.* 2005; Obermaier *et al.* 2008). Un grand nombre d'espèces végétales et/ou d'insectes non-hôtes, ainsi que des odeurs diversifiées concomitantes dans les communautés végétales naturelles peuvent nuire à la capacité de détection de la présence d'hôtes appropriés par les parasitoïdes (de Rijk, Dicke & Poelman 2013; de Rijk *et al.* 2016a ; b), même à une distance relativement faible (Randlkofer *et al.* 2010). Par ailleurs, les communautés végétales diversifiées peuvent être structurellement plus complexes, en termes de taille et d'abondance de plantes mais aussi en termes d'arrangement de la biomasse dans l'espace ou de l'ouverture de la végétation (Andow 1991; Randlkofer *et al.* 2010). Une haute complexité structurelle des plantes dans les communautés naturelles peut représenter une contrainte physique pour les petits organismes tels que les parasitoïdes et pourrait avoir pour effet de réduire leurs taux de rencontre avec les hôtes. Toutefois, ces tendances en terrain restent encore largement inexplorées (Bezemer *et al.* 2010) et deux études récentes semblent indiquer un faible impact de la diversité végétale sur la recherche d'hôte par les parasitoïdes (Wäschke *et al.* 2014; Kostenko *et al.* 2015).

Des études sur le puceron du chou, *Brevicoryne brassicae* (L.), dans les systèmes de culture de Brassicaceae ont mis en évidence des densités plus faibles en pucerons ainsi que des taux supérieurs ou

inchangés de parasitisme pour les cultures associées (ou avec couvert végétal) par rapport aux monocultures cultivées (Smith 1976; Bukovinszky *et al.* 2004; Broad *et al.* 2008). Une étude plus récente a montré une réduction des densités en puceron *Sitobion avenae* (Fabricius) mais également des densités supérieures en prédateurs et parasitoïdes sur une culture de blé en association (Wang *et al.* 2011). Dans un autre exemple, la culture en association avec Mélinis (*Melinis minutiflora*), a diminué de manière significative les niveaux d'infestation par les foreurs de tiges *Chilo partellus* (Lepidoptera – Pyralidae) et *Busseola fusca* (Lepidoptera - Noctuidae) dans la culture principale de maïs (*Zea mays*) et a également augmenté le parasitisme des larves par *Cotesia sesamiae* (Hymenoptera – Braconidae). Les agents volatils produits par *M. minutiflora* repoussent les femelles herbivores et attirent les femelles *C. sesamiae* en recherche d'hôte (Khan *et al.* 1997).

Pour finir, certaines plantes dites « insectary plants » sont utilisées pour attirer les ennemis naturels dans les champs et fournir des ressources florales (pollen et nectar) dont ces insectes ont besoin pour survivre au stade adulte et se reproduire ; elles contribuent ainsi à la lutte biologique contre les ravageurs (Parolin *et al.* 2012). Ces plantes font parties des « plantes de services » ou « auxiliaires » et sont utilisées dans un second type d'association où seule la culture d'intérêt est récoltée. Il existe une littérature importante concernant l'utilisation de cultures associées avec ce type de plantes attirant les ennemis naturels et améliorant significativement la lutte biologique contre les pucerons sur la laitue (e.g. Hogg *et al.* 2011; Brennan 2013). Les « plantes de service » sont susceptibles 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 d'érosion (Malézieux *et al.* 2009). Leur utilisation est considérée comme une forme de lutte biologique de conservation, transformant les agro-écosystèmes fortement perturbés en des environnements plus accueillants pour les ennemis naturels des insectes ravageurs (Landis, Wratten & Gurr 2000; Jonsson *et al.* 2008).

2. La fertilisation azotée

2.1. Effets des intrants azotés sur les plantes

L'azote (N) est un macronutriment essentiel pour les plantes et un constituant structurel clé des molécules biologiques fondamentales, telles que les nucléotides, les acides aminés et les protéines. C'est un nutriment essentiel au rôle primordial dans la croissance et le développement des plantes et par conséquent déterminant dans le rendement des cultures (Frink, Waggoner & Ausubel 1999; Hirel *et al.* 2007; Wang, Hsu & Tsay 2012; Vidal *et al.* 2014). En général, en réponse à une augmentation d'intrants azotés, la concentration foliaire en azote, l'efficacité photosynthétique, le taux de croissance et la production de biomasse aérienne augmentent (Leith *et al.* 1999; Hermans *et al.* 2006; Kusano *et al.* 2011).

Par conséquent, la disponibilité des nutriments azotés, leur acquisition, métabolisation et utilisation par les plantes doivent être associées aux phases de croissance pour assurer la survie et la reproduction des plantes (Vidal *et al.* 2014). Le nitrate (NO_3^-) et l'ammonium (NH_4^+) sont les formes azotées privilégiées par les plantes, mais elles sont rares dans la plupart des écosystèmes, ainsi que dans les terres agricoles. De plus, des facteurs internes aux plantes et des facteurs environnementaux peuvent limiter l'acquisition de NO_3^- par la plante. Par exemple, la concentration en NO_3^- dans la solution du sol peut varier de plusieurs ordres de grandeur selon la saison et à l'intérieur d'un même sol (par exemple, les sols agricoles vont en moyenne de 20 à 200 μM NH_4^+ (Barber 1995)) (Keddy 2007; Miller *et al.* 2007).

Si l'azote n'est pas le seul élément nutritif essentiel, celui-ci doit cependant, contrairement aux autres éléments, venir de l'extérieur du système sol-plante puisqu'il ne peut pas être libéré par les minéraux dans la solution du sol (O'Brien *et al.* 2016). Dans les systèmes agricoles, les cultures intensives éliminent rapidement l'azote du sol et reposent en grande partie sur l'application de grandes quantités d'engrais azotés pour assurer une productivité soutenue au fil du temps. Malheureusement, une grande partie de l'azote déposée dans les champs n'est pas directement absorbée par les plantes et est perdue par lessivage (Hirel *et al.* 2011).

Les nutriments azotés tels que le nitrate (NO_3^-), l'ammonium (NH_4^+), et les composés organiques en N sont en mesure de contrôler les deux voies de régulation locales et systémiques agissant, dans certains cas, en tant que molécules de signalisation (Alvarez, Vidal & Gutiérrez 2012; Gutierrez 2012). En effet, NO_3^- peut moduler l'expression de gènes et de nombreux processus parmi lesquels la croissance des plantes, l'architecture du système racinaire (RSA) (Krouk *et al.* 2010; Alvarez *et al.* 2012), le développement des feuilles (Rahayu *et al.* 2005), la dormance des graines (Alboresi *et al.* 2005) et le moment de floraison (Marín *et al.* 2011).

Les écologistes ont noté que la disponibilité en azote pouvait fortement influencer la résistance des plantes aux agressions d'herbivores. De ces observations, plusieurs hypothèses (non-exclusives) ont été proposées pour expliquer la production de composés de défense sous différents régimes d'intrants nutritifs: l'équilibre carbone-nutriment (Carbone-nutrient balance – CNB ; Bryant, Chapin & Klein (1983) ; critiquée et complétée par (Hamilton *et al.* 2001; Lerda & Coley 2002)) ; l'équilibre croissance-différenciation (Growth-differentiation balance – GDB ; (Herms & Mattson 1992)) ; la disponibilité des ressources (Ressource availability – RA ; (Coley, Bryant & Chapin 1985)) ; et la défense optimale (Optimal defense – OD ; (Rhoades 1979)).

L'hypothèse CNB est l'une des premières hypothèses proposées et a été majoritairement reprise dans la littérature. Elle prédit que les concentrations de glucides solubles et des métabolites secondaires varient en réponse aux changements dans la disponibilité des ressources (lumière, carbone et minéraux) dans l'habitat. Selon cette hypothèse, l'élévation du carbone (CO₂) ou de la lumière augmente la photosynthèse et l'accumulation de carbohydrates au-dessus des exigences de croissance de la plante, le carbone excessif pouvant alors être utilisé pour la production des métabolites secondaires. En revanche, la fertilisation avec des nutriments essentiels à la croissance de la plante (par exemple l'azote) induit une augmentation de cette croissance et une diminution des réserves de glucides (Roe, Faulks & Belsten 1990; Lavola & Julkunen-Tiitto 1994). L'hypothèse prévoit qu'une plante soumise à une quantité abondante d'azote à sa disposition devrait allouer relativement plus aux métabolites de défense contenant de l'azote et réduire les substances secondaires à base de carbone (Muzika 1993; Mutikainen *et al.* 2000).

En réalité, les effets sont plus variables que l'hypothèse ne le laisse entendre (critiques et compléments revus par Hamilton *et al.* (2001) et Lerda & Coley (2002)). En effet, selon les métabolites et les espèces végétales en question, la disponibilité en ressource azotée peut conduire à une modification variable, positive ou négative, des niveaux de composés secondaires (Dudt & Shure 1994; Hemming & Lindroth 1999; Cipollini, Paulk & Cipollini 2002; Lou & Baldwin 2004; Couture, Servi & Lindroth 2010; Banfield-Zanin *et al.* 2012).

La modification des pratiques agricoles (couverts végétaux, associations végétales...) ou du type de fertilisation (fertilisations biologiques ou conventionnelles) d'une plante peut également influencer les taux d'azote foliaire, ainsi que la composition et la concentration des composés de défense, comme les glucosinolates chez les Brassicaceae (Pope *et al.* 2012). Au sein de l'écosystème, ces métabolites peuvent avoir plusieurs fonctions, mais surtout ils sont connus pour leur rôle de signaux guidant les ennemis naturels à leur proie/hôte herbivore (Heil 2008; Dicke 2009). La production et la libération de COVs peuvent varier considérablement en fonction de l'état nutritionnel de la plante. En effet, la fertilisation en N-P-K peut induire une diminution de l'émission des COVs (Gouinguéné & Turlings 2002), alors que pour une fertilisation en N, la quantité de COVs peut augmenter (Schmelz 2003; Chen *et al.* 2008) ou rester inchangée (Lou & Baldwin 2004; Winter & Rostás 2010).

La concentration et la composition en acides aminés libres dans les tissus végétaux (notamment au niveau des feuilles) varient aussi considérablement en fonction des niveaux et sources des apports azotés (Barneix & Causin 1996). Par exemple, des plantes cultivées avec un apport en ammonium présentent souvent une concentration plus élevée d'acides aminés libres dans les tissus que les plantes ayant reçu un apport en nitrate (Allen & Smith 1986; Causin & Barneix 1993).

Puisque l'azote est souvent le macronutriment minéral le plus limitant pour les plantes dans les écosystèmes terrestres tempérés (Vitousek & Howarth 1991), la modulation d'intrant azoté peut avoir des conséquences écologiques à travers les différents niveaux trophiques.

2.2. Effets des intrants azotés sur les herbivores

Les intrants azotés peuvent avoir des effets positifs, négatifs, ou aucun effet sur la dynamique des populations d'insectes herbivores (Throop & Lerdau 2004; Throop 2005). En règle générale, l'amélioration de la qualité nutritionnelle des plantes, due à une augmentation de la teneur en azote des feuilles, contribue à un meilleur développement des herbivores (Awmack & Leather 2002; Stiling & Moon 2005) et à un taux de croissance supérieur des populations d'herbivore (Gratton & Denno 2003). Par exemple, la fertilisation azotée a été liée avec une diminution des durées de développement, des taux de survie plus importants, des biomasses augmentées, des fécondités augmentées et des taux intrinsèque d'accroissement supérieurs chez les herbivores (Mattson 1980; Stiling & Moon 2005; Huberty & Denno 2006; Zehnder & Hunter 2008; Winter & Rostás 2010). Les insectes phloémophages tels que les pucerons montrent une forte réponse aux niveaux d'azote dans leurs plantes-hôtes (van Emden 1966; Khan & Port 2008) en raison de la rareté des composés azotés dans la sève élaborée du phloème (Mattson 1980). Dans une revue des études sur la fertilisation azotée menée par Kytö, Niemela & Larsson (1996), ceux-ci ont confirmé que la fertilisation azotée conduisait généralement à une augmentation de l'abondance et de la performance des pucerons.

La plupart des études ont supposé que les ajouts d'éléments nutritifs induisaient une augmentation de la croissance et de la reproduction des herbivores. Cependant, d'autres études portant sur l'impact de l'ingestion d'éléments nutritifs sur les performances des herbivores ont montré une absence d'effet ou bien des effets négatifs de la fertilisation azotée sur l'abondance ou la performance des insectes en particulier suite à l'ingestion excessive d'éléments nutritifs (e.g. induisant une mortalité accrue) (Simpson *et al.* 2004; Müller, Fellowes & Godfray 2005; Raubenheimer, Lee & Simpson 2005). Boersma et Elser (2006) ont formalisé un concept en énonçant que de hautes concentrations en éléments nutritifs dans la plante pouvaient être énergétiquement coûteux pour les herbivores. Cela se produit si les apports en éléments nutritifs conduisent à des ratios C/N/P dans les plantes-hôtes qui dépassent le ratio élémentaire seuil des herbivores (Threshold elemental ratio - TER), à savoir que le contenu élémentaire de la plante hôte est supérieur au niveau répondant aux exigences de l'herbivore (Boersma & Elser 2006). La plupart des animaux maintiennent activement l'homéostasie de leur composition

élémentaire corporelle (Sternier & Elser 2002) et doivent donc excréter les éléments en excès (Boersma & Elser 2006). Si l'excrétion est énergétiquement coûteuse, alors les animaux qui consomment des aliments qui dépassent les niveaux de TER présenteront une croissance et reproduction réduites, et donc des taux de croissance de la population diminués (Anderson *et al.* 2005; Boersma & Elser 2006). En utilisant le modèle puceron et en manipulant expérimentalement la teneur en azote foliaire, Zehnder et Hunter (2009) ont validé ce concept et montré qu'une teneur en azote foliaire forte, en raison de l'apport excessif d'azote, pouvait limiter le taux de croissance de la population d'herbivores.

2.3. Effets des intrants azotés sur les parasitoïdes

Au sein des agro-écosystèmes, l'azote peut exercer une variété d'effets « bottom-up » à travers les différents niveaux trophiques, de la plante aux ennemis naturels (prédateurs / parasitoïdes). Des études récentes ont mis en évidence un déséquilibre entre les concentrations en azote des insectes herbivores et prédateurs/parasitoïdes (Fagan *et al.* 2002), ce qui tend à indiquer que la limitation de l'azote pourrait aussi influencer les interactions prédateur-proie (Denno & Fagan 2003) et ainsi modifier les régulations « top-down ».

Tout d'abord, le comportement de recherche et de sélection d'hôte par les parasitoïdes est influencé par les COVs, ou HIPV (Herbivore induced plant volatils), qui sont utilisés comme signaux permettant de localiser les plantes infestées par les herbivores. Comme précisé en 2.1, les COVS peuvent être modifiés quantitativement et/ou qualitativement par les intrants azotés, et seraient donc susceptibles d'altérer directement le comportement de recherche des parasitoïdes. Cependant, plusieurs études récentes ont montré que des parasitoïdes de pucerons et de lépidoptères ne discriminaient pas différents traitements azotés (Winter & Rostás 2010; Staley *et al.* 2011; Pope *et al.* 2012).

Par ailleurs, le développement et les traits d'histoire de vie des parasitoïdes dépendant de la qualité de leur insecte-hôte, ils dépendent par conséquent, indirectement, de la qualité de la plante-hôte (Pennacchio *et al.* 1999; Schädler, Brandl & Kempel 2010). En effet, les intrants azotés apportés à la plante sont susceptibles d'améliorer directement la qualité nutritionnelle du phytophage en tant qu'hôte pour le développement du parasitoïde, grâce à une augmentation des concentrations en azote dans le corps des phytophages hôtes (Sasaki & Ishikawa 1995; Winter & Rostás 2010). Les engrais azotés peuvent ainsi avoir un impact sur l'abondance des insectes ravageurs et, finalement, sur l'abondance des parasitoïdes (Veromann *et al.* 2013). La disponibilité en azote dans les plantes peut modifier positivement le développement des parasitoïdes (Chen, Olson & Ruberson 2010) par l'intermédiaire du puceron-hôte. Plusieurs études ont montré que les intrants azotés améliorent généralement le succès de parasitisme (Krauss *et al.* 2007; Aqueel *et al.* 2015) alors que l'espérance de vie et la fécondité des adultes parasitoïdes sont augmentées par la disponibilité des nutriments chez les hôtes (Kaneshiro & Johnson 1996; Azzouz *et al.* 2004). A noter, toutefois, que la sex-ratio ne semble pas affectée par les intrants azotés (Garratt, Leather & Wright 2010; Staley *et al.* 2011).

Pour finir, la qualité nutritionnelle d'une plante, pour un herbivore et donc indirectement pour ses ennemis naturels, est déterminée non seulement par les quantités/teneurs de/en composés primaires, comme les protéines ou les carbohydrates, mais aussi par les quantités/teneurs de/en métabolites secondaires. Ces deux facteurs sont étroitement liés puisque la disponibilité en azote peut affecter la synthèse de composés secondaires défensifs constitutifs et induits issus des composés primaires. Selon les métabolites et les espèces végétales en question, la disponibilité en azote peut conduire à la modification des teneurs en composés secondaires (par exemple, Dudt & Shure 1994; Cipollini *et al.* 2002; Chen *et al.* 2008; Couture *et al.* 2010).

Les insectes herbivores qui se nourrissent principalement sur des espèces végétales possédant des défenses chimiques intrinsèques ont développé des adaptations leur permettant d'excréter, détoxifier, ou séquestrer ces composés (e.g. les glucosinolates (GLSs) (revus par Hopkins, van Dam & van Loon 2009)). Par exemple, *Brevicoryne brassicae* (L.) et *Lipaphis erysimi* (Kaltensbach), spécialistes des Brassicaceae, séquestrent les GLSs de la sève phloémienne (Bridges *et al.* 2002; Kazana *et al.* 2007). Pour compenser le coût potentiel de la séquestration, il a été émis l'hypothèse que la séquestration pourrait représenter un bon mécanisme de défense contre les ennemis naturels (Francis *et al.* 2001; Bridges *et al.* 2002). Cette hypothèse a été testée pour quelques prédateurs (Francis *et al.* 2001; Pratt *et al.* 2008), mais peu de travaux concernent les effets de cette séquestration chez les pucerons et les performances de leurs endoparasitoïdes. Cependant, contrairement à l'hypothèse, deux études ont montré que le parasitoïde spécialiste des Brassicaceae *Diaeretiella rapae* M'Intosh a des performances améliorée sur *B. brassicae* se développant sur des plantes à fortes concentrations en GLSs (Le Guigo, Qu & Le Corff 2011; Kos *et al.* 2012)

Incidence des phytovirus sur les interactions tri-trophiques

Des preuves croissantes suggèrent que les agents pathogènes transmis par des vecteurs sont capables de modifier le phénotype de leur plante-hôte d'une manière à influencer la fréquence et la nature des interactions entre plante-hôtes et vecteurs du pathogène (Eigenbrode *et al.* 2002; Lacroix *et al.* 2005; Lefèvre & Thomas 2008; Mauck *et al.* 2010, 2012; Sugio *et al.* 2011; Bosque-Pérez & Eigenbrode 2011; Shapiro *et al.* 2012).

Dans le cas des virus de plantes - qui sont transmis principalement par des insectes tels que les pucerons, les aleurodes, les thrips, les cicadelles et les coléoptères - un certain nombre d'études récentes ont documenté les effets de virus sur les traits de plante-hôtes qui influencent indirectement les patterns d'attraction, de rétention, de performance, et la dispersion des vecteurs vis-à-vis des plantes infectées (par exemple, Eigenbrode *et al.* 2002; Belliure *et al.* 2005; Mauck *et al.* 2010, 2012; Bosque-Pérez & Eigenbrode 2011). D'autres études ont également recensés des effets directs des virus sur le vecteur virulifère (syn. porteur du virus, infectieux) en modifiant son comportement de sélection de plante-hôte et son comportement alimentaire (Ingwell, Eigenbrode & Bosque-Pérez 2012; Moreno-Delafuente *et al.* 2013). Ces effets peuvent avoir des conséquences importantes sur la propagation et l'épidémiologie du virus (Jeger *et al.* 2004; Sisterson 2008). En outre, si les effets, induits par le virus, observés chez le vecteur favorisent la propagation du virus, on parlera alors de manipulation du vecteur par le virus (Thomas, Adamo & Moore 2005).

1. Modifications phénotypiques des plantes suite à l'infection virale

L'infection virale a généralement des effets importants sur la plante-hôte. Les changements induits par le phytovirus sur l'architecture de la plante-hôte, la taille, la morphologie des feuilles, et la couleur sont fréquents (Zaitlin & Hull 1987). Cependant, bien que certains virus se répliquent fortement au sein de la plante hôte, ceux-ci peuvent ne provoquer que des symptômes légers voire même aucun (Zaitlin & Hull 1987).

Les virus de plantes peuvent également modifier les profils métaboliques et les réponses des plantes aux stress biotiques et abiotiques (Whitham & Wang 2004; Xu *et al.* 2008). Ces effets se produisent en raison de l'exploitation des ressources de la plante-hôte par l'agent pathogène et à travers des interactions directes entre les composants viraux, les protéines et structures cellulaires de la plante-hôte (Whitham & Wang 2004). Par exemple, chez les plantes infectées, la respiration est stimulée par rapport à celles des plantes saines (Jensen 1968; Jensen & van Sambeek 1972; Fereres, Araya & Housley 1990) alors que la teneur en chlorophylle et le taux de photosynthèse peuvent être réduits dans les feuilles infectées (Jensen & van Sambeek 1972). Les virus sont aussi susceptibles de perturber, par une augmentation ou une diminution, les teneurs en sucres et acides aminés dans les tissus foliaires et dans

le phloème (Ajayi 1986; Fiebig, Poehling & Borgemeister 2004; Mauck, De Moraes & Mescher 2014a). Ces modifications peuvent être variables, car pour un même virus, il peut exister des spécificités des interactions entre souche virale et espèce de plante (e.g. Roossinck 2002).

De nombreuses voies de défense des plantes peuvent également être activées ou supprimées par l'infection virale, en fonction de la compatibilité des interactions virus/plante-hôte (Whitham & Wang 2004; Whitham, Yang & Goodin 2006; Lewsey *et al.* 2010; Mauck *et al.* 2014a). L'infection virale est susceptible de renforcer la production de l'hormone volatile éthylène (Chaudhry *et al.* 1999; Mauck *et al.* 2014a), qui agit en synergie avec d'autres substances volatiles émises par les plantes infectées (alcools C6 et aldéhydes) sur l'augmentation des émissions volatiles totales (Ruther & Kleier 2005). L'infection virale peut également avoir des effets sur les précurseurs des voies de défense, tels que des acides gras de membrane, en modulant la synthèse des membranes d'organites les conduisant ainsi à devenir des structures de réplication du virus (Kim, Palukaitis & Park 2002; Whitham & Wang 2004). Pour finir, des plants de courge infectés par le CMV ont montré des niveaux de base plus élevés en acide salicylique (SA) et une augmentation des niveaux d'acide jasmonique induits par les herbivores (JA) (Mauck *et al.* 2014a). De nombreux agents pathogènes (par exemple, d'autres virus, bactéries et/ou champignons) sont incapables d'infecter les plantes hôtes qui ont connu une induction préalable de la voie SA. Cette augmentation de la synthèse de SA au cours de l'infection pourrait permettre au CMV d'éviter les co-infections (Radwan *et al.* 2007; Syller 2012). Concernant, la voie JA, celle-ci est principalement induite et efficace dans la résistance contre les herbivores et les pathogènes nécrotrophes (Glazebrook 2005), et l'infection virale pourrait donc avoir des implications importantes dans les interactions entre la plante-hôte et les autres herbivores non-vecteurs.

2. Effets des phytovirus sur les herbivores vecteurs

À la différence des agents pathogènes d'animaux, certains pathogènes de plantes ne se répliquent pas dans leur vecteur, de sorte que ces vecteurs ne peuvent pas être considérés comme des hôtes des pathogènes. Par ailleurs, alors que les agents pathogènes d'origine animale peuvent modifier le comportement des hôtes et des vecteurs et ainsi conduire à une augmentation de la fréquence des rencontres hôte définitif-hôte intermédiaire ou hôte définitif-vecteur (Hurd 2003; Lefèvre & Thomas 2008), dans les pathosystèmes végétaux, la plante-hôte est sessile, de sorte que le potentiel de manipulation comportementale est limité au vecteur, seul élément mobile du système (Ingwell *et al.* 2012). « L'hypothèse de Manipulation du vecteur » (« Vector Manipulation Hypothesis » - VMH) a été proposée pour expliquer l'évolution des stratégies, mises en place par les agents pathogènes de plantes, et améliorant leur propagation vers de nouveaux hôtes par leurs effets sur des vecteurs mobiles (Ingwell *et al.* 2012). Dans ces pathosystèmes végétaux, la transmission vectorielle d'agents pathogènes semble donner de nombreuses opportunités à la manipulation, non seulement par le biais d'effets directs sur le comportement des vecteurs (Stafford, Walker & Ullman 2011; Ingwell *et al.* 2012), mais aussi par des

effets sur les caractéristiques de la plante-hôte qui influencent indirectement l'attraction et la dispersion du vecteur, ainsi que la probabilité d'acquisition du pathogène par le vecteur (Lefèvre *et al.* 2006; Mauck *et al.* 2012).

2.1. Manipulation indirecte du vecteur *via* des modifications de la plante hôte

Les premiers travaux qui ont montré des effets indirects des phytovirus sur les pucerons, sans pour autant parler d'une manipulation indirecte du vecteur par les phytovirus, ont été réalisés Montllor & Gildow (1986) puis Castle & Berger (1993). Ils ont mis en évidence que les capacités reproductives des pucerons sur pommes de terre infectées étaient variables selon le type de virus (Potato leafroll virus - PLRV, Potato virus Y – PVY ou Potato virus X – PVX). D'autres études ont par la suite montré qu'une plante de pomme de terre infectée par le PLRV voit son profil en COVs modifié et provoque une attraction supérieure des pucerons et par conséquent une propagation améliorée du virus (Eigenbrode *et al.* 2002). Les résultats de ces études suggèrent donc un modèle variable selon le mode de transmission des virus (Mauck *et al.* 2010).

La sélection n'étant pas indifférente aux effets sur les interactions hôte-vecteur qui ont des implications significatives pour la transmission des pathogènes (Poulin 2010), Mauck *et al.* (2010, 2012) ont émis l'hypothèse que la plupart des changements induits par les micro-organismes pathogènes dans les phénotypes de plante-hôte auront des effets positifs (ou neutres) sur leur transmission par des vecteurs. Les auteurs ont construit (et testé) cette hypothèse en laissant consciemment de côté la difficulté de la discrimination entre une manipulation adaptative et des sous-produits fortuits de la pathologie (discuté par Blanc & Michalakakis 2016). Ils ont également émis l'hypothèse que les agents pathogènes présentant des modes de transmission similaires, et donc qui bénéficient vraisemblablement de modèles similaires de l'interaction hôte-vecteur, devraient également présenter une convergence significative de leurs effets sur les phénotypes de plante-hôte (Mauck *et al.* 2012).

La distinction essentielle entre les virus à transmission persistante (PT) (cf. Chapitre 2, partie 1, §4.1., Tableau 1.) et les virus à transmission non-persistante (NPT) est que les premiers forment des associations intimes avec les vecteurs, qui restent alors infectieux (syn. virulifères) sur de longues périodes, alors que les virus NPT ne forment que des associations transitoires avec les pièces buccales des vecteurs, qui ne restent alors virulifères que pendant une à deux inoculations. Par ailleurs, les phytovirus NPT sont acquis rapidement, durant de brèves piqûres de sondage (avant les phases d'alimentation) dans les tissus épidermique de la plante ; le virus se lie alors aux sites cibles sur le stylet des pucerons (Martin *et al.* 1997; Ng & Falk 2006; Hogenhout *et al.* 2008). Les virus NPT peuvent être « perdus » si les vecteurs restent sur la plante-hôte infectée et initient une alimentation soutenue dans le phloème (Wang & Ghabrial 2002; Ng & Falk 2006). Les virus PT transmis par les pucerons sont généralement ingérés pendant l'alimentation prolongée (d'une durée variable de quelques heures à plusieurs jours) dans le phloème d'une plante-hôte infectée ; par conséquent, les virus PT nécessitent des

périodes d'acquisition plus longues (Hogenhout *et al.* 2008). Ces différences peuvent avoir des implications importantes pour les interactions plante-hôte/vecteur et la transmission du virus.

La durée d'alimentation nécessaire à l'acquisition des virus PT étant importante, la plupart d'entre eux améliorent la qualité de la plante-hôte pour les vecteurs et donc les traits liés à la fitness des vecteurs (i.e. survie, fécondité et longévité améliorées) (revue dans Mauck *et al.* (2012)). Ils induisent aussi des modifications des signaux visuels et olfactifs émis par la plante-hôte et qui ont pour conséquence d'améliorer l'attraction et la rétention du vecteur (Bosque-Pérez & Eigenbrode 2011; Mauck *et al.* 2012). Concernant les virus NPT, l'infection réduit souvent de manière significative la qualité des plantes pour les pucerons vecteurs, en partie à cause de changements importants dans le ratio glucides/acides aminés dans le phloème (Mauck *et al.* 2014a), et provoque une dispersion rapide des pucerons des plantes infectées vers les plantes saines, conformément à l'hypothèse de transmission efficace des virus NPT (Mauck *et al.* 2010). Les pucerons semblent néanmoins préférentiellement attirés par les odeurs des plantes infectées, que ce soit par un virus PT ou NPT (Mauck *et al.* 2012). Malgré la qualité réduite des plantes infectées par un virus NPT, les pucerons sont tout de même préférentiellement attirés par ces plantes car l'infection par un virus NPT induit une augmentation globale des émissions volatiles de celles-ci, parfois sans modifier la composition du mélange (Mauck *et al.* 2010).

2.2. Manipulation directe du vecteur

La manipulation des vecteurs par les phytovirus nécessite une co-évolution étroite au sein de la relation tripartite hôte-virus-vecteur, et serait donc efficace uniquement pour des associations très spécifiques d'espèces de plantes-virus-vecteurs (Mauck, De Moraes & Mescher 2014b). Dans le cas particuliers des virus persistants, les phytovirus doivent circuler dans l'insecte-vecteur avant de pouvoir compléter leur transmission à la plante hôte, voir même se multiplier (souvent dans plusieurs organes tels que l'intestin et les glandes salivaires) en ce qui concerne les phytovirus persistant propagatifs. Par conséquent, ces phytovirus sont donc plus susceptibles d'affecter directement la physiologie ou le comportement de l'insecte vecteur (Chuche *et al.* 2016).

Cette hypothèse a été vérifiée sur le comportement d'orientation à distance de pucerons porteurs de deux Luteoviridae (*Potato leafroll virus* - PLRV et *Barley yellow dwarf virus* - BYDV), s'installant préférentiellement sur des plantes non-infectées tandis que les pucerons non-virulifères préfèrent les plantes infectées (Rajabaskar, Bosque-Pérez & Eigenbrode 2014). Cet effet a également été observé chez les pucerons qui ont acquis le virus sans contact avec les plantes infectées mais par alimentation sur un milieu contenant des particules virales, permettant de s'affranchir de l'effet indirect potentiel de la plante, ce qui a permis de certifier un effet direct d'un phytovirus sur le puceron vecteur (Ingwell *et al.* 2012). Cette préférence dynamique des vecteurs pour une plante infectée lorsqu'ils sont non-virulifères, et qui s'inverse après acquisition du virus en induisant une préférence du vecteur pour une plante saine, est favorable à la propagation du virus dans une population végétale (Roosien *et al.* 2013).

Les phytovirus peuvent aussi affecter directement le comportement alimentaire des vecteurs virulifères qui les hébergent. L'ensemble des durées totales des comportements alimentaires liés à la vection des virus (i.e. salivation - E1, ingestion de sève phloémienne - E2 et ingestion soutenue de sève phloémienne - s_E2) a été augmenté pour les vecteurs virulifères sur plantes non-infectées par des virus PT (Stafford *et al.* 2011; Moreno-Delafuente *et al.* 2013; Lei *et al.* 2016).

Pour finir, deux études récentes ont mis en évidence l'altération des paramètres de mouvements/déplacements d'insectes porteurs et vecteurs de pathogènes. Un aleurode porteur du TYLCV (*Tomato yellow leafcurl virus* – Begomovirus) voit sa vitesse sur plante saine diminuée de moitié (Moreno-Delafuente *et al.* 2013). Au contraire, Martini *et al.* (2015) ont montré que la bactérie *Candidatus liberibacter asiaticus* (CLAs) augmente la probabilité de dispersion de son vecteur, le psylle asiatique des agrumes (*Diaphorina citri* Kuwayama), en affectant son comportement de dispersion, sa capacité de vol, et son attractivité vis-à-vis des partenaires sexuels.

Bien que le nombre d'étude s'intéressant aux effets directs ou à la manipulation directe commence à augmenter, les travaux sont très récents et il est encore trop tôt pour définir un paradigme général.

3. Effets des phytovirus sur les parasitoïdes de vecteurs

Des nombreux travaux ont documenté les effets de phytovirus sur divers aspects de la physiologie, morphologie et biochimie des plantes, qui sont connus pour jouer un rôle important dans les interactions entre les plante-hôtes et les insectes vecteurs ou non-vecteurs. On peut donc s'attendre à observer des effets en cascade sur les niveaux trophiques supérieurs. Cependant, relativement peu d'études ont examiné comment ces changements phénotypiques des plantes hôtes, induits par des virus, influencent les interactions avec les niveaux trophiques supérieurs ou les conséquences de ces derniers sur la transmission et la propagation des virus (Mauck, De Moraes & Mescher 2015a).

Plusieurs virus de plantes peuvent modifier les émissions volatiles des plantes qui sont des signaux importants de recherche pour les insectes herbivores et leurs ennemis naturels (Eigenbrode *et al.* 2002; Mauck *et al.* 2010, 2014a; Shapiro *et al.* 2012). Cependant, les quelques travaux récents réalisés ne relatent aucun effet ascendants « bottom-up » de l'infection d'une plante par un phytovirus sur les comportements de sélection des ennemis naturels. Une étude a montré qu'un parasitoïde de cicadelle n'est pas capable de discriminer entre plantes saines et infectées (He *et al.* 2014). Une étude de terrain portant sur les effets de l'infection par un virus sur les interactions d'une plante avec une large communauté d'insectes, les prédateurs et parasitoïdes restent indifférents à l'infection virale et sont tout aussi capables de localiser des pucerons sur les plantes infectées que sur des plantes saines (Mauck *et al.* 2015b). Cependant, quelques études ont montré que les traits d'histoire de vie de l'ennemi naturel,

parasitoïde ou prédateur, pouvaient être affectés lorsque l'insecte hôte se développait sur plante infectée (Belliere, Janssen & Sabelis 2008; Calvo & Fereres 2011; Mauck *et al.* 2015a).

La littérature est bien plus fournie concernant les effets descendants « top-down » des parasitoïdes sur la propagation des virus. Les ennemis naturels peuvent avoir des effets significatifs sur les comportements de vecteur se rapportant à la transmission du virus (par exemple en augmentant les réactions de fuite et donc les mouvements entre les plantes) et sur la taille des populations de vecteurs (Chau & Mackauer 1997; Schmidt *et al.* 2003; Hodge & Powell 2008; Dáder *et al.* 2012). Plusieurs études ont rapporté une augmentation des taux de transmission du virus par des vecteurs lorsque des ennemis naturels sont introduits dans des mésocosmes contenant des plantes-hôtes saines et infectées ainsi que des pucerons (Christiansen-Weniger, Powell & Hardie 1998; Hodge, Hardie & Powell 2011; Jeger *et al.* 2011; Dáder *et al.* 2012). Prédateurs et parasitoïdes peuvent avoir des effets différents sur la propagation des virus à transmission vectorielle. Par exemple, la propagation du BYDV est plus importante avec des plantes exposées aux prédateurs (*Coccinella septempunctata*) et inférieure avec les parasitoïdes (*Aphidius rhopalosiphi*) que lorsque les populations de vecteurs (*Rhopalosiphum padi*) sont laissées sur plantes contrôles sans ennemis naturels (Smyrnioudis *et al.* 2001). La dispersion, induite par un ennemi naturel, des pucerons-vecteurs virulifères pourrait donc être spécifique à certaines combinaisons plante-virus-vecteur, et dépendre principalement du comportement de fuite du puceron vecteur.

Les prédateurs et parasitoïdes peuvent potentiellement favoriser la plante hôte, non seulement en réduisant la pression en herbivores mais aussi en réduisant la longévité et le nombre des vecteurs ainsi qu'en diminuant l'incidence du virus au sein de la population de plantes (voir par exemple, Landis & van der Werf 1997; Schroder & Basedow 1999).

Par ailleurs, le parasitisme peut avoir des effets complexes sur l'épidémiologie du virus. Les larves endoparasitoïde, en se développant, affectent l'efficacité du puceron comme vecteur viral. En effet, les pucerons parasités restent virulifères moins longtemps et infectent en moyenne moins de plantes puisque leur durée de vie est réduite par le parasitisme (Osler *et al.* 1999). Cependant, les pucerons peuvent transmettre le virus jusqu'à la momification (Osler *et al.* 1999; Hodge & Powell 2008).

Pour finir, une étude a mis en avant des effets négatifs d'un phytovirus sur les performances d'un parasitoïde, affectées soit par les effets directs de la circulation du virus au sein des vecteurs ou par des incompatibilités entre les changements induits par le virus et ceux induits par le parasitoïde dans la physiologie du puceron hôte (Christiansen-Weniger *et al.* 1998). Ces effets pourraient en retour influencer la propagation du virus et la régulation « top-down » des populations de vecteurs.

CHAPITRE 2.

MATÉRIELS & MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

Matériels et Méthodes expérimentales

Partie 1 : Modèles biologiques

1. La Cameline (*Camelina sativa* L.)

1.1. Généralités sur *Camelina sativa*

La cameline cultivée, *Camelina sativa* (aussi retrouvée sous les noms de *Myagrum sativum* L. ; *Alyssum sativum* Scop. ; *Cochlearia sativa* Cav ; *Linostrophum sativum* Schrank) est une Brassicaceae diploïde ($2n = 40$). La cameline, ou faux-lin, est phylogénétiquement proche des espèces sauvages bien connues, telles que l'espèce modèle *Arabidopsis thaliana*, l'arabette, et la mauvaise herbe cosmopolite *Capsella bursa-pastoris* Medik, la bourse à pasteur (Huang *et al.* 2016) (**Fig. 5.**). Comme toutes les espèces du genre *Camelina*, elle est caractérisée par des fruits en forme de poire, à deux valves (Bonnier 1985). La cameline a une tige droite dressée et une taille, variable selon les sols et conditions climatiques, comprise entre 30 et 160 cm. Les feuilles sont simples, entières, parfois légèrement dentées, peu recouvertes de trichomes, embrassantes et auriculées à leur base. L'inflorescence de la cameline forme une grappe ; les fleurs sont à sépales dressés, jaunes et éclosent, selon les types de cameline et les dates de semis, entre Mai et Juillet. La fécondation est principalement autogame. Les fruits, aussi appelés silicules, sont ovoïdes (de 5 à 12 mm de long pour 5 à 6 mm de diamètre). Chaque fruit contient un maximum de 25 graines rougeâtres (Schuster & Friedt 1998) ; le poids de 1000 grains est faible, proche de 0,7 g pour certains types archaïques à 1,8-2 g pour les variétés récentes. Pour finir, la racine est blanche, pivotante et très profonde. Il existe des camelines de printemps et d'hiver, ces dernières nécessitant une vernalisation ; ainsi que plusieurs types intermédiaires (Zubr 1997).

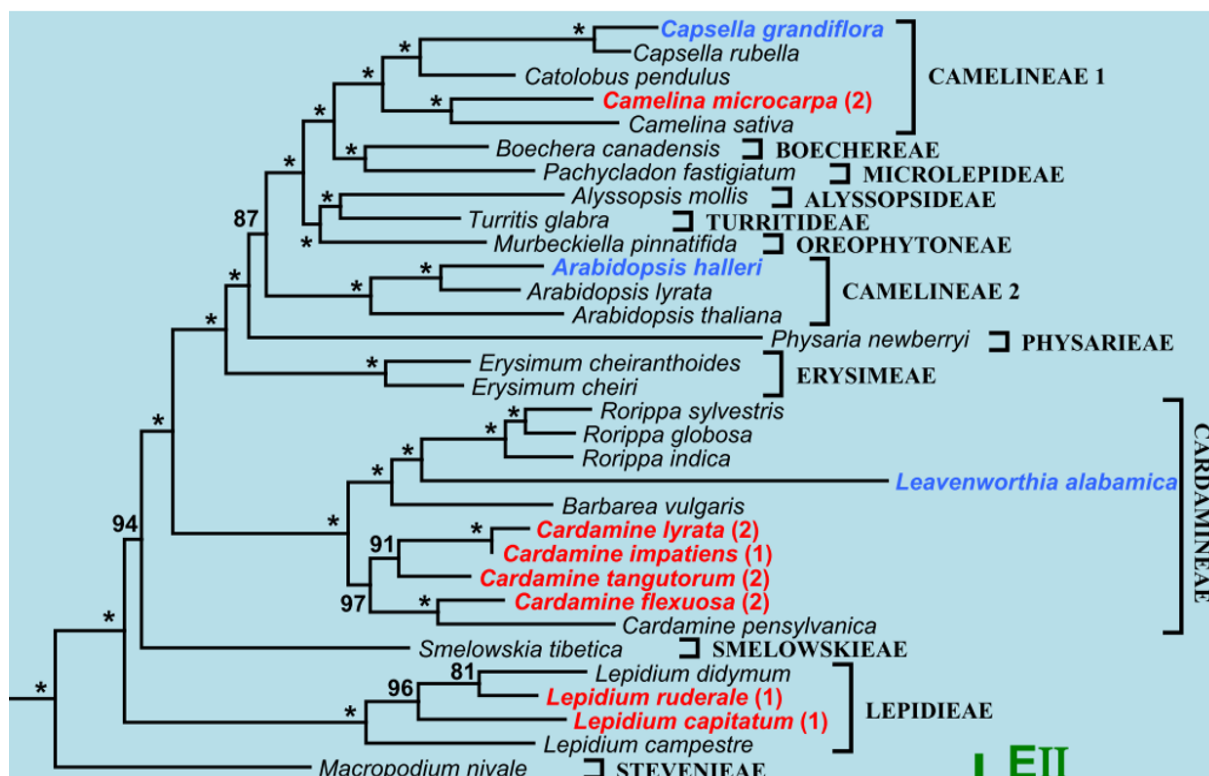


Fig. 5. Phylogénies des Brassicaceae établies par concaténation de 113 gènes résultant d'une analyse ML (Maximum likelihood) sous différents modèles avec des taxons supplémentaires (rouge) en utilisant des séquences amplifiées par PCR (issus de Huang *et al.* (2016)). Les chiffres entre parenthèses indiquent le nombre de séquences amplifiées par PCR dans chaque taxon, et les valeurs proches des nœuds sont un soutien statistique de la valeur bootstrap de l'analyse ML. Les étoiles (*) indiquent un soutien maximal.

Les plantes du genre *Camelina* auraient pour origines la région de l'Anatolie et le Caucase du Sud (Toulemonde 2010). Il est probable que *C. sativa* dérive de l'espèce sauvage *C. microcarpa* Andr., qui est commune en Europe et en Asie. De nombreuses preuves archéologiques montrent que la cameline a été cultivée en Europe dès l'âge du bronze (3000-1000 av J-C) (revue dans Bonjean & Le Goffic 1999). Elle était une plante oléagineuse importante en Europe centrale et de l'Est, et a continué à être cultivée pour son huile (lampes à huile et alimentation). La cameline a été cultivée jusqu'au 19^{ème} siècle en France et, dans une moindre mesure, aux Pays-Bas, en Belgique et en Russie (Zubr 1997; Fröhlich & Rice 2005). Au début du 20^{ème} siècle, 5000 hectares étaient encore cultivés dans le nord de la France (Bonjean & Le Goffic 1999).

Depuis quelques années, il y a un renouveau d'intérêt autour de l'utilisation de la cameline comme aliment et comme matière première de biocarburant (Moser & Vaughn 2010; Waraich *et al.* 2013; Bansal & Durrett 2016). C'est une plante prometteuse en tant qu'alternative aux cultures existantes car elle tolère une large gamme de conditions pédoclimatiques (Bonjean & Le Goffic 1999; French *et al.* 2009; Schillinger *et al.* 2012), a des rendements plus réguliers et elle semble moins onéreuse à cultiver que les autres plantes alternatives envisagées (Moloney, Woods & Crowley 1998). De plus, la cameline a des exigences très faibles pour le travail du sol et le contrôle des mauvaises herbes (Putnam *et al.* 1993; Vollmann *et al.* 2007; Urbaniak *et al.* 2008) et semble moins vulnérable aux attaques de ravageurs

phytophages (Henderson, Hallett & Soroka 2004; Pavlista *et al.* 2011; Soroka *et al.* 2015). Ainsi, la cameline semble particulièrement intéressante pour les producteurs de biodiesel qui recherchent une matière première peu coûteuse qui leur permette de rivaliser avec du diesel ou de l'essence, mais également pour la biotechnologie végétale des lipides (Chimie verte) (Bansal & Durrett 2016; Faure & Tepfer 2016). Dans un contexte alimentaire, l'huile contient des niveaux exceptionnellement élevés d'acides gras oméga-3, rare pour les sources végétales (Abramovič & Abram 2005; Schwartz *et al.* 2008) et plus de 50 % des acides gras présents dans l'huile de cameline pressée à froid sont polyinsaturés (Abramovič *et al.* 2007; Berhow *et al.* 2013). Une autre caractéristique intéressante est que le résidu obtenu après pressage peut être utilisé pour l'alimentation animale (Aziza, Quezada & Cherian 2010; Bell *et al.* 2010). Pour finir, en plus des utilisations précédemment citées, il existe plusieurs niches possibles pour l'huile de cameline dans les cosmétiques, les savons, les lubrifiants, ... (Bonjean & Le Goffic 1999; Pilgeram *et al.* 2007).

1.2. Cultures de la *Camelina sativa*

En général, les espèces de cameline sont adaptées aux climats frais à semi-arides tempérées (Mulligan 2002). La cameline peut survivre dans des conditions de sol sec, à de faibles précipitations et au gel en raison d'une courte saison de croissance (Shukla, Dutta & Artz 2002). Il est possible de semer la cameline en hiver, avec les meilleurs résultats entre le 1^{er} et le 15 Novembre dans le bassin Parisien, mais également au printemps, de fin mars à début juin (Bonjean & Le Goffic 1999). La densité des plantes est affectée de façon significative par les différents taux de semis (Agegnehu & Honermeier 1997). Un taux de semis dans la gamme de 400-600 graines.m² (soit entre 3 kg et 8 kg par hectare) est considéré comme optimale pour la cameline au Canada (Urbaniak *et al.* 2008). Selon McVay et Lamb, (2008), le taux de semis recommandé dans le Montana est 5.55 kg.ha⁻¹ pour un peuplement uniforme et dense de la culture. La cameline ne nécessite pas de grandes quantités d'engrais. Elle a une faible réponse à l'azote (N), le phosphore (P) et le potassium (K) (Mcvay & Lamb 2008). Selon Zubr (1997) 100 kg.N.ha⁻¹, 30 kg.P.ha⁻¹ et 50 kg.K.ha⁻¹ étaient suffisants pour une production optimale de semences. Cependant, il est important de noter que les intrants en azote et phosphore affectent positivement le rendement en graines et les teneurs des graines en protéines et en huile (Szczebiot 2002).

1.3. Chimie de *Camelina sativa*

La résistance de la cameline aux insectes inféodés aux Brassicaceae a attiré l'attention de nombreux scientifiques. Des observations rapportent que les altises (*Phyllotreta cruciferae* Goeze) se regroupent parfois en grand nombre sur cette espèce, sans jamais s'en nourrir (Onyilagha *et al.* 2012). La teigne des crucifères (*Plutella xylostella* L.), la tenthrède de la rave (*Athalia rosae* L.) et la méligèthe (*Meligethes aenus* Stephens) sont également dissuadés de s'alimenter sur *C. sativa* (Shudong *et al.* 2004). Naranjo et Stefanek (2012) ont également étudié le comportement alimentaire d'un hétéroptère *Lygus hesperus* (Knight) sur quatre plantes oléagineuses à vocation industrielle dont la cameline ; ils

ont montré un faible taux de pénétration et de prise alimentaire de l'insecte sur la cameline en comparaison des autres cultures.

Suite à une première étude des flavonoïdes dans la famille des Brassicaceae (Onyilagha *et al.* 2003), la rutine, un diglycoside de la quercétine a été identifié en tant que flavonoïde majeur dans les feuilles de cameline. Ce flavonoïde de quercétine sont trouvés en grande quantité dans les cotylédons de cameline par comparaison avec le colza (Onyilagha *et al.* 2012). Les flavonoïdes ont un rôle important dans les interactions plantes-insectes et sont susceptibles de moduler les comportements d'alimentation et de ponte (Simmonds 2001). Cependant, il semble que la rutine ainsi que chacun des autres dérivés de quercétine de *C. sativa*, soient des moyens de dissuasion alimentaire faibles voire inefficaces face aux altises (Onyilagha *et al.* 2012).

Les glucosinolates (GLS) sont des métabolites secondaires défensifs caractéristiques des Brassicaceae et hydrolysés, suite à des lésions des tissus végétaux, par l'enzyme myrosinase (Fahey, Zalcmann & Talalay 2001). Le système glucosinolates-myrosinase est parfois appelée la «mustard oil bomb» (« bombe à moutarde ») (Grubb & Abel 2006). En fonction du type de glucosinolate, les produits d'hydrolyse formés peuvent être des (iso)thiocyanates ou des nitriles qui sont toxiques pour les herbivores (surtout les généralistes) (Bones & Rossiter 2006; Halkier & Gershenzon 2006; Bruce 2014). Les pucerons n'induisent que des lésions tissulaires minimales et sont donc plus exposés aux glucosinolates intacts qu'aux produits d'hydrolyse (Kuśnierczyk *et al.* 2008). Ceci pourrait expliquer pourquoi certains gènes de plante de myrosinase n'ont pas d'effet sur les performances de *Myzus persicae* et *Brevicoryne brassicae* (Barth & Jander 2006), tandis que des changements dans les profils en GLSs influencent la fécondité et le choix de plante-hôtes des pucerons (Levy *et al.* 2005; Mewis *et al.* 2006). *Camelina sativa* accumule des niveaux significatifs de trois glucosinolates dans les graines : glucoarabine (9 - (Méthylsulfinyl) nonylglucosinolate - GS9), glucocamelinine (10 - (méthylsulfinyle) decylglucosinolate - GS10), et 11 - (Méthylsulfinyle) undecylglucosinolate (GS11) (Berhow *et al.* 2013). Ces teneurs dans les graines sont variables en fonction des génotypes et sensibles aux conditions climatiques (Farnham, Stephenson & Fahey 2005). Les structures des glucosinolates de la cameline sont semblables à celles de la glucoraphanine (4-(méthylsulfinyl)butylglucosinolate), glucosinolate produit dans le brocoli (*Brassica oleracea* L. var. italica) et autres Brassicaceae. Aucune étude ne semble avoir pour le moment dosé les glucosinolates présents dans les feuilles de cameline, cependant, des homologues de tous les gènes qui sont impliqués dans la voie de biosynthèse des glucosinolates chez *A. thaliana* ont été retrouvés chez *C. sativa* (Liang *et al.* 2013).

Un dernier composé susceptible de modifier les interactions plantes-insectes pourrait être la camalexine (3-thiazol-2-yl-indole). C'est un alcaloïde indole simple, trouvé chez *A. thaliana* et *C. sativa* et d'autres Brassicaceae mais pas dans le colza (Browne *et al.* 1991; Kuśnierczyk *et al.* 2008). Cette phytoalexine a une fonction de métabolite secondaire et joue un rôle contre les agents pathogènes bactériens et

fongiques (Nafisi *et al.* 2007). Récemment, une étude a mis en évidence que la résistance d'*A. thaliana* à *M. persicae* impliquait la camalexine (Kettles *et al.* 2013).

2. Les pucerons

2.1. Biologie des pucerons et sélection de la plante-hôte

Les pucerons font partie de l'ordre des Hémiptères et du sous-ordre des Sternorrhynques. Ils sont regroupés dans une super-famille, les Aphidoidea, composée de plus de 4 700 espèces, dont 450 sont des espèces colonisatrices de grandes cultures (Blackman & Eastop 2000). De nombreuses espèces de pucerons sont répertoriées comme vecteur de virus de plante (syn. phytovirus), la plupart appartenant à la sous-famille des Aphidinae, tels que les genres *Myzus*, *Macrosiphum* et *Aphis* (Ferreles & Moreno 2009). C'est cette capacité à transmettre des phytovirus qui fait de ces insectes d'importants ravageurs de cultures.

Les pucerons sont plurivoltins, ils présentent plus de deux générations par an. Leur cycle de vie est complexe, variable en fonction des saisons, et ils peuvent être soit monoéciques (c'est-à-dire qu'ils réalisent la totalité de leur cycle de reproduction sur le même hôte), soit hétéroéciques (lorsqu'ils alternent entre un hôte primaire durant la période hivernale et un hôte secondaire à partir du printemps) (Blackman & Eastop 2000; Williams & Dixon 2007). Au moment de la chute des températures, en automne, les femelles virginipares donnent des femelles gynopares qui se déplacent vers l'hôte primaire. Ces femelles engendrent des individus mâles et femelles ovipares par parthénogenèse deutérotèque (i.e. l'œuf non fécondé donne des femelles et des mâles). Ces individus génèrent alors des œufs, résistants aux faibles températures de l'hiver. Au printemps, les œufs de femelles fondatrices parthénogénétiques éclosent et conduisent au développement de femelles parthénogénétiques ailées assurant une migration sur un hôte secondaire. Ces femelles migrantes engendrent des femelles vivipares aptères qui assurent la multiplication de la colonie par parthénogenèse thélytoque (i.e. l'ovocyte parvient à se développer sans avoir subi de fécondation préalable). La reproduction parthénogénétique des pucerons leur permet de générer de nombreux individus en un minimum de temps d'autant qu'elle se superpose à l'existence de générations télescopiques, où les embryons d'une femelle possèdent eux-mêmes des embryons en tout début de développement. Ce mode de reproduction conduit à de forts taux intrinsèques d'accroissement des populations (r_m) (Dixon 1998).

Les pucerons peuvent présenter une alternance de leur mode reproductif (biparental / parthénogénétique) au cours des saisons, ils sont alors holocycliques et sont généralement distribués dans les régions caractérisés par des hivers froids. Les espèces anholocycliques peuvent se passer, quant à elles, de la phase de reproduction sexuée biparentale (Williams & Dixon 2007). Les pucerons ont la capacité de générer des formes aptères ou des formes ailées, ces dernières étant nécessaires pour assurer les migrations à longue distance lors des changements d'hôtes (Dixon 1998). La production des ailés est

sous l'influence de différents facteurs biotiques et abiotiques tels que la température, la photopériode mais également la densité des populations ainsi que la qualité nutritionnelle de la plante-hôte (Müller, Williams & Hardie 2001; Braendle *et al.* 2006; Lombaert, Boll & Lapchin 2006; Williams & Dixon 2007).

Le processus de colonisation d'une nouvelle plante hôte est souvent assuré au début du printemps par les ailés, puis se poursuit au cours des saisons sous l'influence des différents facteurs biotiques et abiotiques cités précédemment. Les aptères peuvent également migrer vers les plantes voisines et permettent une dispersion de la colonie à distance plus réduite (Dixon 1998). Les morphes aptères sont d'ailleurs moins sensibles que les morphes ailés aux stimuli de la plante et répondent moins aux odeurs (Nottingham *et al.* 1991; Quiroz & Niemeyer 1998). Les morphes ailés présentent quant à eux une capacité de dispersion à courte, moyenne et longue distance (Dixon 1998; Lombaert *et al.* 2006).

Le processus de colonisation chez les pucerons ailés a été décrit par (Powell, Tosh & Hardie 2006). Il est initié en réponse à certains facteurs biotiques et abiotiques tels que l'accroissement de la densité de population, la diminution de la qualité nutritionnelle de l'hôte ou encore la présence d'ennemis naturels (Pettersson, Tjallingii & Hardie 2007). Les pucerons sont, pour la plupart des espèces, spécialisés et utilisent des stimuli visuels, olfactifs, mécaniques et gustatifs leur permettant de sélectionner leurs plantes hôtes (Niemeyer 1990; Bernays & Chapman 1994). La colonisation de la plante peut se décomposer en plusieurs séquences comportementales. La migration en est la première étape, durant laquelle le puceron, à la recherche d'une plante-hôte adéquate, est sensible à différents stimuli visuels et olfactifs. La seconde étape est la phase d'atterrissage durant laquelle le puceron est sensible à des stimuli tactiles principalement. La troisième étape consiste à sélectionner un site de piqure afin de tester la nature (i.e. hôte ou non-hôte) de la plante. Dans une quatrième étape, le puceron entre dans une phase de recherche du site d'alimentation qui induit une acceptation définitive de la plante et la possibilité de reproduction. Ces deux dernières étapes impliquent des stimuli gustatifs principalement.

Les descriptions suivantes des différentes espèces de pucerons étudiées font essentiellement référence à Blackman & Eastop (2000).

2.2. *Brevicoryne brassicae* (L.)

Brevicoryne brassicae est une espèce d'origine paléarctique oligophage dont la gamme d'hôte est restreinte aux Brassicaceae : la sinigrine, glucosinolate hétéroside retrouvé chez certaines plantes du genre *Brassica* constitue un stimulus nécessaire à son alimentation. C'est une espèce monoécique, holocyclique dans les régions les plus froides et anholocyclique dans les zones d'hivers doux. *Brevicoryne brassicae* est une espèce de taille moyenne avec des aptères mesurant de 1,6 à 2,6 mm de long et des ailés de 1,6 à 2,8 mm de long. Son corps, de couleur vert grisâtre, est couvert de cire farineuse blanche-grisâtre. Cette espèce de puceron est identifiée comme vecteur d'au moins 20 virus différents

de plantes incluant le *Turnip mosaic Virus* (TuMV – *Potyvirus*) et le *Cauliflower mosaic virus* (CaMV – *Caulimovirus*).

2.3. *Myzus persicae* (Sulzer)

Myzus persicae est une espèce d'origine asiatique, cosmopolite et hautement polyphage. L'hôte primaire de cette espèce est généralement *Prunus persica*, incluant différentes variétés, et ses hôtes secondaires forment un ensemble composé de plus de 40 familles différentes de plantes, la plupart d'importance agro-économique. *Myzus persicae* est un puceron hétéroécique et holocyclique entre son hôte primaire et ses hôtes secondaires dans les régions tempérées du monde, mais anholocyclique sur ses hôtes secondaires dans les régions où le climat permet une survie des individus durant la saison hivernale. Les individus, de couleur jaune à vert et même rose/rouge pour certaines écotypes, sont de petite taille, mesurant entre 1,2 et 2,1 mm de long pour les aptères et les ailés. Cette espèce est considérée comme le vecteur le plus efficace de phytovirus avec au minimum 100 phytovirus recensés, parmi lesquels des virus persistants comme le *Beet western yellows virus* (renommé *Turnip yellows virus* – *Luteovirus*) et le *Potato leafroll virus* (PLRV – *Polerovirus*). L'espèce est également très efficace dans la transmission de virus non-persistants tel que le *Cucumber mosaic virus* (CMV – *Cucumovirus*) ou semi-persistants tel que le CaMV.

2.4. *Aphis fabae* (Scopoli)

Aphis fabae est une espèce très répandue dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord ainsi qu'en Amérique du Sud et Afrique. C'est une espèce très polyphage au niveau de ses hôtes secondaires (plus de 200 hôtes recensés dans plus de 20 familles de plantes), incluant de nombreuses plantes cultivées et particulièrement les Fabaceae. *Aphis fabae* est un puceron de couleur noire, avec des individus adultes arborant des marques de cires blanches sur l'abdomen, et de taille moyenne avec des aptères mesurant de 1,5 à 3,1 mm de long et des ailés de 1,3 à 2,6 mm de long. Ce puceron est vecteur de plus de 30 différents phytovirus incluant des virus non-persistant des Fabaceae, Chenopodiaceae, Solanaceae et Cucurbitaceae mais également des *Luteovirus* persistants.

2.5. *Rhopalosiphum padi* (L.)

Espèce d'origine paléarctique probable, elle est désormais distribuée mondialement. *Rhopalosiphum padi* est une espèce hétéroécique et holocyclique entre son hôte primaire (*Prunus padus*) et ses hôtes secondaires, les Poaceae, dans les régions tempérées du monde, mais anholocyclique sur ses hôtes secondaires dans les régions où le climat permet une survie des individus durant la saison hivernale. Une grande partie des Poaceae cultivées sont des hôtes secondaires privilégiés de ce puceron mais il exploite plutôt les céréales (blé, orge, avoine) parmi lesquelles il montre une préférence pour le maïs. Cette espèce est le vecteur de virus persistants tel que le Barley yellow dwarf virus (BYDV – *Luteovirus*) et de quelques virus non-persistants.

3. Les parasitoïdes de pucerons

3.1. Biologie et sélection de l'hôte

Les parasitoïdes de pucerons sont regroupés principalement dans deux groupes d'Hyménoptères, la sous-famille des Aphidiinae et la famille des Aphelinidae. Les parasitoïdes de pucerons sont des endoparasitoïdes solitaires, c'est-à-dire qu'une seule larve se développe à l'intérieur du puceron-hôte. Ils sont koïnobiontes, c'est-à-dire que leur hôte continue à se développer après l'oviposition du parasitoïde. Parmi les Aphidiinae sont répertoriées plus de 400 espèces, parasitant exclusivement les pucerons.

Chez les Aphidiinae, lors de l'oviposition, la femelle parasitoïde effectue une courbure de l'abdomen sous le thorax et le projette à l'avant afin de piquer l'hôte avec son ovipositeur. Cette insertion de l'ovipositeur n'est toujours pas synonyme d'une ponte. La durée de l'oviposition chez les Braconidae est très courte, entre une/deux secondes et quelques dizaines de secondes. La distinction entre une simple insertion de l'ovipositeur et une vraie ponte n'est pas facilement observable (description dans Ismaeil *et al.* (2013)) et nécessite souvent une dissection de l'hôte. La nutrition des trois premiers stades larvaires du parasitoïde est assurée par certaines cellules spécialisées issues de la séreuse embryonnaire, les tératocytes, qui exercent en plus diverses fonctions d'immunosuppression et de sécrétion (Dahlman 1990). Le puceron-hôte meurt durant le quatrième stade larvaire du parasitoïde, juste avant la mue nymphale, et seule la cuticule du puceron persiste, ses organes et tissus ayant été entièrement consommés. Ce stade caractéristique de puceron parasité est nommé « momie ».

Le parasitoïde adulte émerge ensuite de la momie en y découpant un orifice circulaire sur la face dorsale. Les adultes sont sexuellement matures rapidement et peuvent s'accoupler dans les minutes suivant l'émergence de la momie. Les femelles sont considérées synovigéniques (i.e. les femelles émergent avec au moins quelques œufs immatures en opposition avec pro-ovogénique, lorsque les femelles émergent avec la totalité de leurs œufs matures Jervis *et al.* (2001)), cependant, il existe un continuum en fonction des espèces qui tend vers la pro-ovigénie car même si les femelles n'ont pas tous leurs œufs matures à l'émergence, ceux-ci le sont souvent dans les 24 premières heures. Les femelles ne s'accouplent qu'avec un seul mâle alors que ces derniers peuvent s'accoupler avec plusieurs femelles.

Le mode de reproduction des parasitoïdes de pucerons est biparental. Les œufs haploïdes (i.e. non fécondés) conduisent au développement de mâles (parthénogenèse arrhénotoque), alors que les œufs diploïdes (i.e. fécondés) donnent des femelles.

La sex-ratio des femelles fécondées peut être influencée par des facteurs internes et/ou externes du puceron-hôte comme le stade ou la taille de l'individu. De même, les performances des adultes, tout particulièrement leur longévité, peuvent dépendre de facteurs abiotiques, tels que la température, la

disponibilité en eau et nourriture (i.e. nectar et miellat) mais aussi par des facteurs biotiques tels que la présence des pucerons-hôtes.

La sélection des pucerons-hôtes par les parasitoïdes est régie par des mécanismes proximaux par lesquels une femelle parasitoïde localise puis sélectionne un hôte potentiel pour la ponte. Cette sélection suppose une hiérarchie d'étapes caractérisées initialement par Doutt (1959) et complétées par (Rehman & Powell 2010). Cette sélection serait dépendante à la fois de facteurs environnementaux et de facteurs liés à l'hôte. Le parasitoïde serait guidé vers un habitat potentiel de l'hôte et vers l'hôte lui-même par des facteurs chimiques et physiques. Ces facteurs provoquent une série de réponses comportementales directes chez la femelle qui permettent de réduire et de limiter la zone et les habitats recherchés, conduisant à la localisation de l'hôte.

L'ensemble du processus de la sélection des hôtes peut être décrit suivant six étapes distinctes:

1. Localisation de l'habitat de l'hôte: La femelle parasitoïde recherche des habitats où les plantes-hôtes et les pucerons-hôtes se rejoignent.
2. Localisation de l'hôte: La femelle parasitoïde cherche l'hôte, sur ou très près des plantes.
3. Reconnaissance de l'hôte: La femelle parasitoïde rencontre des hôtes potentiels, évalue leur qualité à l'aide de ses antennes et de son ovipositeur.
4. Acceptation de l'hôte: La femelle parasitoïde examine l'hôte et décide de déposer un œuf.
5. Qualité de l'hôte: Le dépôt d'un œuf et son développement ultérieur dépendent de l'état physiologique de l'hôte.
6. Régulation de l'hôte: Le développement du parasitoïde peut influencer le développement, le comportement, la physiologie et la biochimie de son hôte.

Le comportement de recherche et de sélection de l'hôte chez les parasitoïdes est variable au niveau intra-spécifique, mais également chez la même femelle au cours du temps. La théorie de l' « optimal foraging » prédit que la sélection de l'hôte par la femelle, parmi plusieurs choix possibles, amènera celle-ci à déterminer le choix qui permettra de maximiser sa fitness. Le comportement de sélection et d'oviposition de la femelle est donc variable en fonction de circonstances telles que l'âge, l'état physiologique et l'expérience de la femelle mais aussi le risque de prédation (Mackauer, Michaud & Volkl 1996; Rehman & Powell 2010; Giunti *et al.* 2015).

3.2. *Aphidius matricariae* (Haliday) et *Aphidius colemani* (Viereck)

Ces deux espèces d'*Aphidius* sont des endoparasitoïdes solitaires et koïnobiontes. Elles sont probablement originaires du Nord de l'Inde ou du Pakistan mais elles sont désormais largement distribuées sur les continents américains et en Europe. Ce sont des espèces généralistes capables d'attaquer plus de 40 espèces de pucerons différentes sur plusieurs familles botaniques de plantes

comprenant une large gamme de composés chimiques (Schlinger & Mackauer 1963; Stary 1975). Les deux espèces sont produites commercialement en Europe pour le contrôle biologique des pucerons tels que *M. persicae* et *A. gossypii*, sur des cultures de Solanaceae et Cucurbitaceae.

3.3. *Diaeretiella rapae* (M'Intosh)

Diaeretiella rapae est un endoparasitoïde solitaire et koïnobionte cosmopolite capable de parasiter plus de 60 espèces de pucerons différentes (Pike *et al.* 1999). Il est couramment associée aux pucerons des Brassicaceae tels que *B. brassicae*, *Lipaphis erysimi* ou *M. persicae* (Blande, Pickett & Poppy 2004). Cette espèce utilise en effet l'odeur caractéristique des Brassicaceae (allylisothiocyanates) pour localiser ses hôtes (Read, Feeny & Root 1970) et semble attirée par les composés secondaires émis par ces plantes après une attaque par les herbivores (Herbivore Induced Plant Volatils – HIPV) (Read *et al.* 1970; Reed *et al.* 1995; Blande, Pickett & Poppy 2007; Pope *et al.* 2008). *Diaeretiella rapae* est donc considérée comme une espèce spécialiste des pucerons se développant sur les Brassicaceae.

4. Les phytovirus

Les virus dominent le biote sur notre planète, infectant les animaux, les plantes et même d'autres microbes. Les études récentes tendent à démontrer que les relations entretenues par les virus avec d'autres organismes sont très variées, de préjudiciables à mutualistes. La nature de ces relations est particulièrement importante pour les virus qui dépendent d'autres organismes pour leur propagation dans l'environnement, comme cela est le cas pour la plupart des virus infectant les plantes (Casteel & Falk 2016).

Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires constituant un groupe bien particulier de phytopathogènes. Ne pouvant pas se multiplier de façon autonome, ils se développent grâce au détournement des fonctions et ressources disponibles d'une cellule hôte (Lwoff 1957). Les virus ne peuvent accomplir leur cycle de réplication qu'à l'intérieur de cellules vivantes. Leur multiplication dépend entièrement de leurs cellules hôtes pour la synthèse de protéines virales et la réplication de leur génome. Les plantes infectées peuvent parfois développer des symptômes (par exemple, des lésions nécrotiques, des altérations de la croissance et du développement...), résultant d'un déséquilibre au niveau des interactions virus-hôte. De plus, la compétition pour les ressources présentes dans l'hôte peut induire des dérèglements physiologiques à cause du virus qui est susceptible de modifier l'expression de gènes impliqués dans des processus cellulaires (par exemple des régulations hormonales, des divisions cellulaires, des transports de molécules, etc.) (Pallas & Garcı 2011).

Les virus infectant les plantes sont majoritairement constitués d'ARN de polarité positive (ARN⁺) mais il existe aussi d'autres types de virus dont l'ARN génomique est de polarité négative (ARN⁻) ou ambisens, ainsi que des génomes à ARN double brin (ARNdb) ou à ADN. Les acides nucléiques (ARN

ou ADN) des virus sont associés à des protéines formant une capsid protectrice et l'ensemble composé par la capsid et les acides nucléiques constitue la nucléocapsid (Kummert & Lepoivre 2003). Près de 1 200 espèces de phytovirus ont été dénombrées, réparties dans une quarantaine de familles contenant plusieurs milliers d'isolats (Kummert & Lepoivre 2003).

De par la nature sessile des plantes, les phytovirus sont confrontés à des difficultés de transmission et ont dû s'adapter en développant différentes stratégies de dissémination. Un virus qui ne peut pas s'échapper de la plante infectée disparaîtra avec la mort de son hôte. La transmission d'une plante infectée à une plante saine est donc une étape capitale pour la survie du virus, permettant, de plus, une dispersion géographique. Plusieurs stratégies de transmission coexistent pour les phytovirus ; le mode de transmission utilisé dépend de plusieurs facteurs, comme l'espèce virale, l'espèce-hôte à infecter mais aussi l'hôte source.

La transmission verticale d'une plante mère infectée à une plante fille s'effectue par la présence du virus dans le pollen (Mink 1993) ou les graines (Hogenhout *et al.* 2008) mais aussi lors de la multiplication végétative (i.e. bouturage ou marcottage).

Il existe un autre moyen de transmission dite horizontale qui concerne 80% des virus. Cette transmission fait soit intervenir un vecteur permettant aux virus d'être véhiculés d'une plante à une autre, ou bien s'effectue par la voie mécanique, c'est-à-dire une inoculation par contact après blessure. Les vecteurs sont des organismes aux origines très variées : des arthropodes comme les acariens et les insectes, des nématodes, ou d'autres pathogènes végétaux comme les champignons et les plasmodiophorales. Parmi ces vecteurs, la dissémination la plus efficace semble réalisée par les insectes piqueurs-suceurs, grâce à l'adaptation de leurs pièces buccales, peu dommageables pour les cellules de plantes (Ferreles & Moreno 2009). Les Hémiptères constituent le groupe le plus important de vecteurs (Ferreles & Moreno 2009), et tout particulièrement les pucerons qui transmettent plus de 50% des phytovirus (environ 275 espèces de virus dans 19 genres) (Nault 1997). Les pucerons sont des vecteurs efficaces car ce sont souvent des insectes polyphages qui peuvent se nourrir sur un grand nombre de plantes. Ainsi, ils favorisent la dissémination des virus infectant plusieurs espèces de plantes hôtes (Ng & Perry 2004; Brault *et al.* 2010). De plus, le comportement alimentaire piqueur-suceur des pucerons facilite l'acquisition et l'inoculation de virus, présents dans les différents tissus du végétal. En effet, le comportement d'alimentation des puceron présente différentes phases de piqûres dans les tissus du mésophylle et des phases d'alimentation dans les sèves phloémienne et xylémienne (Ng & Perry 2004; Louis, Singh & Shah 2012).

4.1. Classification

Tableau 1. Différents modes de transmission de virus de plante par les insectes piqueurs-suceurs (adapté et traduit de Blanc, 2008 et Brault et al. 2010).

Modes de transmission	Circulant		Non-circulant	
	Persistant Propagatif	Persistant Non-propagatif	Non-persistant	Semi-persistant
Durée d'acquisition^a	Minutes à heures	Minutes à heures	Secondes à minutes	Secondes à heures
Durée de rétention^b	Jours à mois	Jours à mois	Secondes à minutes	Minutes à heures
Durée d'inoculation^c	Minutes à heures	Minutes à heures	Secondes à minutes	Secondes à heures
Association avec des vecteurs^d	Interne	Interne	Externe	Externe
Réplication dans les vecteurs	Oui	Non	Non	Non
Besoin d'un HC^e	Non	Non	Oui et non	Oui et non

a. Durée nécessaire pour l'acquisition des particules virales par l'alimentation sur une plante infectée.

b. Durée pendant laquelle le vecteur reste virulifère après l'acquisition du virus.

c. Durée nécessaire au vecteur pour inoculer des particules virales infectieuses à une nouvelle plante saine.

d. Interne ; signifie que le virus pénètre dans le corps de son vecteur, en passant les barrières cellulaires. Externe ; signifie que le virus est lié à la cuticule du vecteur et ne passe jamais les barrières cellulaires.

e. Un composant auxiliaire (Helper Component - HC) est impliqué dans les cas où les particules virales ne reconnaissent pas directement les vecteurs, agissant comme un pont moléculaire entre les deux.

Une première classification distingue les virus en fonction des durées des différentes étapes nécessaires à la transmission du phytovirus d'une plante à une autre par l'intermédiaire du vecteur (**Tableau 1.**).

Cette classification établit une distinction entre trois mode de transmission (Watson & Roberts 1939; Sylvester 1956) : **persistant**, **semi-persistant** et **non-persistant**.

Les virus **persistants** nécessitent une longue période d'acquisition par le vecteur lors de son comportement d'alimentation. Les particules virales transitent par le tube digestif du vecteur puis traversent la barrière épithéliale avant d'atteindre l'hémolymph. Elles migrent alors vers les glandes salivaires à partir desquelles elles seront inoculées lors de futures phases de salivation (Brault *et al.* 2010). Le vecteur garde la possibilité de transmettre le virus (i.e. reste virulifère) pendant plusieurs jours ou tout au long du cycle de vie. Les virus **non-persistants** sont acquis durant de brèves (i.e. quelques secondes) piqûres intracellulaires et leur durée de rétention ne dépasse pas l'heure. Les virus **semi-persistants**, comme les non-persistants, sont acquis rapidement mais leur durée de rétention dans le vecteur est plus importante, de quelques minutes à plusieurs heures.

Une seconde classification des virus, basée sur la localisation des virus au sein du vecteur, distingue deux catégories.

Une première catégorie intègre les virus non-persistants et semi-persistants et correspond aux virus **non-circulants** (Harris 1977), avec des durées de rétention de quelques secondes à quelques heures et aucun processus de réplication du virus dans le vecteur. Ces virus ne sont détectés ni dans l'hémolymphe ni dans les glandes salivaires (Gray & Banerjee 1999).

Une seconde catégorie, les virus **circulants**, correspondant à celle des virus persistants, distingue les virus circulants **propagatifs** des **non-propagatifs**. Pour les premiers, le vecteur est porteur du virus pendant toute sa vie, peut le transmettre à sa descendance et le virus se multiplie au sein des glandes salivaires du vecteur. Pour les virus circulants non-propagatifs, le vecteur est porteur du virus pendant toute sa vie, ne peut pas le transmettre à sa descendance et le virus ne se multiplie pas dans le vecteur.

Une troisième et dernière classification fait référence au site de rétention du virus dans le vecteur, les virus retenus à la pointe des stylets sont appelés « **stylet-borne** » (Kennedy, Day & Eastop 1962), alors que ceux retenus dans l'intestin antérieur sont appelés « **foregut-borne** » (Nault & Ammar 1989). Les deux sont parfois regroupés sous le terme « **cuticula-borne** » (Harris, Pesic-Van Esbroeck & Duffus 1996), se référant à des virus qui sont retenus sur la paroi cuticulaire de l'appareil alimentaire du vecteur. Pour finir, le terme « **salivary gland-borne** » par analogie avec le terme « cuticula-borne » a été proposé pour se référer à des virus circulants qui sont transmis à partir des tissus salivaires (Fereres & Moreno 2009) (**Fig. 6.**).

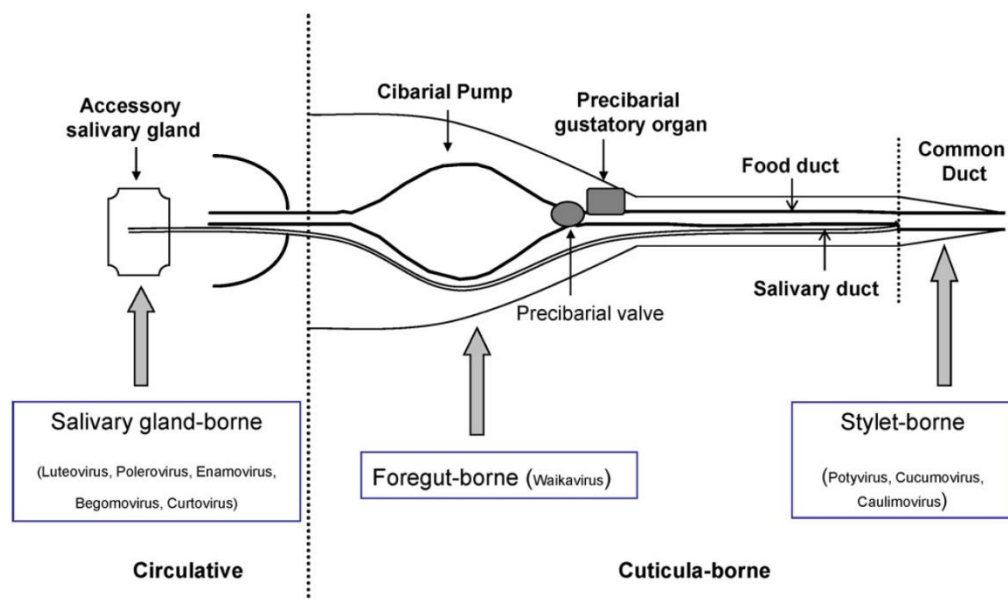


Fig. 6. Schéma représentant les sites de rétention probables (flèches) pour les virus circulants de type « cuticula-borne » au sein des stylets, de l'intestin antérieur et des glandes salivaires de l'insecte (issus de Fereres & Moreno (2009)).

Une fois que les virus sont acquis par un vecteur, ils ont besoin de s'attacher et de s'accumuler dans des sites spécifiques où ils peuvent être protégés jusqu'à ce que le vecteur permette l'inoculation vers de nouvelles plantes. Certains groupes de virus requièrent une protéine codée par le virus qui permet ou facilite le maintien du virion aux pièces buccales des insectes. Cette protéine virale ou composé

« helper » (HC) a premièrement été décrite pour les potyvirus (Kassanis & Govier 1971), puis pour d'autres virus « culticula-borne » comme les caulimovirus (Lung & Pirone 1974).

4.2. Le TuYV

Le virus de la jaunisse du navet (*Turnip yellows virus*, TuYV) (Leiser *et al.* 1992), anciennement dénommé *Beet western yellows virus* (BWYV), est un virus circulant (persistant) non-propagatif appartenant à la famille des *Luteoviridae* et au genre des *Polerovirus* (Duffus 1981; Stevens, Smith & Hallsworth 1994; Stevens, Mcgrann & Clark 2008). C'est un virus à ARN linéaire simple brin à polarité positive de 5,7 kpb. Ce virus, comme tous les *Luteoviridae*, est limité dans la plante aux tissus du phloème et est transmis exclusivement par des pucerons (Brault *et al.* 2010). Il est capable d'infecter au moins 13 familles de plantes, incluant les Brassicaceae (Stevens *et al.* 2008). Le principal vecteur de ce virus est *M. persicae* mais d'autres espèces seraient aussi capables d'assurer sa transmission. Le puceron cendré du chou, *B. brassicae*, est reporté comme vecteur du TuYV dans certaines études (Stevens, Smith & Hallsworth 1995; Schliephake, Graichen & Rabenstein 2000) et non-vecteur pour d'autres (Herrbach 1994).

4.3. Le CaMV

Le Virus de la mosaïque du chou (*Cauliflower mosaic virus* - CaMV) est l'un des virus les plus largement répandus dans les cultures appartenant au genre Brassica dans le monde entier (Jenkinson 1955; Raybould *et al.* 1999; Pallett *et al.* 2002). Le CaMV, de la famille des *Caulimoviridae*, a un génome double brin ADN circulaire de 8 kpb. Le CaMV est transmis par au moins 27 espèces de pucerons (Kennedy *et al.* 1962) selon le mode de transmission semi-persistant non-circulant, ce qui signifie que les particules virales ne traversent pas les membranes cellulaires du vecteur. Le CaMV utilise la «Helper strategy» pour le processus de transmission (Pirone & Blanc 1996). Cette stratégie implique qu'une protéine virale (Helper Component, HC) assure la fixation, et la rétention, des particules virales du CaMV au niveau de la cuticule des stylets des pucerons (Uzest *et al.* 2007). Les principaux vecteurs en champs sont *M. persicae* et *B. brassicae* (Broadbent 1957). L'acquisition du CaMV peut s'effectuer durant de brèves ponctions intracellulaires réalisées par le vecteur mais elle est fortement augmentée après une ingestion de sève phloémienne (Palacios *et al.* 2002). L'inoculation de CaMV est associée aux phases successives de salivation par les pucerons pendant les piqûres dans les cellules de l'épiderme et du mésophylle, avant d'atteindre les vaisseaux du phloème (Moreno *et al.* 2005).

Partie 2 : Méthodes expérimentales

Pour appréhender et caractériser les interactions multi-trophiques, différentes approches physiologiques et/ou comportementales ont été mise en œuvre aux différents niveaux trophiques.

A l'échelle de la plante, selon les chapitres, nous avons mesurés deux types de paramètres, soit morphométrique (taille, masse) ou soit physiologique (activité photosynthétique), utilisés comme proxys de fitness des plantes. Les plantes ont également été soumises à différents tests biochimiques (test ELISA pour confirmer le statut infecté/non-infecté des plantes), ou chimiques (dosages Carbone/Azote permettant de calculer un ratio C :N utilisé comme proxy de la qualité de la plante en tant qu'hôte pour les herbivores).

A l'échelle des pucerons-vecteurs, l'étude des traits d'histoire de vie des différentes espèces de pucerons a été réalisée au moyen de mesures physiologiques et morphométriques. La méthode dite des « clip-cages » a permis de mesurer les paramètres de fécondité et de survie des pucerons. Des mesures biométriques, proxy de fitness, ont été également réalisées pour les pucerons (longueur totale ou masse fraîche). Les études comportementales concernant les pucerons se décomposent en deux dispositifs, un premier permettant de tester l'attraction/colonisation à courte distance et un second de dispersion/rétention afin d'évaluer les mouvements de pucerons face à deux plantes testées. Le comportement alimentaire des pucerons a été évalué sur différentes plantes hôtes grâce à l'outil EPG (Électropénétrographie). Pour finir, afin d'estimer la qualité des pucerons comme hôte pour les parasitoïdes en développement, des dosages de Carbone et d'Azote ont été réalisés sur pucerons afin de calculer un ratio C :N, ainsi que des dosages des sucres et lipides totaux.

A l'échelle des parasitoïdes, l'étude des traits d'histoire de vie des différentes espèces a été réalisée au moyen de mesures physiologiques (durée de développement, stock d'œufs...) et morphométriques (longueur du tibia). Le comportement d'orientation à courte distance a été testé face à différents complexes plantes-pucerons. Puis, le comportement d'attaque des femelles parasitoïdes a été enregistré pour différentes associations plantes-pucerons. Pour finir, des analyses biochimiques ont été réalisés afin de mesurer la teneur en lipides des femelles parasitoïdes.

Pour plus de clarté, les protocoles seront par la suite présentés et regroupés en fonction du type d'approche méthodologique.

1. Élevage des plantes, insectes et maintien des souches virales

Les différentes espèces de plantes utilisées dans cette étude ont été placées en phytotron dans des conditions contrôlées (température $20 \pm 1^\circ\text{C}$; 60 ± 5 % d'humidité relative (RH); photophase de 16 h à 2,5 klux). Les différentes espèces (clones) de pucerons utilisées dans cette étude ont été élevées en

phytotron dans des conditions contrôlées identiques à celles utilisées pour les plantes. Chaque colonie a été initiée à partir d'une femelle aptère virginipare puis maintenue par parthénogenèse sur des plantes hôtes indemnes de virus dans des boîtes en Plexiglas® ventilées (36 x 24 x 11 cm). Le clone de *M. persicae* a été prélevé en 1999 sur culture de pommes de terre du nord de la France (Loos-en-Gohelle) et maintenu sur pomme de terre (*Solanum tuberosum* var. Désirée) et sur colza (*Brassica napus* L. var. Adriana). Les clones de *B. brassicae* et *R. padi* ont été fournis en 2008 par le laboratoire de « Biologie et Génétique des Interactions Plante-Parasite » de l'INRA-Le Rheu de Rennes puis maintenus respectivement sur colza (*Brassica napus* L. var. Stego) et sur orge (*Hordeum vulgare* L. var. Cervoise). Pour finir, le clone d'*A. fabae* a été fourni en 2012 par Gembloux Agro-Bio Tech (Belgique) puis maintenu sur féverole (*Vicia faba* var. Maya). Les plantes utilisées ont été cultivées à partir de tubercules pour les pommes de terre et de graines pour les autres plantes dans les conditions contrôlées détaillées précédemment.

Les espèces de parasitoïdes *A. matricariae* et *A. colemani* nous ont été fournies par VIRIDAXIS (Gosselie, Belgique) et *D. rapae* par IFTECH (Les Ponts de Cé, France). Les parasitoïdes sont réceptionnés sous forme de momies et directement transférés dans des tubes à hémolyse en plastique (7,5 x 1,3 cm) bouchés par un morceau de coton. Après émergence, les parasitoïdes sont sexés et l'accouplement est permis en regroupant 3-4 mâles pour 6-7 femelles dans le même tube. Les parasitoïdes sont nourris *ad libitum* avec une solution 1 :1 eau : miel (volume/volume) jusqu'à leur utilisation pour les expériences. Ils sont maintenus dans une pièce climatisée dans des conditions contrôlées (température $20 \pm 1^\circ\text{C}$; 60 ± 5 % d'humidité relative (RH); photophase de 16 h à 2,5 klux). Les femelles « standardisées » utilisées dans les expériences sont âgées de trois à cinq jours, accouplées, nourries et sans expérience d'oviposition ou d'odeur de plante hôte.

La souche du virus TuYV a été fournie par Véronique Ziegler-Graff de l'IBMP-CNRS (Strasbourg, France) par l'intermédiaire d'une plante de Claytonia (*Montia perfoliata* - *Portulacaceae*) virosée. Au laboratoire, le TuYV a été maintenu sur des plants de Claytonia par transmission horizontale impliquant *M. persicae*.

2. Études physiologiques et morphométriques

2.1. Suivi physiologique des pucerons en « Clip-cages »

Les études physiologiques ont été initiées en utilisant des néonates de pucerons âgées de moins de 24 h placées dans des « clip-cages » sur les plantes hôtes à tester (MacGillivray & Andersen 1957). Les néonates de moins de 24 h sont obtenues à partir de pucerons adultes préalablement positionnés sur une feuille de la plante hôte fixée dans de l'agar (1.5 %) dans une boîte de Pétri. Une « clip-cage » renfermant 5 néonates est positionnée sur la 2^{ème} feuille pleinement développée de chaque plante et un minimum de 20 plantes est utilisé par modalité testée (soit au minimum 20 x 5 pucerons par modalité).

Les « clip cages » sont construits en utilisant un cylindre en acrylique transparent (15 mm de diamètre, 8 mm de profondeur) couvert sur le dessus par une gaze en nylon (**Fig. 7.**). Du feutre a été utilisé comme barrière physique entre le cylindre et la surface de la feuille. Le cylindre a été fermé par un disque en plastique de 20 mm de diamètre. Le cylindre et le disque sont tenus ensemble par une pince cosmétique Mezzo®. L'état de survie des pucerons a été relevé quotidiennement jusqu'à ce que l'un d'entre eux se reproduise. A ce stade nous considérons que les pucerons ont atteint le stade adulte. Lorsque cela est possible, deux pucerons survivants par « clip-cage » ont alors été conservés et l'un des deux pucerons est transféré dans une « clip-cage » positionnée sur la feuille supérieure de la même plante. La survie et la fécondité des adultes ont ensuite été contrôlées quotidiennement sur un minimum de 22-23 pucerons par modalité. Ces expériences ont été effectuées dans une salle climatisée en conditions contrôlées ($20 \pm 1^\circ \text{C}$ et $60 \pm 5\%$ d'humidité relative en photophase 16 :8 L :D à 2,5 klux). Les paramètres de survie et fécondité adulte ont été analysés à l'aide du programme DEMP 1.5.4 (Giordanengo 2012). Le logiciel calcule différents paramètres : la période pré-reproductive (PRP) qui correspond à la durée entre la naissance et la première larviposition ; la fécondité journalière (DF), la durée de la période de larviposition (OP) ; la survie adulte (ADS) ; la longévité totale (LONG, équivalent à la survie larvaire + la survie adulte) et le taux intrinsèque d'accroissement (r_m) à partir duquel est calculé le temps de doublement de la population ($DT = \ln 2 / r_m$). Le taux intrinsèque d'accroissement (r_m) a été calculé selon la formule $\sum e^{-r_m x} l_x m_x = 1$, où x est l'âge, l_x la survie âge-spécifique et m_x le nombre moyen de juvéniles femelles produit en une unité de temps par une femelle âgée de x (Birch 1948). Cette méthodologie a été utilisée dans le chapitre 3, le chapitre 4 (partie 2) et le chapitre 5 (parties 1 et 2).



Fig. 7. Dispositif de suivi physiologique « clip-cage ».

2.2. Mesures biométriques

La longueur des pucerons a été mesurée en vue dorsale sous stéréomicroscope (LEICA M165 C) équipé d'un oculaire micrométrique ($\times 10$), du front (*i.e.* pièce antérieure la plus élevée de la tête) jusqu'à la partie postérieure de l'abdomen, cauda exclue. La taille du tibia de la 3^{ème} paire de patte des parasitoïdes a également été mesurée grâce au même dispositif (LEICA M165 C) (**Fig. 8.**). Ces méthodologies ont été utilisées dans les chapitres 4 (parties 1 et 2) et 5 (partie 2).

Les pucerons et parasitoïdes, préalablement conservés à -80°C, ont été pesés grâce à une micro-balance de précision Metler Toledo M3 (class1, Max : 3 g, mini = 1 µg, d = 1 µg). Cette méthodologie a été utilisée dans le chapitre 5 (partie 2).



Fig. 8. Mesure du tibia chez un parasitoïde de puceron.

3. Études comportementales sur les insectes

3.1. Comportement d'orientation à courte distance des insectes

3.1.1. Tests d'attraction des pucerons ailés.

Un premier dispositif expérimental, utilisé pour tester la capacité de colonisation de la cameline des pucerons, a été modifié à partir de Boquel *et al.* (2012) et se composait de dix chambres ventilées Plexiglas® (180 × 120 × 75 mm) utilisés simultanément. Dans chaque chambre, une plante unique a été positionnée (**Fig. 9.**). A 8 cm de la plante, un seul puceron ailé a été déposé à l'aide d'un petit pinceau en haut d'une petite tour (5 cm de hauteur), elle-même placée dans un couvercle de boîte de Pétri contenant de l'eau pour éviter la colonisation des plantes par les pucerons en marchant. Vingt-quatre heures après son introduction, l'emplacement du puceron (sur la plante, parois internes de la chambre ou le sol de la chambre expérimentale) a été enregistré. Cette expérience a été réalisée avec des pucerons ailés synchronisés dans leur phase de vol selon Brunissen *et al.* (2009) et effectuée en condition de photophase 16 :8 L :D à 2,5 klux. Cette méthodologie a été utilisée dans le chapitre 3.

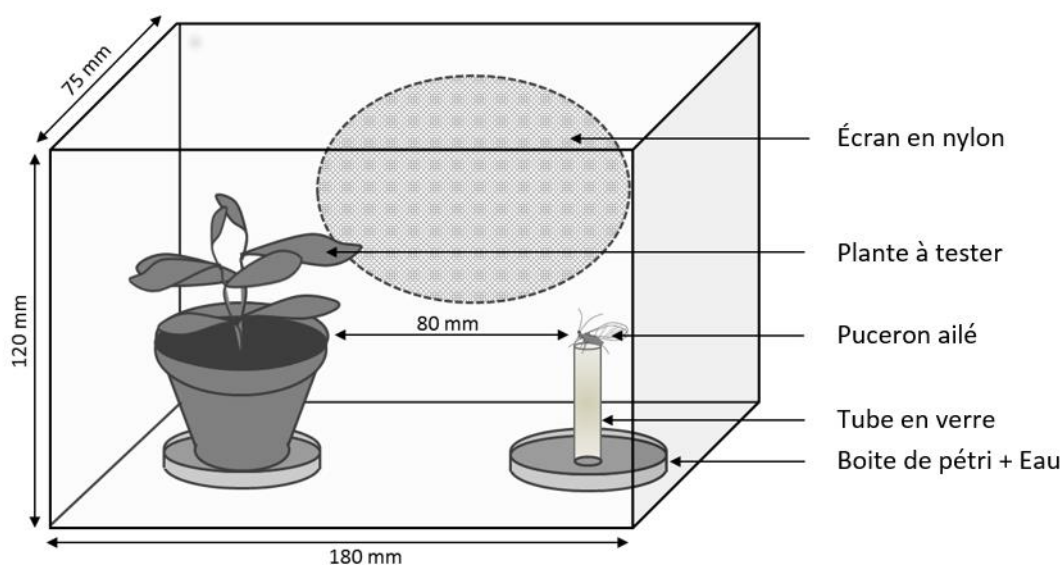


Fig. 9. Dispositif expérimental utilisé pour tester l'attraction vers une plante des pucerons ailés (modifié à partir de Boquel *et al.* (2012)).

3.1.2. Tests de rétention-dispersion des pucerons aptères

La dispersion des pucerons en direction des plantes non-virosées ou virosées a été étudiée par un test de rétention-dispersion, basé sur la méthode de Mauck, De Moraes & Mescher (2010) et faisant intervenir des signaux visuels et chimiques (**Fig. 10**). Dix pucerons adultes synchronisés et âgés de 9 ± 1 jours ont été placés sur les feuilles d'une plante virosée ou non-virosée (« plante de lâcher »). Une seconde plante de modalité opposée (« plante d'accueil ») a été positionnée près de la première, en respectant une distance de 2 cm entre les deux pots et en les reliant par une passerelle en plastique noir (4 x 1,5 cm) placée à l'horizontale à hauteur du terreau. L'ensemble du dispositif a été installé dans une cage de Plexiglas® aérée (36 x 24 x 11 cm). La position des pucerons – (1) sur plante de lâcher, (2) sur plante d'accueil et (3) hors des deux plantes – a été relevée au bout de 2 heures et 24 heures. La taille des plantes utilisées a été homogénéisée entre les plantes virosées et non-virosées. Quinze réplicats par modalité ont été réalisés pour chaque espèce de puceron testée. Les taux de rétention sur la plante de lâcher et de dispersion sur la plante d'accueil sont comparés entre modalités. Ces expérimentations ont été effectuées au milieu de la photophase 16 :8 L :D à 2,5 klux. Cette méthodologie a été utilisée dans le chapitre 5 (partie 1).

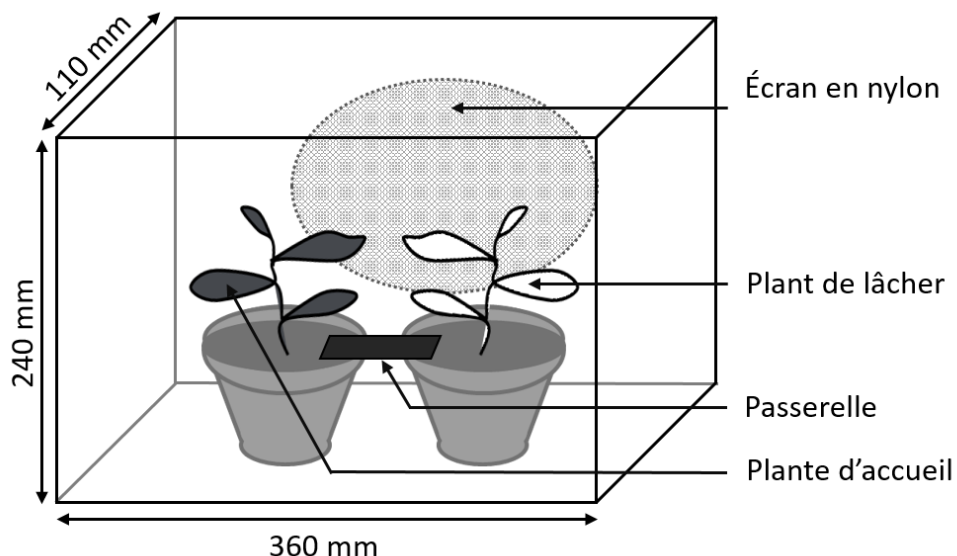


Fig. 10. Dispositif expérimental utilisé pour tester la rétention et la dispersion des pucerons aptères entre deux plantes (modifié à partir de Mauck, De Moraes & Mescher (2010)).

3.1.3. Tests d'orientation des parasitoïdes

Le dispositif expérimental, utilisé pour tester l'orientation à courte distance des parasitoïdes en faisant intervenir des signaux visuels et chimiques, a été modifié à partir de Boquel et al. (2012). Ce dispositif est composé de quatre chambres aérées en matière plastique (360 x 240 x 110 mm) utilisées simultanément, à l'intérieur desquelles les deux plantes testées ont été placées à 10 cm l'une de l'autre (**Fig. 11.**). Pour limiter les biais possibles de l'environnement autour des chambres, la position des deux plantes dans les chambres ventilées a été inversée à chaque répétition. Une femelle parasitoïde standardisée a été placée à l'aide d'un petit pinceau sur une plate-forme de décollage (à savoir un couvercle de boîte de Pétri de 50mm de diamètre) dans le centre du dispositif expérimental. Les femelles parasitoïdes ont été observées en continu jusqu'à ce qu'elles aient fait un premier choix ou après un maximum de vingt minutes suite à leur introduction dans le dispositif. Cette durée a été choisie après des essais préliminaires qui ont montré que 50% des femelles avaient répondu en 5 minutes. Seules les femelles qui avaient atterri sur l'une des deux espèces de plantes hôtes ont été considérées comme « individus répondants ». La durée entre l'introduction et le premier choix par les femelles parasitoïdes qui ont répondu a été enregistrée (temps de latence). Les femelles qui ne figuraient pas sur une plante, c'est-à-dire retrouvées sur les murs intérieurs ou sur le sol de la chambre expérimentale, ont été considérées comme des « individus non-répondants ». Les femelles qui ne quittent pas la plate-forme de décollage en moins de 20 minutes ont été exclues de l'analyse ultérieure des données. Toutes les expériences ont été effectuées à $20 \pm 1^\circ \text{C}$ et $60 \pm 5\%$ d'humidité relative au milieu de la photophase à 2,5klux. Cette méthodologie a été mise en oeuvre dans le chapitre 4 (partie 1) et le chapitre 5 (partie 2).

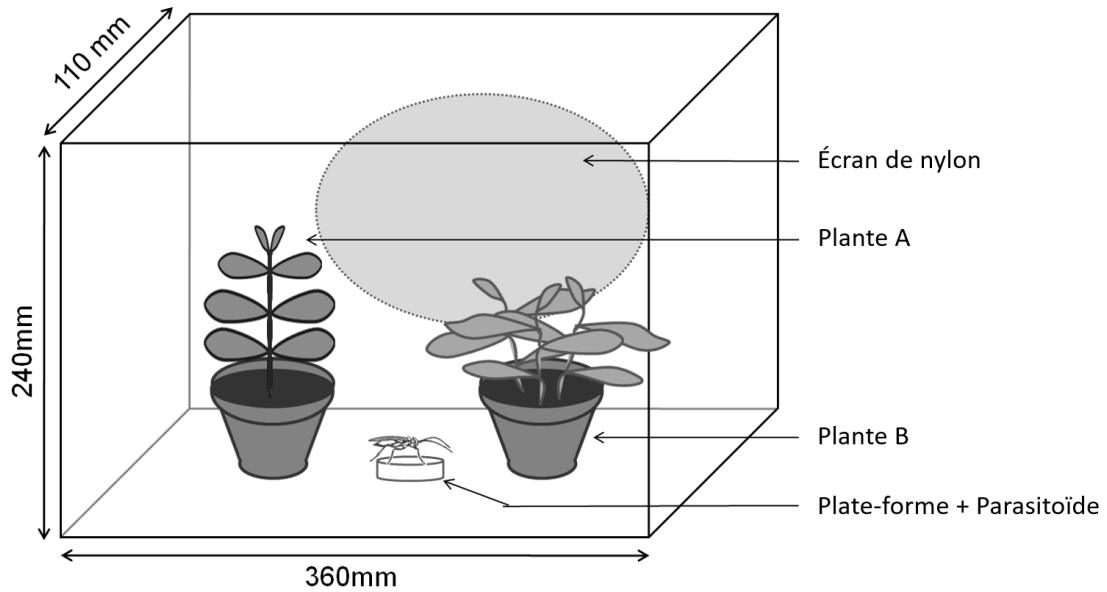


Fig. 11. Dispositif expérimental utilisé pour tester le choix à courte distance des insectes parasitoïdes entre deux plantes ou deux complexes plante/pucerons (modifié à partir de Boquel *et al.* (2012)).

3.2. Comportement alimentaire des pucerons

Le positionnement des stylets ainsi que le comportement alimentaire des pucerons peuvent être suivis grâce à un dispositif d'électro-pénétrographie (EPG) (Tjallingii 1978, 1988). Cette technique consiste à intégrer une plante et un puceron dans un circuit électrique au moyen d'électrodes. Lorsque le puceron insère ses stylets dans les tissus du végétal, différents signaux électriques sont générés. Ils correspondent aux différences de potentiels électriques des tissus dans lesquels se trouve l'extrémité des stylets suite à l'activité musculaire épipharyngiennes du puceron. Les signaux obtenus sont alors amplifiés et enregistrés sur un ordinateur (**Fig. 12.**).

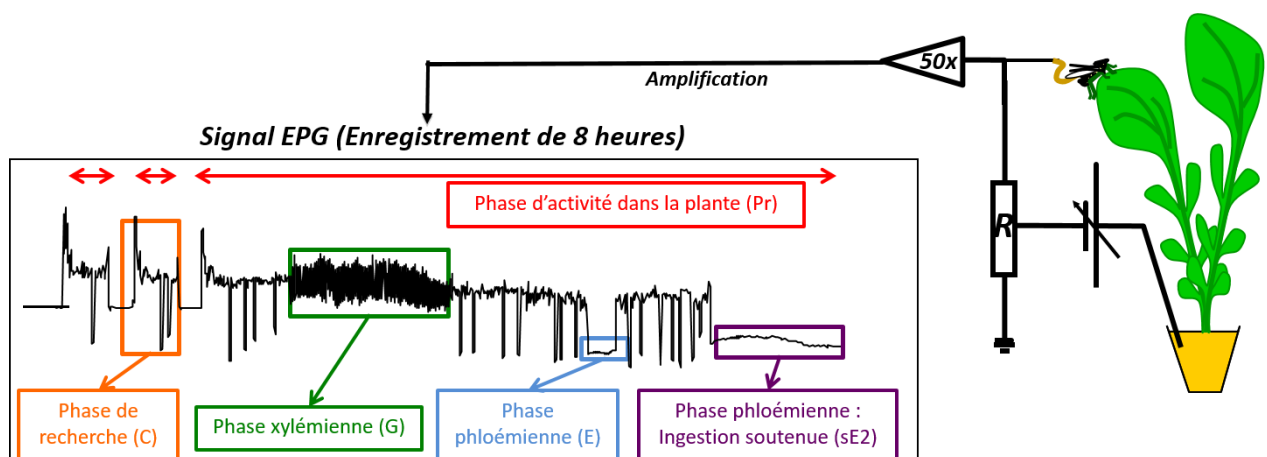


Fig. 12. Schéma du dispositif d'électro-pénétrographie pour étudier le comportement alimentaire des pucerons. Le cadre montre un enregistrement au sein duquel sont représentées différentes ondes/phases alimentaires (Source : F. Tjallingii).

Des profils d'électro-pénétrographie couplés à des études histologiques (coupes) ont permis de décrire les signaux obtenus et de les mettre en relation avec les différentes activités alimentaires (salivation et ingestion dans le phloème) et la position des stylets au sein des tissus de la plante (xylème, phloème...) (Tjallingii 1985). Les premières ondes (C) émises lors du transit des stylets dans les tissus de l'épiderme et du mésophylle, sont parsemées de signaux particuliers : les « potential drops » (pd). Ils indiquent des piqûres intracellulaires dans les tissus du mésophylle. Les « potentials drops » réalisés par les pucerons leur permettent d'évaluer la nature et la qualité de la plante, hôte ou non-hôte, et de se repérer au sein du végétal. L'ensemble des ondes E est relatif aux activités dans les tissus phloémiens. Elles sont premièrement caractérisées par les ondes E1 traduisant une salivation dans un tube criblé et ensuite par les ondes E2 caractérisant l'ingestion passive de sève élaborée (sE2 lorsque l'ingestion de sève élaborée est supérieure à 10 minutes). Pour finir, les ondes G sont caractéristiques de l'ingestion active de sève xylémienne par le puceron et les ondes F indiquent une progression asynchrone des stylets au sein du végétal.

Les études comparatives du comportement alimentaire ont nécessité des enregistrements de 8 heures au milieu des 16 heures de photophase. Un dispositif EPG à huit canaux permettant le suivi en simultané de huit pucerons sur huit plantes a été utilisé. Cette méthodologie a été employée dans le chapitre 3 et le chapitre 5 (partie 1).

3.3. Test de mesure du taux d'attaque des parasitoïdes

Dans un test de choix, le taux d'attaque et le succès d'attaque de femelles parasitoïdes ont été mesurés à l'aide du dispositif suivant. Les arènes utilisées ont été adaptées à partir de Pope *et al.* (2012) et consistaient en des boîtes de Petri de 90 mm de diamètre en plastique (Gosselin, Hazebrouck, France), contenant une feuille de chaque plante testée (ici, cameline vs. féverole) fixée dans 1,5% d'agar (Prolabo, Louvain, Belgique) et séparées l'une de l'autre par une distance de 2 cm (**Fig. 13.**).

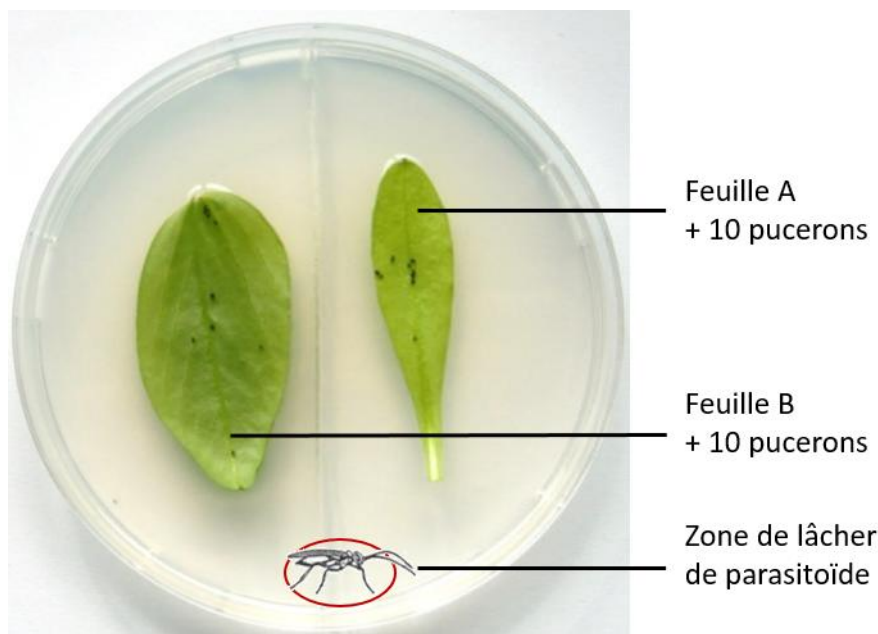


Fig. 13. Arène constituant le dispositif expérimental utilisé lors des tests de mesure du taux d'attaque de femelles parasitoïdes (adaptées de Pope *et al.* (2012)).

Une femelle parasitoïde standardisée a été soigneusement introduite à l'intérieur de l'arène. Les observations ont commencé immédiatement et ont duré 10 min. Le temps avant le premier item comportemental enregistré (temps de latence), le premier choix (plante qui a été atteinte en premier par le parasitoïde) et le deuxième choix ont été notés. Ensuite, la fréquence et la séquence des éléments de comportement suivants ont été enregistrés (AE: Examen Antennaire, AB: Courbure de l'abdomen et OI: Insertion de l'ovipositeur) (Rehman & Powell 2010) (**Fig. 14.**). Une insertion de l'ovipositeur a été enregistrée chaque fois qu'un parasitoïde femelle faisait un contact physique avec un puceron en utilisant son ovipositeur, tout en présentant une position de ponte (AB : Courbure de l'abdomen). Pour l'analyse, les comportements ont été considérés comme une série d'événements et seul le dernier item comportemental a été enregistré (par exemple, si une guêpe avait effectué une antennation sur un puceron puis plié son abdomen, le comportement noté était AB et non pas AE). Chaque contact entre une guêpe et un puceron a été classé dans une seule des catégories ci-dessus. Même si le nombre des éléments comportementaux peut ne pas être affecté, les fréquences de transition entre les comportements peuvent changer (Desneux *et al.* 2004). Par conséquent, tous les éléments de comportement et leur ordre séquentiel ont été enregistrés et compilés dans un éthogramme. Pour évaluer la proportion d'insertion d'ovipositeur (OI) résultant en vraie oviposition (OV), tous les pucerons piqués ont ensuite été disséqués dans une goutte de solution de NaCl (9 ‰) sous un stéréomicroscope pour calculer le taux de ponte ($\%_{OV} = \text{Nombre de vraies ovipositions (OV)} / \text{Nombre d'insertions de l'ovipositeur (OI)}$). Toutes les expériences ont été réalisées à $20 \pm 1^\circ \text{C}$ et $60 \pm 5\%$ d'humidité relative. Cette méthodologie a été utilisée dans le chapitre 4 (partie 2) et le chapitre 5 (partie 2).

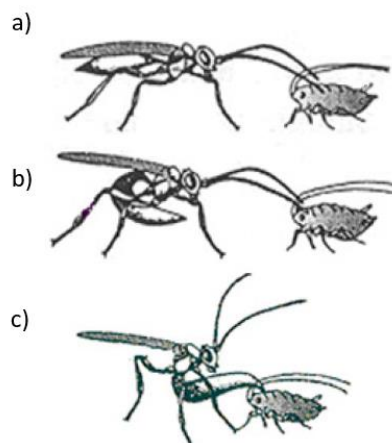


Fig. 14. Représentation schématique des items comportementaux de femelles parasitoïdes observés face à un puceron hôte (adapté de Rehman & Powell (2010)). a) AE: Examen Antennaire ; b) AB: Courbure de l'abdomen ; c) OI: Insertion de l'ovipositeur).

4. Analyses biochimiques

4.1. Tests ELISA sur plantes

Le test DAS-ELISA, pour Double Antibody Sandwich – Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay, est une méthode d'immunochimie qui utilise successivement deux anticorps pour détecter des antigènes, ici des particules virales. Premièrement, des anticorps sont déposés et se fixent à la surface d'une plaque de microtitration à 96 puits pour immunologie ; ils sont spécifiques à l'antigène recherché et permettent sa capture formant un complexe anticorps-antigène. La présence des antigènes est ensuite détectée à l'aide d'anticorps secondaires spécifiques couplés à une phosphatase alcaline. Pour finir, un substrat de l'enzyme (pNPP) est ajouté et provoque la formation d'un produit coloré jaune. L'apparition de la couleur, révélant indirectement la présence éventuelle d'antigènes, est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 405 nm après 1 et 2 heures. Cette méthodologie a été employée dans le chapitre 5 (parties 1 et 2).

4.2. Activité photosynthétique des plantes

Les performances photosynthétiques de plantes ont été évaluées en utilisant le système portatif LI-6400 (LICOR Biosciences, Lincoln, Nebraska, États-Unis). Les mesures ont été effectuées à deux reprises sur la troisième feuille complètement développée à partir de la base d'une même plante en utilisant une chambre pour feuille de 2 cm² (LCF LI6400-40). Avant chaque mesure, les feuilles ont été acclimatées pendant 15-20 minutes à 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPFD (Densité de flux photonique photosynthétique). Le taux d'assimilation nette de CO₂ (An) et la conductance stomatique (g) à la vapeur d'eau ont été mesurés dans les mêmes conditions environnementales: 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ de CO₂, température de feuilles à 25 ° C et PPFD à lumière saturante considérant la mesure précédente, soit 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Cette méthodologie a été mise en œuvre dans le chapitre 5 (partie 2).

4.3. Mesure du ratio C :N sur plantes et pucerons

Le dosage des teneurs en carbone et azote des plantes et des pucerons a été réalisé par chromatographie gazeuse (méthode Dumas) et plus particulièrement à l'aide d'un analyseur automatique (Flash EA 1112 series Thermo Electron, Brême, Allemagne). Pour les plantes, les échantillons ont été broyés dans l'azote liquide (broyeur à billes MM400, Restch, Allemagne) puis lyophilisés pendant 24h et un extrait pesé sur balance de précision (Sartorius Genius ME415S, Max: 410 g, d = 0.01 mg) a été déposé dans une nacelle en étain. Pour les pucerons, les échantillons ont été directement lyophilisés pendant 24h et un extrait pesé sur balance de précision a été déposé dans une nacelle en étain. Suite à une combustion « flash » à 1800 °C, les différents gaz ont été véhiculés par un flux d'hélium dans les tubes de la chromatographie. Les gaz non souhaités sont successivement piégés, les gaz N₂ et CO₂ restants ont été triés grâce à des temps de rétention différents dans la colonne de chromatographie. La détection a été réalisée par catharomètre et les signaux ont été collectés sur ordinateur, permettant d'établir un chromatogramme présentant un premier pic (azote) et un second pic (carbone). Les aires de ces pics ont été comparées à celles d'échantillons étalons dont les concentrations en carbone et azote sont connues, ce qui a permis d'obtenir la teneur en carbone et en azote de chaque échantillon. Cette méthodologie a été suivie dans le chapitre 4 (partie 2).

4.4. Dosages des sucres de pucerons

La teneur en sucre des pucerons a été mesurée à l'aide d'une analyse colorimétrique développée par Giron *et al.* (2002). Les pucerons ont été placés individuellement dans des tubes Eppendorf dans 40 µL de solution de Ringer et écrasés à l'aide d'un pilon en plastique dans 300 µL de méthanol. Après centrifugation pendant 15 minutes à 4 °C et 1400 tours par minute, 150 µL de chloroforme et de 60 µL de solution de sulfate de sodium à 2% ont été ajoutés dans les tubes qui ont alors été agités au vortex puis stockés à 4 °C pendant une nuit. Le lendemain, les tubes ont été de nouveau centrifugés pendant 15 minutes à 1400 tours par minute. Puis, 150 µL de chaque surnageant ont été transférés dans de nouveaux tubes chauffés à 90 °C sur un bloc d'aluminium et récupérés avant évaporation complète. Ensuite, 1 ml de réactif à l'anthrone a été ajouté dans les tubes qui ont alors été chauffés pendant 15 minutes à 90 °C puis refroidis sur de la glace pendant 5 min. L'absorbance a été lue à 620 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage pour les sucres a été établie en utilisant des solutions de glucose à diverses concentrations.

4.5. Dosages des lipides de parasitoïdes et de pucerons

La teneur en lipides de femelles parasitoïdes a été mesurée en utilisant une extraction chloroforme-méthanol, comme décrit dans Moiroux *et al.* (2010). En bref, les femelles parasitoïdes placées préalablement à -80° C ont été séchées à 40° C pendant trois jours dans une étuve puis pesées à l'aide d'une microbalance Metler Toledo M3 (± 1 µg). Elles ont ensuite été placées pendant deux

semaines dans une solution de chloroforme-méthanol (2: 1) et séchées de nouveau à 40° C pendant une journée avant d'être pesées. La quantité de lipides a été calculée comme étant la différence entre la masse sèche avant et après extraction des lipides. Cette méthodologie a été employée dans le chapitre 5 (partie 2).

5. Analyses statistiques

L'ensemble des analyses statistiques a été réalisé en utilisant le programme statistique 'R' (R 3.2.2 - R Development Core Team 2015).

Les tailles de pucerons et des tibias de parasitoïdes ont été comparées en utilisant des tests *t* de Student pour des échantillons paramétriques (homoscédasticité et normalité vérifiée) indépendants. Les paramètres de taux d'attaque des femelles parasitoïdes (AE, AB, OI et le temps de latence) ont aussi été comparés en utilisant des tests *t* de Student pour échantillons indépendants.

Pour comparer entre modalités les capacités des pucerons ailés à quitter la plateforme et à atterrir sur la cameline, des modèles linéaires généralisés (GLMs) utilisant une distribution binomiale ont été utilisés.

Les données concernant les taux de rétention et d'attraction des pucerons ont été analysées en utilisant un test U de Mann-Whitney pour échantillons non-paramétriques indépendants. Les taux de rétention des pucerons sur plantes saines et infectées et les taux de dispersion (émigration) des pucerons des plantes saines et infectées ont été comparés à 2 heures et 24 heures après le début du test.

La préférence des femelles parasitoïdes à courte distance entre deux plantes différentes a été analysée en utilisant un test du Chi-deux (χ^2).

Concernant le comportement alimentaire des pucerons, l'acquisition et l'analyse des enregistrements EPG ont été réalisées avec le logiciel PROBE 3.5 (EPG- systems, Wageningen, Pays-Bas). Les paramètres EPG ont ensuite été calculés à l'aide du programme EPG- Calc 6.1.5 (Giordanengo 2014). Comme les données EPG ne suivent pas une loi normale et l'homoscédasticité est rarement vérifiée, les paramètres ont été analysés à l'aide du test non-paramétrique de Kruskal & Wallis pour les comparaisons globales, suivi, en cas de significativité par des comparaisons multiples en utilisant le package R 'nparcomp' (type: Tukey).

Les différences de teneur en lipides et en sucres des pucerons sur plantes infectées ou saines et de teneur en lipides entre les parasitoïdes élevés sur pucerons/plantes infectées ou saines ont été testées à l'aide d'une ANCOVA avec pour variable la quantité du paramètre étudié (lipides ou sucres) et la masse sèche en tant que covariable.

CHAPITRE 3.

LA CAMELINE : UN NOUVEAU RÉSERVOIR POTENTIEL DE RAVAGEUR ?

La Cameline : un nouveau réservoir potentiel de ravageur ?

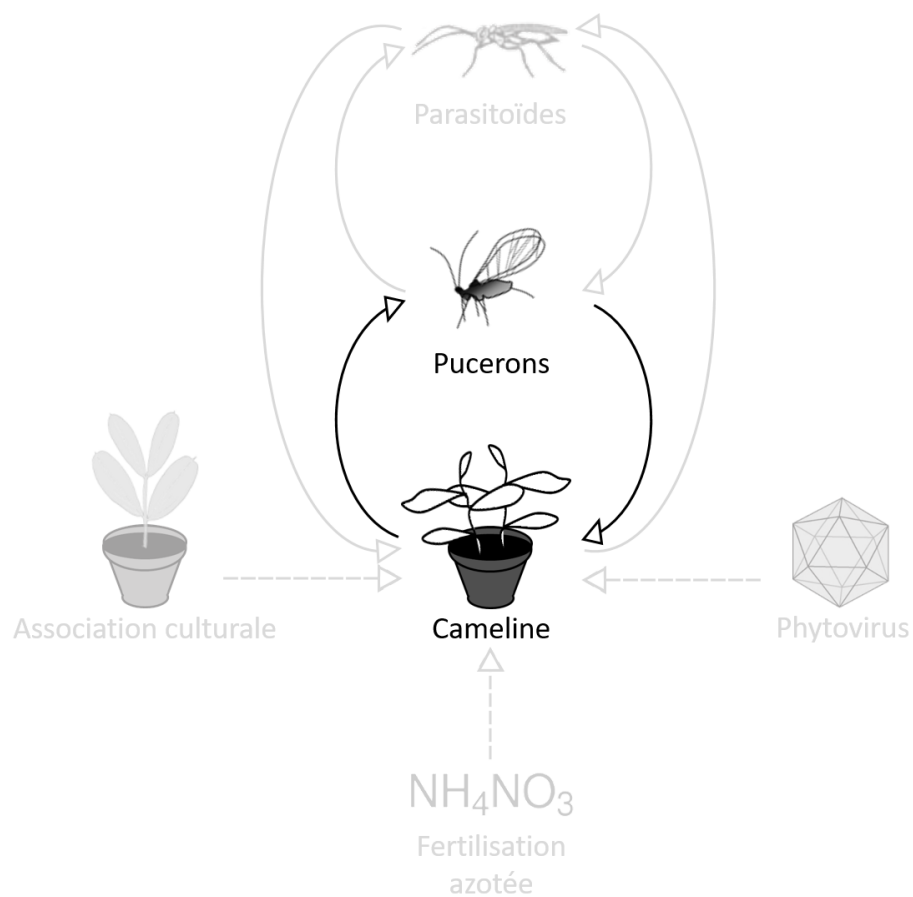


Fig. 15. Interactions bi-trophiques cameline-pucerons.

Présentation de l'étude et principaux résultats :

Cette première étude avait pour ambition de considérer le rôle de la cameline, plante à vocations multiples (bioénergétique, industrielle, alimentaire...), en tant que plante réservoir pour différentes espèces de pucerons ravageurs des agro-écosystèmes du nord de la France. La cameline (*Camelina sativa*) est une Brassicaceae qui était communément cultivée en Europe jusqu'au 19^{ème} siècle. Récemment, elle a fait l'objet d'un regain d'intérêt en tant que plante oléagineuse alternative car elle possède une composition en huile originale et de faibles exigences agronomiques en termes d'intrants et une résistance contre certains insectes herbivores des Brassicaceae. Plus précisément sur ce dernier point, la littérature décrit le comportements d'insectes appartenant à différentes ordres (Coléoptères, Hémiptères et Lépidoptères) capables de s'orienter et d'atterrir sur la cameline (Onyiah et al. 2012) mais avec une alimentation faible à nulle sur cette plante (Shudong et al. 2004; Naranjo & Stefanek 2012). Cependant, aucune étude n'a pour le moment étudié la colonisation de la cameline par les pucerons, insectes-vecteurs principaux des phytovirus.

Dans ce contexte, des études de laboratoires ont été menées afin d'étudier la colonisation potentielle de la cameline par les quatre principales espèces de pucerons inféodées aux cultures du Nord de la France (**Fig. 15.**). Des tests d'orientation, de comportement alimentaire (évalué par la technique d'électropénétrographie (EPG)) et de performances démographiques ont montré que les espèces polyphages, *Aphis fabae* (Scop) et *Myzus persicae* (Sulzer), étaient capables d'atterrir, de se nourrir et de se reproduire sur la cameline. Ces deux espèces ont même un comportement alimentaire et des performances démographiques supérieures sur la cameline que le puceron spécialiste des Brassicaceae *Brevicoryne brassicae* (L.). Curieusement, dans une moindre mesure, *C. sativa* peut également être une plante-hôte pour le puceron spécialiste des céréales *Rhopalosiphum padi* (L.). De plus, nos résultats ont montré que les performances des pucerons polyphages sur la cameline étaient similaires (voire meilleures pour *M. persicae*) à celles sur leur plante-hôte (la féverole pour *A. fabae* et la pomme de terre pour *M. persicae*). Alors que, les performances des deux pucerons spécialistes étaient moins bonnes sur la cameline que sur leur plante-hôte (le colza pour *B. brassicae* et l'orge pour *R. padi*).

La ré-introduction de la cameline dans les agrosystèmes du nord de la France pourrait donc avoir des réelles implications agronomiques, cette plante pouvant être considérée comme un réservoir pour les pucerons étudiés et les pathogènes associés.

Notre étude a mis en avant le fait que pour évaluer les risques potentiels de la réintroduction d'une plante dans un agrosystème, il est important de s'intéresser à d'autres ravageurs qu'aux espèces inféodées à la famille de la plante focale. Au vu de nos résultats, une approche systémique intégrant une large gamme d'organismes potentiellement nuisibles doit donc être envisagée, indépendamment de leur spécialisation alimentaire (généraliste, spécialiste de la famille de plante étudiée ou encore spécialiste d'autres plantes).

Article n°1:

Is the oil-seed crop *Camelina sativa* a potential host for aphid pests?

(Article publié dans *BioEnergy Research*, 8(1), 91-99)

Q. Chesnais¹, J. Verzeaux¹, A. Couty, V. Le Roux, A. Ameline.

FRE CNRS 3498 EDYSAN (Ecologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), Laboratoire de Bio-Ecologie des Insectes Phytophages et Entomophages, Université de Picardie Jules Verne, 33 rue St Leu, F-80039 Amiens Cedex, France.

¹ These authors contributed equally to this study.

ABSTRACT

Camelina sativa is a *Brassicaceae* that was commonly cultivated in Europe until the 19th century. Recently, it has received much interest as an alternative oil-seed crop because of its particular oil composition and low requirements in terms of agronomic inputs and its resistance to some *Brassicaceae* chewing insects. However, little is known about the consequences of its reintroduction on piercing-sucking insects pests that are not *Brassicaceae* specialists but that are likely to transmit phytoviruses. In this context, laboratory experiments were conducted to investigate the potential colonization of camelina by four major aphid species of northern France. Orientation tests, feeding behavior assessed by Electrical Penetration Graph and demographic bioassays showed that the polyphagous species, *Aphis fabae* (Scop) and *Myzus persicae* (Sulzer), were able to land, feed, and reproduce on the plant. They even fed and performed better on camelina than the *Brassicaceae* specialist *Brevicoryne brassicae* (L.). Surprisingly, to a lesser extent, *Camelina sativa* could also be a suitable host for the cereal specialist *Rhopalosiphum padi* (L.). The colonization ability of camelina by the different aphids is discussed in terms of the degree of specialization and physico-chemical characteristics of the plant. Camelina may therefore constitute a reservoir for aphid species issued from surrounding crops and their associated pathogens.

KEY WORDS

False flax, host plant suitability, Aphididae, EPG, demographic parameters, phytoviruses, bioenergy crop.

Introduction

The consumption of vegetable oils in the world is expected to increase by 2% per year [1]. Although some concerns have been raised relating to potential competition with food crops [2], vegetable oils used for biofuels and biodiesel present many advantages (e.g. natural viscosity, toxicity, biodegradability) which make them attractive sustainable alternatives to the non-renewable petroleum derivatives [3–5]. These oils can be extracted from major conventional oil crops [6], including soybean (*Glycine max*), rapeseed/canola (*Brassica napus*), palm (*Elaeis guineensis*), sunflower (*Helianthus annuus*), cottonseed (*Gossypium hirsutum*), flax (*Linum usitatissimum*) and peanut (*Arachis hypogaea*). In northern Europe, rapeseed is the dominant oilseed crop used for biofuel and some pests and diseases present throughout the plant lifecycle are key constraints to its production [7]. Control of oilseed rape pests relies on heavy use of insecticides that are costly and negatively impact biodiversity [8].

It has been shown that an increase in the plant species diversity may facilitate natural pest control in annual cropping systems [9]. In order to reduce Europe's dependence on non-renewable feedstocks, long-term breeding programs and agronomic studies are necessary to increase diversity of oil crops. New promising oilseed crops such as camelina (*Camelina sativa*) or brown mustard (*Brassica juncea*), which present special chemical composition and agronomic properties can provide alternative to current production systems [5, 10].

Camelina sativa (L.) Crtz. also known as the false flax, or the gold-of-pleasure, is a Brassicaceae which was an important oil crop in Europe during the Bronze and Iron Ages [11]. It was cultivated until the 19th century in France and to a lesser extent in Holland, Belgium and Russia [12]. In the early twentieth century, 5000 hectares of false flax were still cultivated in northern France [13]. Camelina is recognized for its rusticity because it can tolerate a wide range of pedoclimatic conditions [13] and requires low agronomic inputs [14]. The plant has lower nitrogen requirements and a shorter growing season than rapeseed [15–17]. Moreover, camelina is reported to be tolerant to drought and heat [18], resistant to cold [19] and to different pathogens and insects [20, 21] thanks to various anti-nutritional compounds produced (e.g., Matthäus and Zubr [22]). This plant can be used in mixed cropping systems with legumes, not only for water and nitrogen management [23, 24], but also for weed control [25]. Camelina oil offers good opportunities as a biofuel crop and functional food as it contains exceptionally high levels of omega-3 fatty acids, and over 50% of its fatty acids are polyunsaturated [26, 27].

The reintroduction of camelina in Europe could bring major agronomic and economic benefits, but may also modify local ecosystems balance [28, 29]. One major risk is that camelina may act as a reservoir of pests or a reservoir of vector of viruses. According to theoretical models, the introduction of a new host plant into an established host-parasite system can sometimes reduce (“dilute”) or increase (“spill-back”) the transmission of pathogens to native host species [30]. The suitability of camelina could depend on the degree of herbivore specialization of the aphid pests, which are the major vectors of phytoviruses on *Brassicaceae*. However, the interaction between aphids and camelina has not been studied so far.

A systemic approach is essential to assess the risk of the introduction of *C. sativa* on a wide range of potential insects usually associated or not with the crop. Thus, we investigated the colonization process of four major aphid pests (Hemiptera: *Aphididae*) which are all vectors of Brassicaceae phytoviruses [31–35]. *Aphis fabae* (black bean aphid) and *Myzus persicae* (green peach aphid) are two polyphagous species, while *Brevicoryne brassicae* (cabbage aphid) feeds exclusively on plants of the Brassicaceae family, and *Rhopalosiphum padi* (bird cherry aphid) is a specialist of monocots.

In laboratory experiments we investigated if the four aphid species could successfully land on, feed and reproduce on *Camelina sativa*, relatively to their degree of specialization towards Brassicaceae. We then discuss the agronomical and epidemiological implications of our findings.

Materials and Methods

Insects and Plants

For each species, colonies were initiated from a single apterous parthenogenetic female and were separately maintained in ventilated Plexiglas® cages (360 x 240 x 110 mm) in growth chambers under controlled conditions ($20 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity (RH), and 16L:8D photoperiod at 4.7 klux) to induce parthenogenesis. Aphid clones were used to minimize intraspecific variability and to ensure a certain uniformity of response.

The *M. persicae* colony was established from one parthenogenetic female collected in 1999 in a potato field near Loos-en-Gohelle (France) and was reared on potato plants (*Solanum tuberosum* cv. “Desirée”). The colonies of *R. padi* and *B. brassicae*, provided in 2008 by INRA-Le Rheu (Rennes, France), were reared on barley (*Hordeum vulgare* cv. “Cervoise”) and on rapeseed (*Brassica napus* cv. “Stego”) respectively. The colony of *A. fabae*, provided in 2012 by Gembloux Agro-Bio-Tech (Belgium) was reared on broad beans (*Vicia faba* cv. “Maya”).

Plantlets used for the experiments were obtained from tubers for potato and from seeds for the other plants. They were grown for 4 weeks in 60 mm plastic pots with commercial sterilized potting soil under the controlled conditions described above. *Camelina sativa* (cv. “Calena”) seeds were provided by the University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna (Austria).

Early steps of the camelina plantlets colonization process

The aim of this test was to observe the abilities of the four different aphids species to fly towards and land on camelina. The experimental set up used was modified from Boquel *et al.* [36] and consisted of 10 ventilated Plexiglas® chambers (180 x 120 x 75 mm) used simultaneously inside which a single camelina plant was set (Fig. 1). At 80 mm from the plant, a single alate aphid was positioned with a small paintbrush at the top of a small tower (50 mm high), which was placed in a Petri dish lid containing water to avoid aphid plant colonization by walking. Twenty-four hours after its introduction, aphid location (on the plant, inner walls or ground of the experimental chamber) was recorded. This bioassay

was conducted with alate aphids synchronized in their flight phase according to Brunissen *et al.* [37]. For each experimental set up, 10 aphids were tested taking care to use the 4 aphid species, with at least 2 individuals per species. For each aphid species, a total of 20 individuals were individually tested.

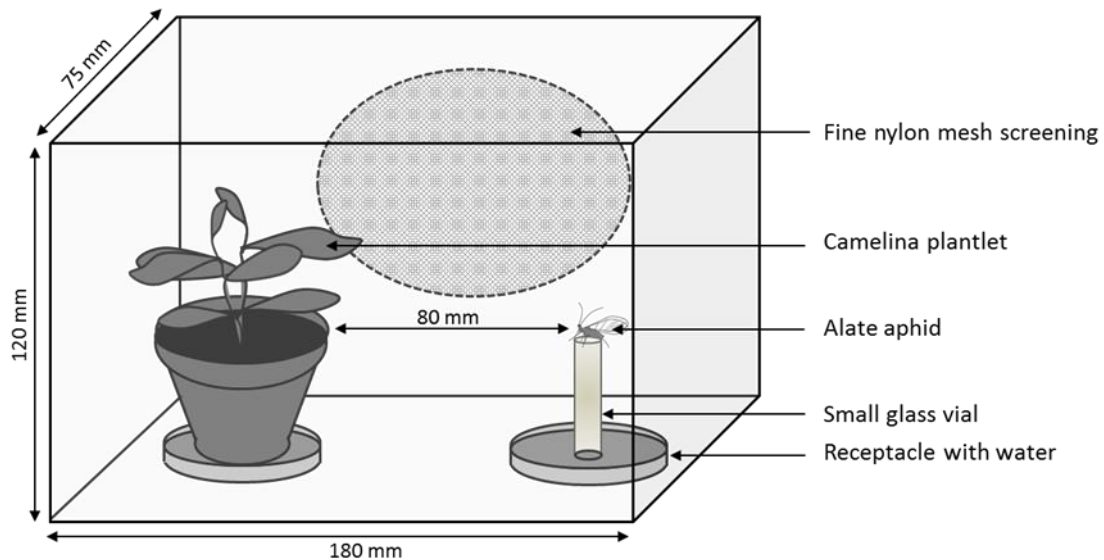


Fig. 1 Experimental device used for the colonization experiment.

Electrical penetration graph studies

The DC-electrical penetration graph (DC-EPG) technique [38] was used to investigate the aphid feeding behaviour on *Camelina sativa*. A thin gold wire (20 μm in diameter and 2 cm in length) was tethered on the insect's dorsum by conductive water-based silver glue. Eight aphids were then connected to the Giga-8 DC-EPG amplifier and placed on a plantlet leaf of eight different plants and a second electrode was inserted into the soil of the potted plants to complete the electrical circuit. The recordings were performed continuously for 8 h during the day, with one aphid per plant. Alate aphids were synchronized in their flight phase prior to the EPG testing. The whole aphid-plant system was placed inside a Faraday cage at $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Acquisition and analysis of the EPG waveforms were carried out with PROBE 3.5 software (EPG Systems, www.epgsystems.eu). Parameters from the recorded EPG waveforms were calculated with EPG-Calc 6.1 software [39]. These parameters were based on six different EPG waveforms described by Tjallingii and Esch [40] corresponding to: (C) stylet pathways in plant tissues except phloem and xylem; (pd) to potential drops (intracellular stylet punctures); (E1) to salivation in phloem elements; (E2) to passive phloem sap ingestion; (G) to active xylem sap ingestion; and (F) to derailed stylet mechanics. For each aphid species, 20-21 individuals were tested.

Aphid performance on their host plants and on camelina

The aim of this test was to study, for each species of aphids, their performance on camelina plantlets compared to those on their host plant. First instar nymphs (< 24h old) of aphids were obtained from parthenogenetic adult females placed on an artificial diet 24 h before the experiment. The artificial diet was prepared according to Febvay *et al.* [41] and modified by Down *et al.* [42]. For each aphid species, groups of five nymphs were transferred onto the abaxial face of leaves in the middle of the canopy and enclosed in clip-cages. In each clip-cage, the date of appearance of the first offspring was used to define the end of the pre-reproductive period. At the end of this period, one single apterous adult female was kept in a clip-cage. Fecundity was assessed every two days for a duration equivalent to twice the pre-reproductive period as described in Le Roux *et al.* [43]. Pre-reproductive period duration, daily fecundity, intrinsic rate of natural increase (r_m) and the population's doubling time ($DT = \ln 2 / r_m$) were calculated using the DEMP 1.5.2 Software [44] on replicates ranging from 31 to 40 individuals. The intrinsic rate of natural increase (r_m) was calculated as $\sum e^{-r_m x} l_x m_x = 1$, where x is the age, l_x the age-specific survival, and m_x the age-specific fecundity [45]. This parameter was selected to compare the ability of the different aphid species to establish a population on camelina and on their host plant.

Statistical analysis

Mean values are given with their standard error of the mean (SEM). A generalized linear model, using a binomial distribution (R 3.0.0 - R Development Core Team 2013 [46]), was applied to compare the aphid abilities to leave the platform and to land on camelina.

EPG parameters were compared between aphid species by using a Kruskal-Wallis one-way analysis of variance (H value), followed by nonparametric pairwise comparisons using the Siegel and Castellan solution [47] with a Dunn's correction [48] of the alpha threshold. The Intrinsic rate of natural increase (r_m) of each aphid species was compared on camelina and on their respective host plant by a Mann-Whitney U test using the Siegel and Castellan solution [47]. Because homocedasticity of all distributions were not confirmed, EPG and r_m analysis were performed with the Kruskal & Wallis's utility and Mann & Whitney 's utility, carried out by Georgin and Gouet [49] (<http://Anastats.fr>).

Results

Early steps of camelina plantlets colonization process

At the end of the 24-h choice bioassay the four aphid species exhibited the same ability to leave the platform (GLM using a binomial distribution, $\chi^2 = 0.894$; $P > 0.05$) or to land on camelina (GLM using a binomial distribution, $\chi^2 = 0.885$; $P > 0.05$) (Fig. 2). The percentage of taking off ranged from 35 % (*R. padi*) to 60 % (*M. persicae* and *B. brassicae*). The percentage of aphids landing on camelina ranged from 20 % (*R. padi*) to 35 % (*M. persicae*).

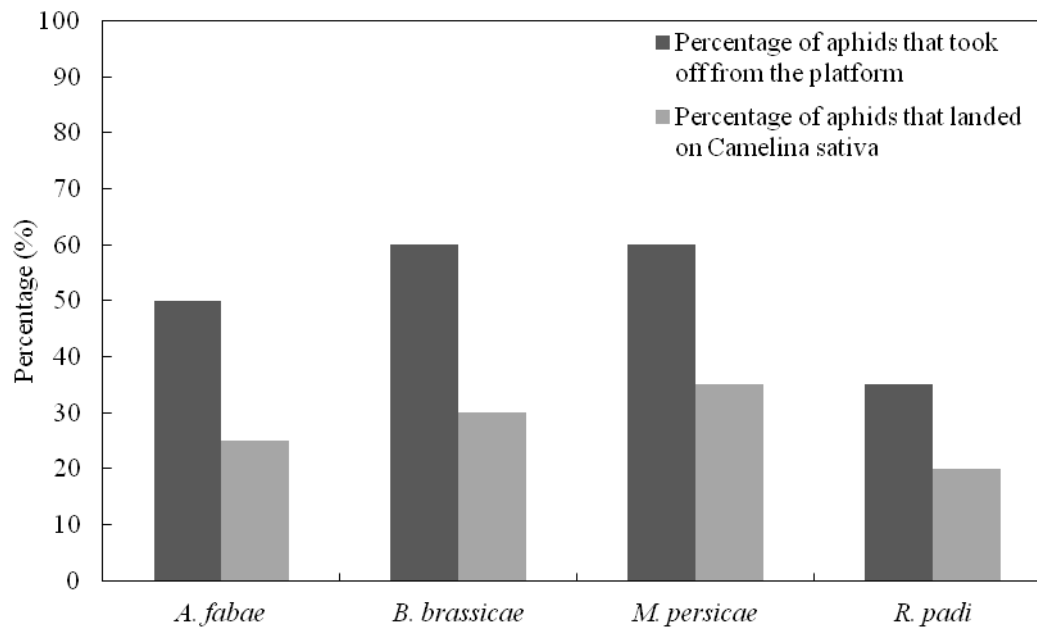


Fig. 2 Percentage (n = 20) of aphids that took off from platform and the percentage of aphids that landed on *Camelina sativa* at the end of a 24-h bioassay.

Electrical penetration graph studies

There was a significant effect of the aphid species for the following parameters (Table 1) : total duration of probing ($H = 28.98$; $P < 0.001$), number of probes ($H = 17.43$; $P < 0.001$), number of pathway phases ($H = 14.61$; $P < 0.01$), time of 1st probe to 1st E and E2 ($H = 17.32$ & $H = 17.91$; $P < 0.001$), mean phloem salivation phase (E1) duration ($H = 16.45$; $P < 0.001$) and mean phloem sap ingestion (E2) duration ($H = 25.49$; $P < 0.001$).

Total duration of probing was significantly longer for the two polyphagous species *A. fabae* and *M. persicae* than for the two oligophagous species *B. brassicae* and *R. padi* ($P < 0.05$). The number of probes was significantly higher for *B. brassicae* and *R. padi* ($P < 0.05$).

Regarding pathway phase parameters, the total duration of this phase and the mean number of potential drops were not significantly different between aphid species ($H = 2.97$ & $H = 6.71$; $P > 0.05$).

For the phloem phase parameters, *R. padi* exhibited at least a two times greater shorter salivation phase (E1) than the other aphid species ($H = 15.28$; $P < 0.01$). Concerning the mean phloem sap ingestion (E2), *R. padi* ingested almost no phloem and *B. brassicae* fed for a duration of four to five times less than *A. fabae* and *M. persicae*. However, mean duration of the xylem sap ingestion (G) phase was not significantly different between aphid species ($H = 4.18$; $P > 0.05$). Finally, the total duration of stylet derailment phase in the mesophyll (F) was inconsequential for all species ($H = 6.43$; $P > 0.05$).

Table 1 Electrical penetration graph parameters (means $\pm$ SEM) calculated for four aphid species during an 8-h monitoring session on *Camelina sativa* plants.

	Kruskal-Wallis test	<i>A. fabae</i>	<i>B. brassicae</i>	<i>M. persicae</i>	<i>R. padi</i>
EPG classes	H(P)	n = 21	n = 21	n = 20	n = 20
General probing behaviour					
1. Time to first probe (min)	6.60 (NS)	10.02 $\pm$ 4.14	28.08 $\pm$ 15.31	20.59 $\pm$ 11.43	30.08 $\pm$ 9.86
2. Total duration of probing (min)	28.98 (***)	383.86 $\pm$ 21.62 a	273.68 $\pm$ 18.91 b	375.52 $\pm$ 20.75 a	236.15 $\pm$ 17.61 b
3. Number of probes	17.43 (***)	9.01 $\pm$ 1.71 b	20.52 $\pm$ 2.49 a	10.05 $\pm$ 1.55 b	15.3 $\pm$ 2.13 a
Pathway phase					
4. Number of pathway phases	14.61 (**)	11.62 $\pm$ 1.76 b	23.81 $\pm$ 2.87 a	12.6 $\pm$ 1.73 b	17.15 $\pm$ 2.01 ab
5. Total duration of pathway phases (C) (min)	2.97 (NS)	219.71 $\pm$ 26.24	215.53 $\pm$ 18.44	174.25 $\pm$ 21.85	184.47 $\pm$ 17.93
6. Mean number of potential drops (pd)	6.71 (NS)	62.48 $\pm$ 6.1	107.29 $\pm$ 12.52	76.7 $\pm$ 8.99	85.9 $\pm$ 12.65
Phloem phase					
7. Time of 1 st probe to 1 st E (min)	17.32 (***)	239.59 $\pm$ 41.16 b	196.32 $\pm$ 39.89 b	181.95 $\pm$ 33.78 b	400.49 $\pm$ 29.09 a
8. Total duration phloem salivation phase (E1) (min)	15.287 (**)	15.92 $\pm$ 7.3 a	7.36 $\pm$ 2.65 a	8.12 $\pm$ 3.54 a	2.49 $\pm$ 1.62 b
9. Time of 1 st probe to 1 st E2 (min)	17.91 (***)	284.24 $\pm$ 41.97 ab	198.29 $\pm$ 39.73 b	204.14 $\pm$ 37.26 b	430.24 $\pm$ 21.12 a
10. Total duration phloem sap ingestion (E2) (min)	25.49 (***)	111.7 $\pm$ 34.21 a	28.76 $\pm$ 9.9 a	150.32 $\pm$ 35.58 a	0.1 $\pm$ 0.1 b
Other parameters					
11. Total duration of xylem ingestion (G) (min)	4.18 (NS)	36.54 $\pm$ 7.34	22.03 $\pm$ 5.81	33.72 $\pm$ 11.2	42.64 $\pm$ 9.11
12. Total duration of stylet derailment (F) (min)	6.43 (NS)	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	1.19 $\pm$ 1.19	6.31 $\pm$ 5.11

Asterisks indicate a significant difference: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ associated with H (Kruskal-Wallis test); the letters within a row indicate significant differences associated with following pairwise comparisons.

Aphid performance on their host plants and on camelina

Biological and demographic parameters of adult aphids were measured for each species of aphid on camelina and its respective host-plant, but only the r_m data are presented when aphids were tested on their host plant. Kruskal-Wallis statistical analysis showed an aphid species effect on all parameters on camelina presented in Table 2 : pre-reproductive period ($H = 95.6$; $P < 0.05$), longevity ($H = 106.1$; $P < 0.05$), daily fecundity ($H = 60.1$; $P < 0.05$), intrinsic rate of natural increase (r_m) ($H = 28.1$; $P < 0.05$) and doubling time ($H = 28.1$; $P < 0.05$). Inter-specific pairwise comparisons showed that the pre-reproductive period was significantly higher for *B. brassicae* and shorter for *R. padi* compared to all other species of aphid on camelina ($P < 0.05$). Daily fecundity was significantly lower for *R. padi*, and conversely, more than twice as high for *A. fabae* ($P < 0.05$). Adult longevity was nearly as long for *M. persicae* and *B. brassicae* than for *A. fabae* and *R. padi* ($P < 0.05$). The intrinsic rate of natural increase and doubling time of *A. fabae* were significantly higher compared to *B. brassicae* and *R. padi* ($P < 0.05$). The r_m and doubling time of *M. persicae* and *R. padi* were significantly lower compared to *B. brassicae* ($P < 0.05$).

Table 2 Mean ($\pm$ SEM) population parameter values of four aphid species reared on *Camelina sativa*. H(P) Kruskal-Wallis test values with its probability within brackets.

	Kruskal-Wallis test	<i>A. fabae</i>	<i>B. brassicae</i>	<i>M. persicae</i>	<i>R. padi</i>
	H(P)	n = 34	n = 38	n = 40	n = 31
Pre-reproductive period (days)	95.6 (***)	7.00 $\pm$ 0.17 bc	9.79 $\pm$ 0.10 a	7.95 $\pm$ 0.18 b	6.26 $\pm$ 0.12 c
Longevity (days)	106.1 (***)	14.59 $\pm$ 0.52 b	24.90 $\pm$ 0.058 a	22.75 $\pm$ 0.25 a	13.22 $\pm$ 0.32 b
Daily fecundity (nymphs per female)	60.1 (***)	3.50 $\pm$ 0.21 a	2.55 $\pm$ 0.11 b	2.89 $\pm$ 0.12 ab	1.41 $\pm$ 0.12 c
r_m (female per female per day)	28.1 (***)	0.31 $\pm$ 0.01 a	0.25 $\pm$ 0.00 b	0.27 $\pm$ 0.00 a	0.26 $\pm$ 0.01 ab
Doubling time (days)	28.1 (***)	2.30 $\pm$ 0.07 b	2.86 $\pm$ 0.05 a	2.60 $\pm$ 0.05 b	2.80 $\pm$ 0.14 ab

Asterisks indicate a significant difference: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ associated with H (Kruskal-Wallis test); the letters within a row indicate significant differences associated with following pairwise comparisons.

The Intrinsic rate of natural increase (r_m) of each aphid species was compared on camelina and on its respective host plant (Fig. 3). The oligophagous species *B. brassicae* and *R. padi* had a significantly higher r_m on their respective host plants *B. napus* and *H. vulgare* ($U = 296$ and $U = 325$, respectively; $P < 0.001$). Conversely, for *M. persicae*, the r_m was significantly lower on its rearing plant ($U = 247$; $P < 0.01$). Finally, for *A. fabae*, this parameter was not significantly different between the two plants ($U = 521$; $P > 0.05$).

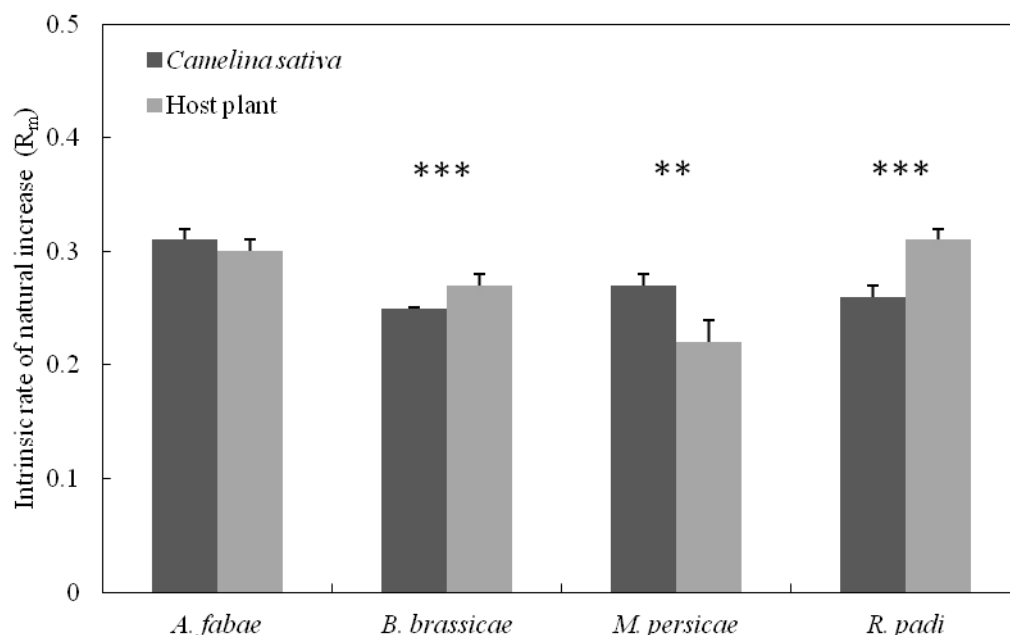


Fig. 3 Intrinsic rate of natural increase (r_m) ($\pm$ SEM), of different aphid species reared on *Camelina sativa* and on their respective host plants, i.e., *Vicia faba*, *Brassica napus*, *Solanum tuberosum*, *Hordeum vulgare*. For each aphid species and each plant, 22 to 40 individuals were tested. Asterisks indicate a significant difference in a choice test: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Mann-Whitney U test).

Discussion

This study clearly showed that the four aphid species are likely to successfully colonize *Camelina sativa* as they all produced progeny on this plant. However, the two polyphagous species *A. fabae* and *M. persicae* and the two specialist species *B. brassicae* (cabbage specialist) and *R. padi* (cereal specialist) performed differently.

Camelina colonization ability

Host plant colonization by alate aphids is regulated by a sequence of steps [50, 51]: first, the host location and landing, followed by plant exploration and evaluation by brief testing probes. In the 24-h no-choice test, all four aphid species showed the same ability to leave the platform, to fly toward *C. sativa* and to

land on it. In our experimental set up, flight orientation was probably triggered not only by volatile organic compounds emitted by the plant [52–54] but also by visual stimuli [55]. Furthermore, the time to the first probe was not different among the four aphid species. This suggests that *C. sativa* potential cues located on the plant's surface (e.g., wax or toughness of the leaf surface or volatiles) did not modulate orientation (attractive vs. repellent) nor probing (phagostimulant vs. deterrent) by aphids. These observations may seem surprising, as one would expect that the two generalist aphid species would be less attracted than the Brassicaceae specialist, *B. brassicae* and the cereal specialist not at all. Indeed, generalist aphids are usually indifferent or repelled by isothiocyanates emitted by *Brassicaceae* [53, 56], while specialist aphids are stimulated by secondary compounds [50]. However, Matthaüs and Zubr [22] indicated that camelina emitted mainly non-volatile isothiocyanates, certainly limiting attractant and repellent effects.

Once initial contact and plant surface assessment has been made, aphids probe the epidermis and then display stylet pathway activity in the mesophyll before ingesting sap within phloem tissues, defining the final acceptance of the plant [51]. In the present EPG study, the suitability of camelina for all the aphid species is supported by the absence of any stress indicator such as high xylem sap consumption, longer salivation phase (E1) or many phases of stylet derailment [57–59]. In our study, although the total duration of phloem ingestion was reduced in *B. brassicae* compared to the two generalist aphids, other parameters such as the time to the first phloem ingestion stylet derailment and pathway phase periods were similar for all three species. These results are not consistent with previous studies which showed that specialist insects make faster decisions than generalist ones [60]. However they confirm that the lower acceptability of camelina by *B. brassicae* was not due to features of the peripheral tissue layers of the leaves but to phloem-located cues. One hypothesis is that aphids encountered deterrent compounds which could explain the high number of probes and pathway phases observed in *B. brassicae* and *R. padi*, although the total duration of the pathway phase remained equivalent for all aphids species. Indeed, the number of probes is higher in the less suitable host [61]. A first candidate could be the camalexine which is a phytoalexin found specifically in *C. sativa* and not in rapeseed [62, 63]. Onyilgha *et al.* [64] studied other compounds involved in the response of a *Brassicaceae* specialist insect, the crucifer flea beetle (*Phyllotreta cruciferae*) (Coleoptera: *Chrysomelidae*) to camelina. They showed that camelina tissues present a large concentration of feeding deterrent components, such as flavone and quercetin glycosides, contrary to Brassica species such as *B. napus*, which contains large amounts of kaempferol identified as a phagostimulant. *B. brassicae* exhibited the same difficulties as the crucifer flea beetle on camelina, suggesting that *C. sativa* bears original deterrent compounds that specifically affect *Brassicaceae* specialists. The possibility that *M. persicae* and *A. fabae* may have prevented the coagulation of phloem proteins and the formation of callose after entering phloem vessels cannot be excluded [65].

Concerning aphid performance on plants, survival and above all daily fecundity on camelina were also contrasted between the aphid species tested, confirming the results obtained from the EPG study. *A. fabae* and *M. persicae* exhibited both the highest r_m and phloem sap consumption. It is noteworthy that the short longevity of *A. fabae* was compensated by a very high daily fecundity, corresponding to a trade-off relative to plant quality [66]. As expected, on camelina, the cereal specialist *R. padi* ingested very little phloem sap and its performances were very weak compared to the other aphid species. This indicates a type of antixenosis in which the strong feeding behavior alteration on the plant leads to the alteration of insects' physiological parameters [67]. Although, it was expected that the *Brassicaceae* specialist performed better on camelina than the generalist aphids [68], the generalist species seemed to be more efficient. Those results clearly indicate that *Camelina sativa* could become a potential host for these species mainly for the generalist ones which developed as well or even better than on their rearing host.

Epidemiologic and agronomic implications

All four aphid species successfully developed and reproduced on camelina: *Myzus persicae* developed even better on *C. sativa* than on potatoes, which is consistent with the results of Le Guigo *et al.* [69] who showed that the polyphagous *M. persicae* performed better on *Brassicaceae* than *Solanaceae*. It was expected that *R. padi*, a cereal specialist, would be a "transient aphid"; *i.e.*, occasionally landing, resting and hydrating on the plant [70] but surprisingly, camelina could also be a suitable host for this species, even if its performances were lower than the other species. Therefore, *A. fabae*, *B. brassicae*, *M. persicae* and *R. padi* can be considered as camelina potential "colonizing aphids" [70, 71].

So far, very little is known about the phytoviruses that camelina may host. Séguin-Swartz *et al.* [72], state that camelina is likely to host three *Brassicaceae* viruses, the TCV (*Turnip crinkle virus*), the TRoV (*Turnip rosette virus*) and the TYMV (*Turnip yellow mosaic virus*) and an *Amaranthaceae* virus, the BWYV (*Beet western yellows virus*). In an epidemiological context, our feeding behavior analysis demonstrated that all four aphid species exhibited potential drops which is a suitable behavior for the vectoring of non-persistent plant viruses (requiring a landing and brief probes) [70, 73]. Their ability to form viable colonies also confirmed that the four aphid species are able to vector persistent virus (requiring a landing and a prolonged aphid phloem feeding) [70]. Therefore, virus propagation is an important risk factor to be considered carefully when planning the reintroduction of camelina in the agricultural landscape.

On the other hand, camelina could serve as "virus sink" as defined by Hooks and Fereres [74]. Indeed, camelina can host aphids that also feed on non-*Brassicaceae* conventional crops, such as potatoes, legumes and cereals. These aphids could then lose their virus charge on camelina (for instance the *Barley Yellow dwarf virus* for *R. padi* or the *Potato virus Y* for *M. persicae*) and consequently become virus-free aphids.

The associations *Brassicaceae* - legume have often been used and promoted in organic but also conventional agriculture [23]. Intercropping usually minimizes environmental impacts by allowing lower inputs through reduced fertilizer and pesticide requirements [75]. For instance, mixed cropping peas with camelina had a great suppressive effect on weed coverage compared with sole pea [25]. The effect of mixed cropping with camelina on pest control has not been evaluated yet but is under investigation in our laboratory.

When evaluating the risks posed by the introduction a new plant in an agrosystem, it is essential to use a more systemic approach, including assessing its effect on a wide range of potential insect pests usually associated or not with the focal crop.

Acknowledgments

This work was done, in partnership with the SAS P.I.V.E.R.T. (Picardie Innovations Végétales, Enseignements et Recherches Technologiques), within the frame of the French Institute of Excellence in the field of Low-Carbon Energies (IEED) P.I.V.E.R.T. (www.institut-pivert.com) selected as an Investment for the Future (“Investissements d’Avenir”). This work was supported, as part of the Investments for the Future, by the French Government under the reference ANR-001-01. We thank the Fédération REgionale de Défense contre les Organismes Nuisibles (FREDON) of Picardie for providing the *Vicia faba* seeds. Charles Vincent and Shân Williams (Maison des langues/Université de Picardie Jules Verne) are thanked for their critical reading of the manuscript especially concerning the English language.

References cited

1. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2014) Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/home/en/>. Accessed 15 March 2014.
2. Valentine J, Clifton-Brown J, Hastings A, *et al.* (2012) Food vs. fuel: the use of land for lignocellulosic “next generation” energy crops that minimize competition with primary food production. *GCB Bioenergy* **4**:1–19. doi: 10.1111/j.1757-1707.2011.01111.x
3. Durrett TP, Benning C, Ohlrogge J (2008) Plant triacylglycerols as feedstocks for the production of biofuels. *Plant J* **54**:593–607. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03442.x
4. Cermak SC, Biresaw G, Isbell TA, *et al.* (2013) New crop oils—Properties as potential lubricants. *Ind Crops Prod* **44**:232–239. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.10.035
5. Zanetti F, Monti A, Berti MT (2013) Challenges and opportunities for new industrial oilseed crops in EU-27: A review. *Ind Crops Prod* **50**:580–595. doi: 10.1016/j.indcrop.2013.08.030
6. Cardone M, Mazzoncini M, Menini S, *et al.* (2003) *Brassica carinata* as an alternative oil crop for the production of biodiesel in Italy : agronomic evaluation, fuel production by transesterification and characterization. *Biomass and Bioenergy* **25**:623–636. doi: 10.1016/S0961-9534(03)00058-8

7. Alford DV, Nilsson C, Ulber B (2003) Insect pests of oilseedrape. *Biocontrol Oilseed Rape Pests*. Blackwell Science Ltd, pp 9–42
8. Kovács G, Kaasik R, Metspalu L, *et al.* (2013) Could *Brassica rapa*, *Brassica juncea* and *Sinapis alba* facilitate the control of the cabbage seed weevil in oilseed rape crops? *Biol Control* **65**:124–129. doi: 10.1016/j.biocontrol.2013.01.011
9. Zehnder G, Gurr GM, Kühne S, *et al.* (2007) Arthropod pest management in organic crops. *Annu Rev Entomol* **52**:57–80. doi: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091337
10. Pavlista AD, Isbell TA, Baltensperger DD, Hergert GW (2011) Planting date and development of spring-seeded irrigated canola, brown mustard and camelina. *Ind Crops Prod* **33**:451–456. doi: 10.1016/j.indcrop.2010.10.029
11. Kroll H (1994) Ein archaologischer Rapsfund des 16. Jahrhunderts, entdeckt in Heide in Holstein, Norddeutschland. *J Agron Crop Sci* **173**:17–21. doi: 10.1111/j.1439-037X.1994.tb00569.x
12. Fröhlich A, Rice B (2005) Evaluation of *Camelina sativa* oil as a feedstock for biodiesel production. *Ind Crops Prod* **21**:25–31. doi: 10.1016/j.indcrop.2003.12.004
13. Bonjean A, Le Goffic F (1999) *Camelina sativa* (L.) Crantz : une opportunité pour l'agriculture et l'industrie européennes. *Oilseeds fats, Crop Lipids* **6**:28–34.
14. Naranjo SE, Stefanek MA (2012) Feeding behavior of a potential insect pest, *Lygus hesperus*, on four new industrial crops for the arid southwestern USA. *Ind Crops Prod* **37**:358–361. doi: 10.1016/j.indcrop.2011.12.020
15. Solis A, Vidal I, Paulino L, *et al.* (2013) Camelina seed yield response to nitrogen, sulfur, and phosphorus fertilizer in South Central Chile. *Ind Crops Prod* **44**:132–138. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.11.005
16. Johnson JMF, Gesch RW (2013) Calendula and camelina response to nitrogen fertility. *Ind Crops Prod* **43**:684–691. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.07.056
17. Putnam DH, Budin JT, Field LA, Breene WM (1993) Camelina: A promising low-input oilseed. In: Janick J, Simon JE (eds) *New Crop*. Wiley, New York, pp 314–322
18. French AN, Hunsaker D, Thorp K, Clarke T (2009) Evapotranspiration over a camelina crop at Maricopa, Arizona. *Ind Crops Prod* **29**:289–300. doi: 10.1016/j.indcrop.2008.06.001
19. Schillinger WF, Wysocki DJ, Chastain TG, *et al.* (2012) Camelina: Planting date and method effects on stand establishment and seed yield. *F Crop Res* **130**:138–144. doi: 10.1016/j.fcr.2012.02.019
20. Sharma G, Kumar VD, Haque A, *et al.* (2002) Brassica coenospecies : a rich reservoir for genetic resistance to leaf spot caused by *Alternaria brassicae*. *Euphytica* **125**:411–417. doi: 10.1023/A:1016050631673
21. Henderson AE, Hallett RH, Soroka JJ (2004) Prefeeding Behavior of the Crucifer Flea Beetle, *Phyllotreta cruciferae*, on Host and Nonhost Crucifers. *J Insect Behav* **17**:17–39. doi: 10.1023/B:JOIR.0000025130.20327.1a
22. Matthäus B, Zubr J (2000) Variability of specific components in *Camelina sativa* oilseed cakes. *Ind Crops Prod* **12**:9–18. doi: 10.1016/S0926-6690(99)00040-0
23. Paulsen HM (2007) Mischfruchtanbausysteme mit Ölpflanzen im ökologischen Landbau 1. Ertragsstruktur des Mischfruchtanbaus von Leguminosen oder Sommerweizen mit Leindotter (*Camelina sativa* L. Crantz). *Landbauforsch Völkenrode* **1**:107–117.

24. Groeneveld JH, Klein A-M (2013) Pollination of two oil-producing plant species: *Camelina* (*Camelina sativa* L. Crantz) and pennycress (*Thlaspi arvense* L.) double-cropping in Germany. *GCB Bioenergy* 1–10. doi: 10.1111/gcbb.12122
25. Saucke H, Ackermann K (2006) Weed suppression in mixed cropped grain peas and false flax (*Camelina sativa*). *Weed Res* **46**:453–461. doi: 10.1111/j.1365-3180.2006.00530.x
26. Abramović H, Butinar B, Nikolić V (2007) Changes occurring in phenolic content, tocopherol composition and oxidative stability of *Camelina sativa* oil during storage. *Food Chem* **104**:903–909. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.12.044
27. Berhow MA, Polat U, Glinski JA, *et al.* (2013) Optimized analysis and quantification of glucosinolates from *Camelina sativa* seeds by reverse-phase liquid chromatography. *Ind Crop Prod* **43**:119–125. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.07.018
28. Gardiner MA, Tuell JK, Isaacs R, *et al.* (2010) Implications of Three Biofuel Crops for Beneficial Arthropods in Agricultural Landscapes. *BioEnergy Res* **3**:6–19. doi: 10.1007/s12155-009-9065-7
29. Bourke D, Stanley D, O'Rourke E, *et al.* (2013) Response of farmland biodiversity to the introduction of bioenergy crops: effects of local factors and surrounding landscape context. *GCB Bioenergy* 1–15. doi: 10.1111/gcbb.12089
30. Kelly DW, Paterson RA, Townsend CR, *et al.* (2009) Parasite spillback: a neglected concept in invasion ecology? *Ecology* **90**:2047–56. PMID: 19739367
31. Broadbent L, Heathcote GD (1958) Properties and host range of Turnip crinkle, rosette and yellow mosaic viruses. *Ann Appl Biol* **46**:585–592. doi: 10.1111/j.1744-7348.1958.tb02242.x
32. Toba HH (1962) Studies on the host range of watermelon mosaic virus in Hawaii. *Plant Dis* **46**:409–410.
33. Hill DS (1983) *Myzus persicae* (Sulz). Agric. insect pests Trop. their Control. Cambridge University Press, p 746
34. Markham PG, Pinner MS, Raccach B, Hull R (1987) The acquisition of a caulimovirus by different aphid species: comparison with a potyvirus. *Ann Appl Biol* **111**:571–587. doi: 10.1111/j.1744-7348.1987.tb02015.x
35. Gols R, Veenemans C, Potting RPJ, *et al.* (2012) Variation in the specificity of plant volatiles and their use by a specialist and a generalist parasitoid. *Anim Behav* **83**:1231–1242. doi: 10.1016/j.anbehav.2012.02.015
36. Boquel S, Delayen C, Couty A, *et al.* (2012) Modulation of Aphid Vector Activity by Potato virus Y on In Vitro Potato Plants. *Am Phytopathol Soc* **96**:82–86. doi: 10.1094/PDIS-06-11-0499
37. Brunissen L, Cherqui A, Pelletier Y, *et al.* (2009) Host-plant mediated interactions between two aphid species. *Entomol Exp Appl* **132**:30–38. doi: 10.1111/j.1570-7458.2009.00862.x
38. Tjallingii WF (1988) Electrical recording of stylet penetration activities. In: Elsevier (ed) *Aphids Their Biol. Nat. Enemies Control. World Crop Pests*. Amsterdam, The Netherlands, pp 95–108
39. Giordanengo P (2014) EPG-Calc: a PHP-based script to calculate electrical penetration graph (EPG) parameters. *Arthropod Plant Interact* **8**:163–169. doi: 10.1007/s11829-014-9298-z
40. Tjallingii WF, Hogen Esch T (1993) Fine structure of aphid stylet routes in plant tissues in correlation with EPG signals. *Physiol Entomol* **18**:317–328. doi: 10.1111/j.1365-3032.1993.tb00604.x

41. Febvay G, Delobel B, Rahbé Y (1988) Influence of the amino acid balance on the improvement of an artificial diet for a biotype of *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: *Aphididae*). *Can J Zool* **66**:2449–2453. doi: 10.1139/z88-362
42. Down RE, Gatehouse AMR, Hamilton WDO, Gatehouse JA (1996) Snowdrop lectin inhibits development and decreases fecundity of the Glasshouse Potato Aphid (*Aulacorthum solani*) when administered in vitro and via transgenic plants both in laboratory and glasshouse trials. *J Insect Physiol* **42**:1035–1045. doi: 10.1016/S0022-1910(96)00065-0
43. Le Roux V, Saguez J, Vincent C, Giordanengo P (2004) Rapid Method to Screen Resistance of Potato Plants Against *Myzus persicae* (Homoptera: *Aphididae*) in the Laboratory. *J Econ Entomol* **97**:2079–2082. doi: 10.1603/0022-0493-97.6.2079
44. Giordanengo P (2012) DEMP 1.5.2, programme php pour calculer les paramètres démographiques (tables de survie).
45. Birch LC (1948) The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *J Anim Ecol* **17**:15–26.
46. R Core Team (2013) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>.
47. Siegel S, Castellan JN (1988) Nonparametric statistics for the behavioral sciences. Nonparametric Stat. *Behav. Sci.* McGraw-Hill, New York, p 399
48. Dunn J (1964) Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics* **6**:241–252.
49. Georgin P, Gouet M (2000) Statistiques avec Excel 2000. 338.
50. Niemeyer HM (1990) Secondary plant chemicals in aphid-host interactions. RK Campbell RD Eikenbary Aphid-plant genotype Interact 101–111.
51. Powell G, Tosh CR, Hardie J (2006) Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. *Annu Rev Entomol* **51**:309–30. doi: 10.1146/annurev.ento.51.110104.151107
52. Chapman RF, Bernays EA, Simpson SJ (1981) Attraction and repulsion of the aphid, *Cavariella aegopodii*, by plant odors. *J Chem Ecol* **7**:881–888. doi: 10.1007/BF00992385
53. Nottingham SF, Hardie J, Dawson GW, *et al.* (1991) Behavioral and electrophysiological responses of Aphids to host and nonhost plant volatiles. *J Chem Ecol* **17**:1231–42. doi: 10.1007/BF01402946
54. Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM, Hardie J (1992) The chemical ecology of aphids. *Annu Rev Entomol* **37**:21–40. doi: 10.1146/annurev.en.37.010192
55. Hardie J (1989) Spectral specificity for targeted flight in the Black bean Aphid, *Aphis fabae*. *J Insect Physiol* **35**:619–626. doi: 10.1111/j.1365-3032.1993.tb00612.x
56. Hori M (1998) Repellency of Rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in a screenhouse. *J Chem Ecol* **24**:1425–1432. doi: 10.1023/A:1020947414051
57. Sauvion N (1995) Effets et modes d'action de deux lectines à mannose sur le puceron du pois, *Acyrtosiphon pisum* (Harris). *PhD thesis*. INSA Lyon. 257.
58. Prado E, Tjallingii WF (1997) Effects of previous plant infestation on sieve element acceptance by two aphids. *Entomol Exp Appl* **82**:189–200. doi: 10.1046/j.1570-7458.1997.00130.x
59. Sauge M-H, Lacroze J, Poëssel J, *et al.* (2002) Induced resistance by *Myzus persicae* in the peach cultivar “Rubira.”. *Entomol Exp Appl* **102**:29–37. doi: 10.1046/j.1570-7458.2002.00922.x

60. Bernays EA, Funk DJ (1999) Specialists make faster decisions than generalists : experiments with aphids. *Proc R Soc B* **266**:151–156. doi: 10.1098/rspb.1999.0615
61. Cole RA (1997) Comparison of feeding behaviour of two Brassica pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. *Entomol Exp Appl* **85**:135–143. doi: 10.1046/j.1570-7458.1997.00243.x
62. Browne LM, Conn KL, Ayert WA, Tewariy JP (1991) The camalexins: New phytoalexins produced in the leaves of *Camelina sativa* (Cruciferae). *Tetrahedron* **41**:3909–3914. doi: 10.1016/S0040-4020(01)86431-0
63. Kuśnierczyk A, Winge P, Jørstad TS, *et al.* (2008) Towards global understanding of plant defence against aphids - timing and dynamics of early Arabidopsis defence responses to cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) attack. *Plant Cell Environ* **31**:1097–1115. doi: 10.1111/j.1365-3040.2008.01823.x
64. Onyilagha JC, Gruber MY, Hallett RH, *et al.* (2012) Constitutive flavonoids deter flea beetle insect feeding in *Camelina sativa* L. *Biochem Syst Ecol* **42**:128–133. doi: 10.1016/j.bse.2011.12.021
65. Will T, Bel AJE Van (2006) Physical and chemical interactions between aphids and plants. *J Exp Bot* **57**:729–737. doi: 10.1093/jxb/erj089
66. Stadler B (1995) Adaptive allocation of resources and life-history trade-offs in aphids relative to plant quality. *Oecologia* **102**:246–254. doi: 10.1007/BF00333257
67. Le Roux V, Dugravot S, Campan E, *et al.* (2008) Wild Solanum resistance to aphids: antixenosis or antibiosis? *J Econ Entomol* **101**:584–91. doi: 10.1603/0022-0493(2008)101[584:WSRTAA]2.0.CO;2
68. Gols R, Bukovinszky T, van Dam NM, *et al.* (2008) Performance of generalist and specialist herbivores and their endoparasitoids differs on cultivated and wild Brassica populations. *J Chem Ecol* **34**:132–43. doi: 10.1007/s10886-008-9429-z
69. Le Guigo P, Maingeneau A, Le Corff J (2012) Performance of an aphid *Myzus persicae* and its parasitoid *Diaeretiella rapae* on wild and cultivated Brassicaceae. *J Plant Interact* **7**:326–332. doi: 10.1080/17429145.2011.628417
70. Fereres A, Moreno A (2009) Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. *Virus Res* **141**:158–168. doi: 10.1016/j.virusres.2008.10.020
71. Irwin M, Kampmeier GE, Weisser WW (2007) Aphids movement : process and consequences. In: H.F.Van Emden and R. Harrington (ed) *Aphids as Crop pests*. CABI Publishing, Oxon, UK, pp 153–186
72. Séguin-Swartz G, Eynck C, Gugel RK, *et al.* (2009) Diseases of *Camelina sativa* (false flax). *Can J plant Pathol* **31**:375–386. doi: 10.1080/07060660909507612
73. Martín B, Collar JL, Tjallingii WF, Fereres A (1997) Intracellular ingestion and salivation by aphids may cause the acquisition and inoculation of non-persistently transmitted plant viruses. *J Gen Virol* **78**:2701–2705. doi: 10.1099/vir.0.80632-0
74. Hooks CRR, Fereres A (2006) Protecting crops from non-persistently aphid-transmitted viruses: a review on the use of barrier plants as a management tool. *Virus Res* **120**:1–16. doi: 10.1016/j.virusres.2006.02.006
75. Lithourgidis AS, Dordas CA, Damalas CA, Vlachostergios DN (2011) Review article Annual intercrops : an alternative pathway for sustainable agriculture. *Aust J Crop Sci* **5**:396–410. ISSN: 1835-2693

CHAPITRE 4.

EFFETS DES PRATIQUES CULTURALES SUR LES INTERACTIONS TRI-TROPHIQUES

Effets des pratiques culturelles sur les interactions tri-trophiques

The diagram illustrates the interactions between Cameline, Parasitoïdes, Pucerons, and Phytovirus. Cameline is shown in a pot, with a dashed arrow pointing to it from the text "Association culturale" (cultural association) and another dashed arrow pointing to it from the text "Fertilisation azotée" (nitrogen fertilization) with the chemical formula NH_4NO_3 . Parasitoïdes (parasitoids) are shown as a wasp-like insect, and Pucerons (aphids) are shown as a small insect. Both Parasitoïdes and Pucerons are shown with arrows pointing to Cameline, indicating they are pests or beneficials. A dashed arrow points from Cameline to Phytovirus, which is represented by a geometric structure. The diagram shows a cycle of interactions: Parasitoïdes attack Pucerons, Pucerons attack Cameline, and Cameline is affected by Phytovirus. There are also arrows indicating the flow of information or influence between the insects and the plant.

- 88 -

Présentation de l'étude et principaux résultats :

Les caractéristiques culturelles particulières de la cameline permettent de l'utiliser en association avec des Fabaceae ou Poaceae afin de rendre différents services à la plante focale (Haan *et al.* 1994; Saucke & Ackermann 2006). Ayant mis en avant dans l'étude précédente que l'espèce polyphage *Aphis fabae* (retrouvée majoritairement sur Fabaceae) était capable de coloniser la cameline, nous avons étudié les conséquences de l'association de la féverole (*Vicia faba*, Fabaceae) avec la cameline sur une espèce de parasitoïde (étude en champs : **Annexe n°1** et étude en laboratoire : article présenté ci-dessous). En effet, le comportement de sélection de l'hôte chez les insectes parasitoïdes a été amplement étudié dans des systèmes tri-trophiques expérimentalement simplifiés, formés par une seule chaîne alimentaire (une plante, un herbivore et une espèce de parasitoïde), mais les environnements plus complexes avec plusieurs plantes/herbivores hôtes ont bien souvent été négligés. L'hypothèse « Mother knows best » prédit que la préférence pour un complexe plante-hôte devrait être positivement corrélée avec une qualité de plante améliorant les performances des descendants (Thompson 1988; Mayhew 1997; Henry, Gillespie & Roitberg 2005). Nous avons donc étudié le comportement de sélection du puceron-hôte par l'endoparasitoïde généraliste *Aphidius matricariae* vis-à-vis du puceron noir de la fève *A. fabae* dans le système de cultures associées incluant *V. faba* en tant que plante d'intérêt et *C. sativa* en tant que plante de service (**Fig. 16.**).

Des tests de choix ont révélé que les femelles parasitoïdes préféraient s'orienter vers (1) le complexe plante-puceron plutôt que la plante non-infestée quelle que soit la plante ; et (2) le complexe *C. sativa*-*A. fabae* plutôt que le complexe *V. faba*-*A. fabae*. Lors des tests de taux d'attaque, en situation de choix, les femelles parasitoïdes ont montré plus d'intérêt pour les pucerons sur *C. sativa* mais ont paradoxalement choisi de pondre plus souvent dans les pucerons sur *V. faba*. Finalement, les parasitoïdes qui se sont développés sur le complexe *V. faba*-*A. fabae* présentaient des « proxy » de fitness supérieurs.

Nous avons donc montré que les femelles parasitoïdes étaient capables de discriminer les pucerons-hôtes offrant potentiellement les meilleures performances à leur descendance mais qu'elles sélectionnaient, au préalable, le complexe plante-puceron le moins favorable. Notre étude a mis en évidence un élément clé de la perturbation du comportement de sélection d'hôte des parasitoïdes, potentiellement en lien avec la diversification de l'habitat. Ceci suggère que l'hypothèse « Mother knows best » pourrait être remise en question par l'augmentation de la complexité des systèmes étudiés.

La présence de la cameline en association avec la féverole pourrait altérer la régulation « top-down » des populations de pucerons. La cameline semble jouer le rôle d'« espace libre d'ennemis » (« enemy free-space »), à savoir un refuge pour les herbivores en leur permettant d'échapper chimiquement et/ou physiquement à leurs ennemis naturels (Jeffries & Lawton 1984).

Article n°2:

Aphid parasitoid mothers don't always know best through the whole host selection process.

(Article publié dans *PLOS ONE*, 10(8), e0135661, doi : 10.1371/journal.pone.0135661)

Quentin Chesnais, Arnaud Ameline, Géraldine Doury, Vincent Le Roux & Aude Couty.

FRE CNRS 3498 EDYSAN (Écologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), Université de Picardie Jules Verne, 33 rue St Leu, F-80039 Amiens Cedex, France.

Abstract

Parasitoid host selection behaviour has been extensively studied in experimentally simplified tritrophic systems formed by one single food chain (one plant, one herbivore and one parasitoid species). The "Mother knows best" hypothesis predicts that the preference for a plant-host complex should be positively correlated with plant quality for offspring performance. We studied the host selection behaviour of the generalist endoparasitoid *Aphidius matricariae* towards the black bean aphid *Aphis fabae* in the intercrop system including *Vicia faba* as a focal plant and its companion plant *Camelina sativa*.

Dual-choice laboratory bioassays revealed that parasitoid females preferred to orientate towards (1) the plant-aphid complex over the non-infested plant whatever the complex (2) the *C. sativa*-*A. fabae* complex over the *V. faba*-*A. fabae* complex. In dual choice attack rate bioassays, parasitoid females showed more interest towards the aphids on *C. sativa* but paradoxically chose to oviposit more in aphids on *V. faba*. Ultimately, parasitoids that had developed on the *V. faba*-*A. fabae* complex exhibited better fitness parameters.

By demonstrating that parasitoid females were able to discriminate the aphid host that offered the highest fitness to their offspring but selected beforehand the least suitable plant-aphid complex, we provide key insight into the disruption in their host selection behaviour potentially triggered by diverse habitats. This suggests that the "Mother knows best" hypothesis could be thwarted by increasing the complexity of the studied systems.

1. Introduction

The "Mother knows best" hypothesis, also known as the "preference-performance hypothesis", derives from the general optimality theory originally set for phytophagous insects [1–4], which states that female oviposition preferences should positively correlate with host suitability for offspring development (*i.e.* offspring survival and further adult fecundity). The "Mother knows best" hypothesis has been recently expanded to parasitoid insects [5], natural enemies of phytophagous insects. Because their larvae develop as obligatory parasites, the reproductive success of parasitoids is partly determined by the ability of females to select a suitable insect host for the development of their progeny. Physical and chemical cues associated with the insect host and/or its habitat have been shown to play important roles in the localization and selection of both the insect host and its host plant (for review, see [6–11]). During the first steps of host habitat and host location, parasitoid females may respond to volatile chemical blends produced by their host plant, to a combination of insect host and host plant odours and/or to volatiles produced by the plant in response to host feeding damage (*i.e.*, herbivore induced-plant volatiles or HIPV). Once the parasitoid female has reached a potential insect host habitat, it begins to search for the insect host on or near the host plant and responds to chemical stimuli produced by the insect host itself or arising from its products rather than to host-plant derived products. The ability of koinobiont parasitoid (*i.e.* parasitoids whose hosts continue to feed and grow after parasitization) females to reliably predict future host quality has been demonstrated in choice studies where the preferred insect hosts were indeed the ones that allowed maximum adult parasitoid size and/or minimum development duration [12,13]. However, although it is also expected that the preferred host plant and/or plant-insect host complex will provide an advantage in terms of fitness for the parasitoid offspring, there is a lack of empirical evidence to link the orientation preferences of parasitoid females during the early steps of host selection with offspring performance [14]. Instead, most experiments have ignored the role played by the first trophic level (*i.e.* the plant) and focused on preference and performance by parasitoids in a bitrophic system (for review, see [8,15]). To fill this lack of knowledge, the "Mother knows best" hypothesis should be considered, for parasitoid insects, not only through the study of the entire host selection process (from the early stages of host habitat selection to the final steps of host acceptance/suitability), but also through a dual choice set up between at least two host habitats. Indeed, laboratory studies generally tend to simplify multitrophic interactions that occur in nature. Parasitoid host selection behaviour has been extensively studied using "simple" tritrophic systems formed by one single food chain that consisted of one plant, one phytophagous host and one parasitoid species [7,16,17]. Such studies often neglect the impact of complex odour bouquets whereas, in natural systems, parasitoids search for their host in habitats that are spatially and temporally diverse, and comprise various plants and herbivore communities [18].

Intercropping systems involve the culture of at least two crops in the same space and time [19] with one focal crop associated with one companion plant providing benefits such as pest/weed control and/or increased yields. They provide an opportunity to test theoretical ecology concepts and study the effects of plant diversity on food web interactions. Thus, they represent interesting models to investigate the links between parasitoid foraging behaviour in diverse habitat and parasitoid performance.

In the present work we used a laboratory approach to test the "Mother knows best" hypothesis through the study of all the steps of the host selection process by an aphid parasitoid facing two plant-host complexes. In other words, will the plant-host complex initially preferred by the parasitoid females be the one consistently preferred along all the steps of the host selection process, and will it ultimately allow the best progeny performance? To address this question, our experimental food web was formed of two crop plants, the broad bean *Vicia faba* (L.) (Fabaceae) as the focal plant and the false flax *Camelina sativa* (L.) Crtz. (Brassicaceae) as the companion plant, the black bean aphid *Aphis fabae* (Homoptera: *Aphididae*) as the host and its parasitoid wasp *Aphidius matricariae* Haliday (Hymenoptera: Braconidae: *Aphidiinae*). Three experiments were set, taking into account each of the hierarchical steps occurring along the entire host selection process:

- (1) The first steps of host selection (host habitat and host location) were studied by assessing the preferences of *A. matricariae* females for a host plant (*V. faba* or *C. sativa*), depending on its status (infested or not by *A. fabae*).
- (2) Host recognition and acceptance of *A. fabae* by *A. matricariae* females were evaluated on both plants through an attack rate bioassay (dual choice experiment).
- (3) Host suitability/regulation was assessed by comparing the fitness of the parasitoid offspring that developed on each of the two plant-host complexes.

2. Materials and Methods

Study system

Camelina (*C. sativa*) is a Brassicaceae which was an important cultivated oil crop in temperate Europe until the nineteenth century [20]. It has recently been re-introduced because its oil offers good opportunities not only as a biofuel but also as functional food due to its exceptionally high levels of omega-3 fatty acids [21]. *Camelina* is generally reported to be tolerant and resistant to various pathogens and insects [22,23], although it has recently been shown to be a potential host for some aphid pests [24]. The faba bean (*V. faba*) is widely grown under a range of climatic conditions from temperate to subtropical where it hosts a wide variety of insect pests [25]. *Camelina* can be used as a companion plant in intercropping systems with faba bean, for weed control [26]. The black bean aphid *A. fabae* is a

polyphagous species with a wide host range including *Fabaceae* but also *Brassicaceae* plants [27], favouring host plant alternation. This aphid is one of the most damaging pests of faba bean plants. It causes direct damage by phloem feeding, which results in significant impairments of plant growth and yield [28], and it also acts as a vector for plant viruses [29]. The black bean aphid is a common host of the generalist and cosmopolitan hymenopteran parasitoid wasp *A. matricariae* that uses more than a hundred different aphid species as hosts [30] and is commercially available for biological control.

Laboratory assays

Plants and Insects

Plantlets used for the experiments were obtained from seeds. *Camelina sativa* (cv. “Calena”) were provided by Semences de l'Est, Reims (France) and *Vicia faba* (cv.”Espresso”) by the Fédération Régionale de Défense contre les Organismes Nuisibles (FREDON) of Picardie (France). They were grown for three weeks, in plastic pots (60 x 60 x 70 mm) with commercial sterilized potting soil in growth chambers (SANYO, Versatile Environmental Test chamber) under controlled conditions ($20 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity, and a 16L:8D photoperiod at 2 klux).

The colony of *Aphis fabae* was initiated from a single apterous parthenogenetic female (provided in 2012 by Gembloux Agro-Bio-Tech, Belgium) and was maintained in ventilated Plexiglas® cages (360 x 240 x 110 mm) in growth chambers under controlled conditions ($20 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity, and a 16L:8D photoperiod at 2 klux) to induce parthenogenesis. The two plant-aphid combinations used in the study were obtained by mass-rearing of *A. fabae* either on *V. faba* or *C. sativa* plants.

Cohorts of synchronized *A. fabae* nymphs were reared on plantlets of each of the two host plants under the controlled conditions described above until they were used for the experiments. They were obtained by a procedure consisting in placing parthenogenetic adult females on plantlets for 24 hours before removing them. Three-day-old aphids (second instar larvae) were randomly selected as hosts for all bioassays.

Aphidius matricariae (Haliday) parasitoids (Hymenoptera: *Aphidiidae*) were obtained from Viridaxis, Gosselie (Belgium) as mummies. Attention was paid to ensure the use of a commercial line of *A. matricariae* that would have been reared neither on the aphid *A. fabae* nor on any of the plant species used in the study. Upon reception, mummies were transferred to plastic tubes (75 x 13 mm) closed with a cotton plug. Once emerged, parasitoids were sexed and mating was allowed by grouping three to four males with six to seven females in the same tube. They were fed ad libitum with a 1:1 honey/water (v/v) solution until used for the experiments. Parasitoids were maintained in a climate room at $20 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity, and a 16L:8D photoperiod. Three-day-old standardized parasitoid females (mated, fed and without oviposition experience) were randomly selected for the laboratory experiments.

Bioassay 1: Habitat and host plant localization

The aim of bioassay 1 was to determine the preference of *A. matricariae* females in dual choice tests using different combinations of the two plants. The experimental setup used was modified from [31]. It consisted of four ventilated Plexiglas® chambers (360 x 240 x 110 mm) used simultaneously, inside which *V. faba* and *C. sativa* plants were placed on opposite sides of the chamber (**Fig. 1**). In order to use potted plants of similar biomasses, one pot contained one plantlet of *V. faba* whereas the other pot contained three plantlets of *C. sativa*. This ensured that aphids were submitted to similar amounts of COVs potentially emitted by each host plant. To limit possible biases from the environment around the chambers, the relative position of the two plants in the ventilated chambers was inverted every replicate. Chambers were randomly positioned within the room where they received homogenous light from above. Four combinations were randomly tested: 1) non-infested *C. sativa* vs. non-infested *V. faba*; 2) *A. fabae*-infested *C. sativa* vs. non-infested *V. faba*; 3) non-infested *C. sativa* vs. *A. fabae*-infested *V. faba*; 4) *A. fabae*-infested *C. sativa* vs. *A. fabae*-infested *V. faba*. An infested plant was obtained by placing 20 *A. fabae* neonates on the plantlet for 72 hours prior to the test, to ensure induction of plant responses [32]. A single standardized *A. matricariae* female was placed with a small paintbrush on a take-off platform (*i.e.* Petri dish lid, 50 mm in diameter) in the centre of the experimental setup. Female parasitoids were continuously observed until they made a first choice (*i.e.* landing on either plant) or for a maximum of twenty minutes after introduction. This duration was chosen as preliminary tests showed that 50 % of the females responded within 5 minutes. Only females that landed on one of the two host-plant species were considered as responding parasitoids. Times from introduction to first choice by responding females were recorded (latency time). The females that were not found on any plant, *i.e.* that were on inner walls or ground of the experimental chamber, were considered as non-responding parasitoids. Females that did not leave the take-off platform within 20 minutes were discarded. Thirty-eight to ninety-one replicates per treatment were performed. All experiments were conducted at $20 \pm 1^\circ\text{C}$ and 60 ± 5 % relative humidity.

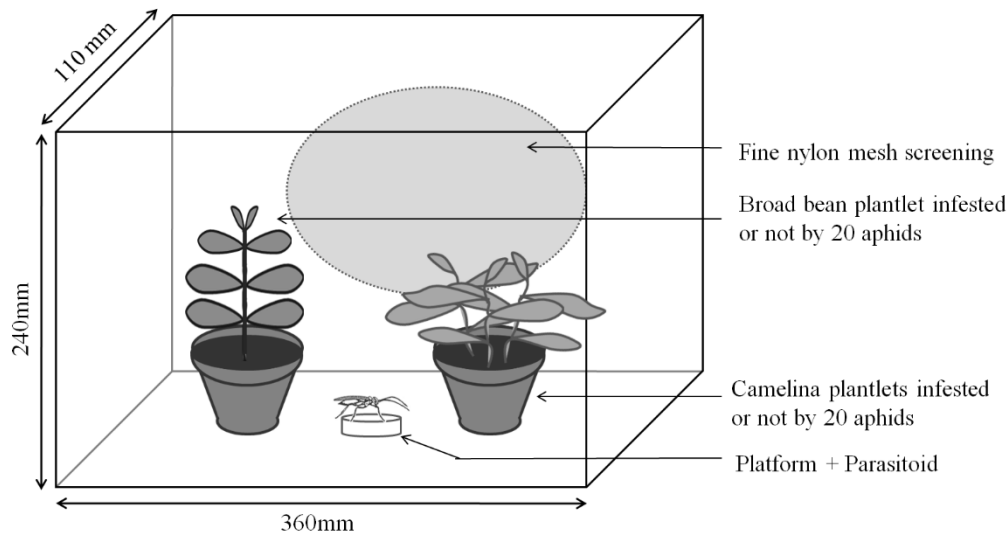


Fig. 1. Experimental device used for the preference experiment.

Bioassay 2: Host recognition and acceptance

The aim of bioassay 2 was to evaluate how *A. matricariae* females would locate and evaluate their host after habitat location had been achieved. In a choice test, the attack rate and the success of attack of *A. matricariae* females were measured on aphid hosts previously reared on each plant. Attack rate arenas were adapted from [33] and consisted of 90 mm diameter plastic Petri dishes (Gosselin, Hazebrouck, France), containing one leaf of *V. faba* and one leaf of *C. sativa* embedded in 1.5 % agar (Prolabo, Louvain, Belgium) and separated from each other by a distance of 2 cm. Fully expanded leaves were chosen from plants at similar phenological stages (5-6 fully expanded leaves stage) and had similar surfaces (*C. sativa*: 6.066 ± 0.250 cm² ; *V. faba*: 6.814 ± 0.268 cm², Mann-Whitney rank-sum test, $U = 76$, $P = 0.053$). Ten three-day-old *A. fabae* were deposited onto each leaf 24 hours prior to the experiment. *A. fabae* reared on *V. faba* were deposited on *V. faba* leaves and *A. fabae* reared on *C. sativa* were deposited on *C. sativa* leaves.

One standardized *A. matricariae* female was carefully introduced inside the attack rate arena. Observations started immediately and lasted for 10 min. The time before the first recorded behavioural item (latency time), the first choice (aphid patch which was reached first by the parasitoid) and the second choice were noted. Then, the frequency and the sequence of the following behavioural items were recorded (AE: Antennal Examination, AB: Abdomen Bending and OI: Ovipositor Insertion) [9]. An ovipositor insertion was recorded whenever a parasitoid female made physical contact with an aphid using its ovipositor, while exhibiting an oviposition stance (Abdomen Bending). For the analysis, the behaviours were regarded as a series of events and only the final event was recorded (e.g. if a wasp had antennated an aphid and then bent its abdomen, this was noted as AB and not as AE). Each contact between a wasp and an aphid was classified in only one of the above categories. Even if the number of

the different behavioural items might not be affected, transition frequencies between behaviours may change [34]. Therefore, all behavioural items and their sequential order were recorded and computed into an ethogram. To assess the proportion of Ovipositor Insertion (OI) resulting in true oviposition (OV), all stung aphids were dissected in a drop of NaCl solution (9 ‰) under a stereomicroscope to calculate the rate of oviposition ($\%_{OV} = \text{Number of true oviposition (OV)} / \text{Number of ovipositor insertion (OI)}$). Thirty replicates in total were made and all experiments were conducted at $20 \pm 1^\circ\text{C}$ and $60 \pm 5\%$ relative humidity.

Bioassay 3: Host suitability

The aim of bioassay 3 was to determine the effects of the plant-aphid complexes, either *C sativa*-*A. fabae* or *V. faba*-*A. fabae*, on the fitness of the parasitoid progeny.

Preliminary experiments had been conducted in order to evaluate the potential effect of aphid treatment (*i.e.* previously reared on *C. sativa* or *V. faba*) on the probability of laying an egg in each attacked host (probability of true oviposition) under experimental conditions of controlled oviposition. The controlled oviposition procedure consisted of placing a single standardized *A. matricariae* female (*i.e.*, mated, fed, and without oviposition experience) with a single three-day-old *A. fabae* nymph in a small Eppendorf tube (0.5 ml), as described in [35]. Each parasitoid female was only used once. For each host plant, 24 *A. fabae* coming from each rearing plant were dissected under a stereomicroscope immediately after ovipositor insertion by *A. matricariae* to determine the presence or absence of a parasitoid egg. The frequency of true oviposition ($\%_{OV}$) (87.50 % for aphids reared on *V. faba* and 83.33 % for those reared on *C. sativa*) was not significantly affected by the host-plant species on which aphids had been previously reared (Fisher's exact test, $P > 0.80$).

Prior to the oviposition procedure, each three-day-old *A. fabae* nymph was measured under a stereomicroscope (LEICA M165C) from the tip of the head to the base of the cauda. After being stung by a parasitoid female, each aphid nymph was then individually placed back onto its host plant in a clip-cage under the controlled conditions described above. It was followed and observed daily until death or formation of a mummy. In the latter case, it was measured as described above and transferred to a plastic tube (75 x 13 mm) closed with a cotton plug. Emerged parasitoids were sexed and females were fed *ad libitum* with a 1:1 honey/water solution for three days to ensure they had reached their fecundity peak [36]. They were then stored at -80°C for further measurements. The tibia length of females, used as a proxy for parasitoid size, was measured as described above for aphids. Females were dissected into a drop of NaCl solution (9 ‰) to collect their ovaries and the total number of eggs present in the two ovaries was recorded.

The following parasitoids' life-history parameters were computed : 1) Pre-nymphal developmental time (from oviposition to mummification) in days ; 2) Nymphal developmental time (from mummification

to adult emergence) in days ; 3) Total developmental time (from oviposition to adult emergence) in days ; 4) Mummy size (length in mm) ; 5) Tibia length (in mm) of parasitoid females ; 6) Egg load of parasitoid females ; 7) Mummification rate (no. of mummies / no. of stung aphids) x 100 ; 8) Emergence rate (no. of emerged parasitoids / no. of mummies) x 100.

Statistical analysis

Mean values are given with their standard error of the mean (SEM). Preferences of *A. matricariae* females for different combinations of tested plants in Bioassay 1, the first choice in Bioassay 2 and the rate of oviposition were compared using a Chi-square test. The Kruskal-Wallis test was performed to assess the effect of plant combination on the percentage of non-responding parasitoids in Bioassay 1. Parasitoid attack rate parameters (AE, AB, OI and latency time), developmental times (pre-nymphal, nymphal and total) and mummy and tibia lengths were compared using Student t-tests for independent samples. Aphid sizes were compared using Student t-tests, by a randomized selection of fifty *A. fabae* reared on each host plant. Mummification rate, emergence rate and sequential analysis were compared using Fisher's exact tests. All statistical analyses were carried out using the statistical program 'R' version 3.1.0 [37].

3. Results

Bioassay 1: Habitat and host plant localization

When submitted to a dual-choice involving two non-infested plants (**Fig. 2 A**), *A. matricariae* females did not exhibit any preference (χ^2 -test, $\chi^2 = 0.125$, $P = 0.72$). Infested plants were preferred over non-infested plants, whatever the plant-*A. fabae* complex (χ^2 -test, $\chi^2 = 10.800$, $P = 0.001$ for *C. sativa*-*A. fabae* and $\chi^2 = 5.452$, $P = 0.020$ for *V. faba*-*A. fabae*). In the presence of both infested plants, *A. matricariae* females exhibited a significant preference for the *C. sativa*-*A. fabae* complex (χ^2 -test, $\chi^2 = 4.737$, $P = 0.029$). The percentage of non-responding parasitoids was not significantly affected by the plant combination presented to the female parasitoid (Kruskal-Wallis test, $H = 3.40$, $df = 3$, $P = 0.33$; **Fig. 2 B**).

Latency times (seconds; mean $\pm$ SEM) were not significantly different : non-infested *C. sativa* (380 ± 77) vs. non-infested *V. faba* (544 ± 93) (Wilcoxon rank sum test, $W = 72$, $P = 0.06$) ; *A. fabae*-infested *C. sativa* (286 ± 44) vs. non-infested *V. faba* (504 ± 152) (Wilcoxon rank sum test, $W = 44$, $P = 0.15$) ; non-infested *C. sativa* (263 ± 102) vs. *A. fabae*-infested *V. faba* (397 ± 75) (Wilcoxon rank sum test, $W = 69$, $P = 0.20$) ; *A. fabae*-infested *C. sativa* (480 ± 57) vs. *A. fabae*-infested *V. faba* (661 ± 88) (Wilcoxon rank sum test, $W = 257$, $P = 0.08$).

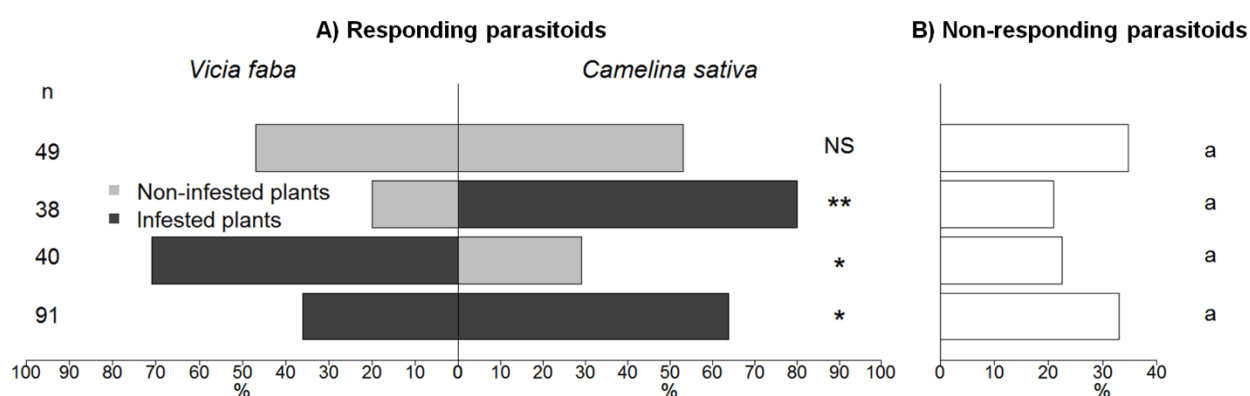


Fig. 2. Percentages of responding (A) *Aphidius matricariae* females that landed on each presented plant at the end of the 20-min dual-choice bioassay (grey bars). Different combinations of aphid-infested (dark grey bars) or non-infested (light grey bars) *Vicia faba* and *Camelina sativa* plantlets were presented to female wasps. The percentage of non-responding (B) parasitoids is presented on the right of the chart (white bars). Asterisks indicate significant differences (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$) in the choice made by responding parasitoids (Chi-square test). Same letters indicate non-significant differences (Kruskal-Wallis test, $P > 0.05$) between the percentages of non-responding parasitoids.

Bioassay 2: Host recognition and acceptance

The first choice was significantly in favour of *A. fabae* on *C. sativa* (**Table 1**). The number of Antennal Examination, Abdomen Bending and Ovipositor Insertion was significantly greater on *A. fabae* on *C. sativa* (Table 1). Latency time was not significantly different between *A. fabae* reared on *C. sativa* and aphids reared on *V. faba* (Table 1). Out of the 21 females that first chose the *A. fabae* on *C. sativa*, 10 left this patch and moved to *A. fabae* on *V. faba* (47.62 %). Conversely, out of the nine females that first chose *A. fabae* on *V. faba*, three left this patch and moved to *A. fabae* on *C. sativa* (33.33 %). No significant difference was found between these two percentages (Fisher's exact test, $P = 0.73$). When considering all the behavioural items on *C. sativa* ($n = 214$), only 4.67 % of these realised items were followed by a shift on *V. faba*. Conversely 6.60 % of the items on *V. faba* ($n = 91$) were followed by a shift on *C. sativa*. These percentages were not significantly different ($\chi^2 = 0.33$, $P = 0.57$).

Table 1. Host recognition and acceptance behaviour of *Aphidius matricariae* females (n = 30) on *Aphis fabae* reared either on *C. sativa* or *V. faba*.

Behavioural parameters	<i>C. sativa</i> - <i>A. fabae</i>	<i>V. faba</i> - <i>A. fabae</i>	Statistics	df	<i>P</i>
Latency time (s ; mean $\pm$ SEM)	92.80 $\pm$ 19.72	146.90 $\pm$ 28.45	$U = 70.5$		0.29
1st choice	21	9	$\chi^2 = 4.033$		0.045
AE (mean $\pm$ SEM)	5.33 $\pm$ 0.58	2.95 $\pm$ 0.61	$t = -2.546$	38.815	0.015
AB (mean $\pm$ SEM)	1.58 $\pm$ 0.33	0.2 $\pm$ 0.06	$t = -3.943$	26.716	< 0.001
OI (mean $\pm$ SEM)	2.00 $\pm$ 0.43	1.35 $\pm$ 0.34	$t = -2.107$	35.58	0.042
%_OV	41.4 %	69.8 %	$\chi^2 = 1.165$		0.28

(AE: number of Antennal Examination; AB: number of Abdomen Bending; OI: number of Ovipositor Insertion; %_OV: percentage of true Oviposition; U : Mann-Whitney rank-sum tests; χ^2 : Chi-square test and t : student t -tests).

The probability that Abdomen Bending (AB) was followed by Antennal Examination (AE) was four times greater on the *C. sativa*-*A. fabae* complex (Fisher's exact test, $P = 0.022$), whereas on the *V. faba*-*A. fabae* complex, it was more likely to be followed by Ovipositor Insertion (OI) (**Fig. 3**).

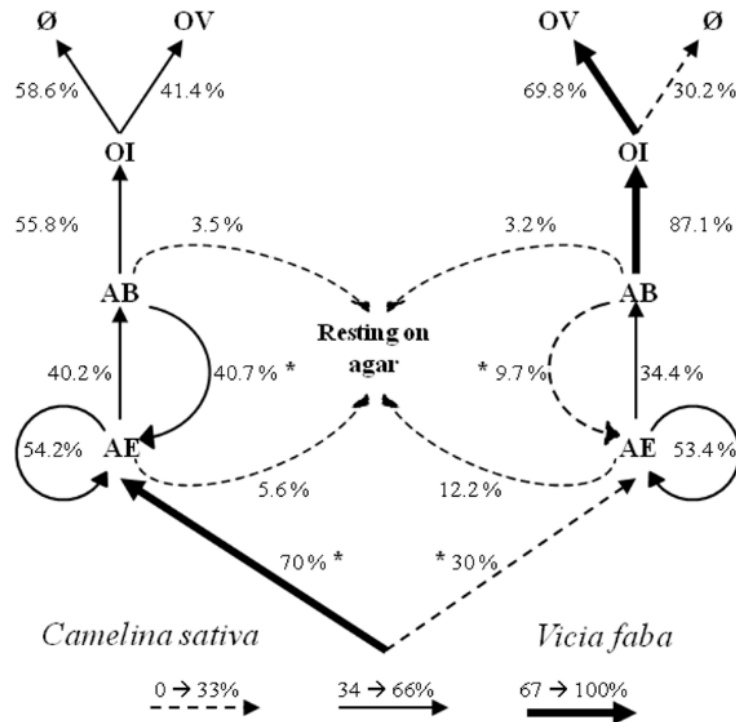


Fig. 3. Ethogram of *Aphidius matricariae* attack behaviour facing *Aphis fabae* on two different host plants, *Camelina sativa* and *Vicia faba*, presented in a dual-choice attack rate assay. The width of each line is proportional to the transitional probability of occurrence between two behavioural items. Asterisks indicate significant differences (* $P < 0.05$) when comparing the probabilities of occurrence of one item between the two plant-aphid complexes (Fisher's exact tests). (AE: Antennal Examination, AB: Abdomen Bending, OI: Ovipositor Insertion, OV: Oviposition and Ø: No egg found).

Bioassay 3: Host suitability

Three-day old *A. fabae* nymphs had a significantly smaller size when reared on *C. sativa* compared to *V. faba* (mm; mean $\pm$ SEM) (0.80 ± 0.02 and 0.94 ± 0.02 , respectively, Student t-test, $t = -5.73$; $P < 0.001$). Pre-nymphal and total developmental times of *A. matricariae* parasitoids were significantly longer (ca. one day) on *C. sativa* than on *V. faba*, whereas no difference was found for nymphal developmental time (**Table 2**). On *C. sativa*, parasitoid mummification and emergence rates were significantly lower (ca. 50 %) than on *V. faba* (Table 2). Mummy length and parasitoid size (hind tibia length) were significantly smaller on *C. sativa* than on *V. faba*. No significant difference was found between *C. sativa* and *V. faba* for *A. matricariae* females egg load.

Table 2. Effect of the plant-*Aphis fabae* complex on several life history traits of the parasitoid *Aphidius matricariae*.

Life history traits parameters	<i>Camelina sativa</i>	Statistics	df	P	<i>Vicia faba</i>
	n = 21				n = 19
Pre-nymphal development (d ; mean $\pm$ SEM)	8.59 $\pm$ 0.18	$t = 43.719$	18	<0.001	7.63 $\pm$ 0.17
Nymphal development (d ; mean $\pm$ SEM)	5.73 $\pm$ 0.15	$t = -0.232$	37.10	0.82	5.68 $\pm$ 0.11
Total development (d ; mean $\pm$ SEM)	14.32 $\pm$ 0.26	$t = -2.899$	38.95	0.006	13.32 $\pm$ 0.23
Mummy length (mm ; mean $\pm$ SEM)	1.34 $\pm$ 0.04	$t = 3.504$	38.26	0.001	1.57 $\pm$ 0.05
Hind tibia length (mm ; mean $\pm$ SEM)	0.42 $\pm$ 0.01	$t = 4.568$	33.50	<0.001	0.49 $\pm$ 0.01
Egg load (mean $\pm$ SEM)	115.32 $\pm$ 8.78	$t = 0.896$	30.10	0.38	124.16 $\pm$ 4.50
Mummification rate (%)	19.33 %	$F = 0.018$		0.018	39.60 %
Emergence rate (%)	36.67 %	$F = 0.006$		0.006	73.90 %

(t : student t -tests and F : Fisher's exact tests).

Discussion

We showed that *A. matricariae* females exhibited an initial preference for the plant-aphid complex that would not allow the best progeny performance, consequently invalidating the "Mother knows best" hypothesis. Indeed, in our study, *A. matricariae* females preferred to orientate towards the *C. sativa*-*A. fabae* complex and showed a greater interest (Antennation Examination and Abdomen Bending) for aphids on camelina whereas aphids were more readily accepted and suitable for parasitoid development when reared on *V. faba*. Such paradoxical choice, opposing optimal foraging and optimal oviposition, can easily be explained in phytophagous insects where females may choose to feed and oviposit on hosts that enhance their own adult performance (realised fecundity) but not their offspring performance (survival and development time) [38]. This was empirically validated in phytophagous grass miner females [39]. It has also been reported in the generalist parasitoid *Aphidius ervi* whose females were preferentially attracted by third and fourth instars hosts while their offspring performance was maximized on second instars hosts [5]. However, these studies testing the optimal oviposition theory have explored a direct measurement of parasitoid preference that involved only two trophic levels (*i.e.* herbivore and parasitoid) and therefore excluded the first trophic level (*i.e.* the plant). Few studies have included the first trophic level in their evaluation of the impact of the host plant quality on the preference and performance of parasitoid wasps. Indeed, [40] and [41] reported that the specialist parasitoid *Cotesia glomerata* preferred to alight on *Brassica nigra*-*Pieris brassicae* complexes that were not co-infested with cabbage root flies, and that this behaviour was correlated with offspring performance [42]. In addition, plant preferences by specialist parasitoids *Diadegma semiclausum* and *C. glomerata* for their respective lepidopteran hosts, *Plutella xylostella* and *P. brassicae*, were positively correlated with plant

quality for offspring performance, which led the authors to state that “Mother knows best” [43]. Indeed, they showed that parasitoid wasps could innately predict host quality on the basis of plant odours. Conversely to these studies on tri-trophic systems, our work is not in accordance with the “Mother knows best” hypothesis. Explanations for the mismatch between mother preference and host suitability can include threat of hyperparasitoids, host defence, and learning of plant-host complex cues [5]. In our study we used naïve parasitoid females, with no oviposition nor olfactory experience. Parasitoids are known to exhibit associative learning of volatile compounds emitted by the plant during oviposition, subsequently allowing them to select more accurately a suitable host-plant complex according to plant odour [44]. The benefits of learning ability are correlated with the variability of host resources (polyphagous) and the lifetime of the female [45]. Within the framework of our study model and given the results of the final phases of host selection, it is expected that the disruption observed in the host selection process would decrease with the age/experience of female parasitoid.

Parasitoid reproductive success is closely correlated with the female’s ability to find hosts [8]; therefore, parasitoids have evolved efficient foraging strategies to locate hosts in complex environments. Many aphid parasitoids respond weakly to plant or aphid odours alone [46, 47], but use synomones to locate aphid-infested plants [48,49]. Although *A. matricariae* did not discriminate between its two host plants, the preference for one of the two plant-host complexes could be explained by differences in volatile compound blends emitted. This generally allows parasitoids to discriminate between species of plants [47, 50] and/or species of herbivores [10,32]. A meta-analysis [51] showed a strong correlation between preference and performance in oligophagous species of herbivores, but not in polyphagous species. Our results and the literature previously cited suggest that this correlation could be transferred to the third trophic level (*i.e.* between generalist and specialist parasitoids). The ability of parasitoids to exploit plant-derived volatiles is higher when host ranges are narrow (*i.e.* specialist parasitoids) [14].

A number of the compounds released are common to most plants and are referred as green leaf volatiles (GLV). However, the composition of the entire blend and the concentrations of specific compounds differ based on plant and herbivore species. Those chemicals that promote the effectiveness of natural enemies involve volatile compounds produced in response to herbivore feeding damage, so-called herbivore induced-plant volatiles (HIPV), and are known to be attractive to parasitoids and predators of arthropod herbivores [10].

In our study, *A. matricariae* females seemed to be sensitive to HIPV because they showed a preference for the plant-aphid complex in comparison to a non-infested plant. Similar responses by *A. matricariae* to plant-aphid complex were demonstrated [52] and for *A. ervi* [32]. The quantity of emitted and perceived plant volatiles is important for parasitoid females when searching for herbivorous hosts [53]. Therefore, the preference for the *C. sativa*-*A. fabae* complex could possibly be explained by supposing that it had a different GLV emission profile than the *V. faba*-*A. fabae* one. Indeed, GLVs were found to

have positive effects on host location by parasitoids [49, 54] and to be important for mediating parasitoid attraction to herbivore-damaged Brassicaceae [55].

Once host location is achieved, upon host encounter by the parasitoid female, effective detection of the host occurs during ‘antennal palpation’ [34] and is based on physical and chemical cues acting at short range or by contact [48]. Some behavioural items linked to host recognition (AE and AB) were enhanced on *A. fabae* on *C. sativa*, but the numbers of OI, allowing the wasp to assess host quality before oviposition, were identical on aphids reared on both plants. Nevertheless, the ethogram of *A. matricariae* attack behaviour on the two plant-aphid patches emphasizes that the host recognition step was more effective on *A. fabae* on *V. faba*, with increased transitions between AB and OI, and consequently fewer return from AB to AE, compared to *A. fabae* on *C. sativa*. These results suggest an alteration in the host selection process on the *C. sativa*-*A. fabae* complex, which is confirmed by the lower oviposition rate measured on this complex. Host acceptance for *A. matricariae* females seems to be a function of stimuli firstly perceived during AE, resulting in some rejection before OI, and finally during OI, when host quality is assessed before oviposition. The two plants were suitable, with oviposition occurring on both species, but host acceptance of *A. matricariae* was enhanced on *V. faba* compared to *C. sativa*, which suggests that plants play an important role in the host selection behaviour. Changes in host acceptance that depend on the host plant have already been recorded in other aphid parasitoids. For example in laboratory experiment, *L. testaceipes* oviposited into more aphids on mungbean than on cotton [56].

In order to see if such a final decision to preferentially oviposit in *A. fabae* on *V. faba* was linked to a better performance of the progeny on this complex, a controlled oviposition bioassay was performed. Our results indicate that parasitoid fitness was higher when they had developed on *V. faba* compared to *C. sativa*. This is in accordance with studies in other systems where the size of the emerging solitary parasitoid, used as a fitness proxy, is correlated to “host quality” (size, age, stage and diet) (for review, see [8, 57]). Indeed, in our study, aphid hosts developing on *V. faba* were bigger than those developing on *C. sativa* and therefore offered better quality for parasitoid development. This size difference observed between aphids feeding on *C. sativa* and *V. faba* could be due to different amino acid composition [58]. Indeed, the growth and fecundity of phytophagous insects are generally limited by nitrogen, in terms of quantity and quality (*i.e.* composition). The latter occurs because aphids lack the ability to synthesize nine 'essential' amino acids; and if the concentration of one of those is in short supply, protein synthesis and animal growth are constrained [59]. Various studies with other koinobiont parasitoids have reported that parasitoid size (which is often correlated with parasitoid fecundity) is an increasing function of host size or stage at oviposition [15], with bigger hosts usually representing a greater resource [60]. However, this link was not found in our study, in which no significant difference of parasitoid egg load was observed.

The lower performance of *A. matricariae* on the *C. sativa*-*A. fabae* complex could also be partly explained by the presence of camelina-specific secondary compounds that may be harmful to the

developing parasitoid larvae. Few studies have investigated the effects of secondary plant chemistry mediated through the host on parasitoid performance [15,16]. Camelina tissues exhibit different glucosinolates [61], *Brassicaceae* secondary metabolites that may negatively affect the fitness of parasitoids [16,55]. Moreover, the presence of Camalexin was identified in camelina [62], a secondary compound reducing the performance of *Myzus persicae*, a generalist aphid species [63]. Performance of the host and that of its parasitoid are often positively correlated [64] but the adverse effects of food plant characteristics on insect performance are usually less pronounced in the parasitoid than in its herbivore host. Here, camelina plants seemed to have more drastic effects on *A. matricariae* than on *A. fabae*: the overall fitness of parasitoids was reduced whereas intrinsic rate of natural increase (r_m) was equivalent [24] and only sizes were affected in aphid hosts. Ultimately, the sharp decline in parasitoids fitness could also be due to the host plant range of *A. fabae* hosts. Indeed, parasitoids attacking generalist hosts have been shown to be more strongly affected by the herbivore's diet than parasitoids that attack specialist hosts [64].

Conclusion

These findings may have important implications for agricultural production in sustainable systems. The presence of camelina induced a disruption of the initial foraging decisions of *A. matricariae* females towards the *V. faba*-*A. fabae* complex, potentially impairing the top-down regulation of the black bean aphid in such an intercropping association. From the aphid perspective, camelina seemed to be an 'enemy free-space', as described by [65] stating that plants can provide an ecological refuge for herbivores by allowing them to chemically or physically escape their natural enemies. Based on the first phases of host selection by parasitoids, the *C. sativa*-*A. fabae* complex may ultimately be considered as an ecological trap for *A. matricariae* (i.e. a low-quality habitat that organisms prefer over superior habitats) [66]. This concept has been set for animals that make errors in habitat assessment as a result of some mismatch between the environmental cues they use to select habitats and actual habitat quality (for review, see [67]).

By demonstrating that *A. matricariae* females are able to discriminate the aphid host that offers the highest fitness to their offspring but select beforehand the least suitable plant-aphid complex, this study provides key insight into the disruption in their host selection behaviour potentially triggered by diverse habitats.

Acknowledgement

Florent Bogaert is thanked for technical assistance. Charles Vincent and Joffrey Moiroux are thanked for their critical comments on the manuscript and Andrew Roots for revision of the English text.

References

1. Jaenike J. On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theor Popul Biol.* 1978;**14**: 350–356.
2. Thompson JN. Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomol Exp Appl.* 1988;**47**: 3–14. doi:10.1111/j.1570-4607.1988.tb02275.x
3. Renwick JAA, Chew FS. Oviposition behaviour in Lepidoptera. *Annu Rev Entomol.* 1994;**39**: 377–400.
4. Mayhew PJ. Adaptive Patterns of Host-Plant Selection by Phytophagous Insects. *Oikos.* 1997;**79**: 417–428. doi:10.2307/3546884
5. Henry LM, Gillespie DR, Roitberg BD. Does mother really know best ? Oviposition preference reduces reproductive performance in the generalist parasitoid *Aphidius ervi*. *Entomol Exp Appl.* 2005;**116**: 167–174. doi: 10.1111/j.1570-7458.2005.00318.x
6. Vinson SB. Host selection by insect parasitoids. *Annu Rev Entomol.* 1976;**21**: 109–133. doi:10.1146/annurev.en.21.010176.000545
7. Vet LEM, Dicke M. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annu Rev Entomol.* 1992;**37**: 141–172. doi:10.1146/annurev.en.37.010192.001041
8. Godfray HCJ. Parasitoids, Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeton, New Jersey.: Princeton University Press; 1994.
9. Rehman A, Powell W. Host selection behaviour of aphid parasitoids (Aphidiidae : Hymenoptera). *J Plant Breed Crop Sci.* 2010;**2**: 299–311. ISSN 2006-9758
10. Dicke M. Are herbivore-induced plant volatiles reliable indicators of herbivore identity to foraging carnivorous arthropods? *Entomol Exp Appl.* 1999;**91**: 131–142. doi:10.1023/A:1003608019062
11. Wajnberg E, Colazza S. Chemical Ecology of Insect Parasitoid. Wiley-Blackwell. Chichester, UK; 2013.
12. Reznick D. Costs of Reproduction : An Evaluation of the Empirical Evidence. *Oikos.* 1985;**44**: 257–267.
13. Vet LEM, Datema A, Janssen A, Snellen H. Clutch size in a larval pupal endoparasitoid: consequences for fitness. *J Anim Ecol.* 1994;**63**: 807–815.
14. Clavijo McCormick A, Unsicker SB, Gershenzon J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends Plant Sci.* Elsevier Ltd; 2012;**17**: 303–10. doi:10.1016/j.tplants.2012.03.012

15. Harvey JA. Factors affecting the evolution of development strategies in parasitoid wasps: The importance of functional constraints and incorporating complexity. *Entomol Exp Appl.* 2005;**117**: 1–13. doi:10.1111/j.1570-7458.2005.00348.x
16. Ode PJ. Plant chemistry and natural enemy fitness: effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annu Rev Entomol. Annual Reviews*; 2006;**51**: 163–185. doi:10.1146/annurev.ento.51.110104.151110
17. Heil M. Indirect defence via tritrophic interactions. *New Phytol.* 2008;**178**: 41–61. doi:10.1007/978-3-486 540-72954-9_15
18. Dicke M, van Loon JJA, Soler R. Chemical complexity of volatiles from plants induced by multiple attack. *Nat Chem Biol. Nature Publishing Group*; 2009;**5**: 317–24. doi:10.1038/nchembio.169
19. Ofori F, Stern WR. Cereal-legume intercropping systems. *Adv Agron.* 1987;**41**: 41–90.
20. Fröhlich A, Rice B. Evaluation of *Camelina sativa* oil as a feedstock for biodiesel production. *Ind Crops Prod.* 2005;**21**: 25–31. doi:10.1016/j.indcrop.2003.12.004
21. Abramovič H, Butinar B, Nikolič V. Changes occurring in phenolic content, tocopherol composition and oxidative stability of *Camelina sativa* oil during storage. *Food Chem.* 2007;**104**: 903–909. doi:10.1016/j.foodchem.2006.12.044
22. Soroka J, Olivier C, Grenkow L, Séguin-Swartz G. Interactions between *Camelina sativa* (*Brassicaceae*) and insect pests of canola. *Can Entomol.* 2014;**22**: 1–22. doi:10.4039/tce.2014.42
23. Séguin-Swartz G, Eynck C, Gugel RK, Strelkov SE, Olivier CY, Li JL, et al. Diseases of *Camelina sativa* (false flax). *Can J plant Pathol.* Taylor & Francis; 2009;**31**: 375–386.
24. Chesnais Q, Verzeaux J, Couty A, Le Roux V, Ameline A. Is the Oil Seed Crop *Camelina sativa* a Potential Host for Aphid Pests? *BioEnergy Res.* 2015;**8**: 91–99. doi:10.1007/s12155-014-9497-6
25. Stoddard FL, Nicholas AH, Rubiales D, Thomas J, Villegas-Fernández AM. Integrated pest management in faba bean. *F Crop Res.* 2010;**115**: 308–318. doi:10.1016/j.fcr.2009.07.002
26. Saucke H, Ackermann K. Weed suppression in mixed cropped grain peas and false flax (*Camelina sativa*). *Weed Res.* 2006;**46**: 453–461. doi:10.1111/j.1365-3180.2006.00530.x
27. Holman J. Host Plant Catalog of Aphids. Springer. Dordrecht: Springer Netherlands; 2009. doi:10.1007/978-1-4020-8286-3
28. Shannag HK, Ababneh JA. Influence of Black Bean Aphid, *Aphis fabae* Scopoli. on Growth Rates of Faba Bean. *World J Agric Sci.* 2007;**3**: 344–349.
29. Neeraj V, Danish M, Doomar S, Naqvi QA. Studies on bean yellow mosaic virus infecting broad bean (*Vicia faba* L.) in Aligarh, India. *Ann Plant Prot Sci.* 1999;**7**: 51–54.
30. Yu DS, van Achterberg K, Horstmann K. World Ichneumonoidea 2004. Taxonomy, Biology, Morphology and Distribution. In: Taxapad, Vancouver, Canada. [Internet]. 2005. Available: <http://www.taxapad.com>
31. Boquel S, Delayen C, Couty A, Giordanengo P, Ameline A. Modulation of Aphid Vector Activity by Potato virus Y on In Vitro Potato Plants. *Plant Dis.* 2012;**96**: 82–86. doi:10.1094/PDIS-06-11-0499
32. Powell W, Pennacchio F, Poppy GM, Tremblay E. Strategies Involved in the Location of Hosts by the Parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera : Braconidae : Aphidiinae). *Biol Control.* 1998;**11**: 104–112.

33. Pope TW, Girling RD, Staley JT, Trigodet B, Wright DJ, Leather SR, *et al.* Effects of organic and conventional fertilizer treatments on host selection by the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae*. *J Appl Entomol.* 2012;**136**: 445–456. doi:10.1111/j.1439-0418.2011.01667.x
34. Desneux N, Wajnberg E, Fauvergue X, Privet S, Kaiser L. Oviposition behaviour and patch-time allocation in two aphid parasitoids exposed to deltamethrin residues. *Entomol Exp Appl.* 2004;**112**: 227–235. doi:10.1111/j.0013-8703.2004.00198.x
35. Doury G, Pottier J, Ameline A., Mennerat A., Dubois F, Rambaud C, *et al.* Bioenergy Crops and Natural Enemies: Host Plant-Mediated Effects of Miscanthus on the Aphid Parasitoid *Lysiphlebus testaceipes*. *BioEnergy Res.* 2015; doi:10.1007/s12155-015-9589-y
36. Hagvar EB, Hofsvang T. Aphids parasitoids (Hymenoptera, *Aphidiidae*): biology, host selection and use in biological control. *Biocontrol News and Information.* 1991;**12**: 13–41.
37. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. 2014, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
38. Scheirs J, Bruyn L De. Integrating optimal foraging and optimal oviposition theory in plant–insect research. *Oikos.* 2002;**96**: 187–191. doi:10.1034/j.1600-0706.2002.960121.x
39. Scheirs J, De Bruyn L, Verhagen R. Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proc R Soc London Ser B Biol Sci.* 2000;**267**: 2065–2069. doi:10.1098/rspb.2000.1250
40. Soler R, Harvey JA, Bezemer TM. Foraging efficiency of a parasitoid of a leaf herbivore is influenced by root herbivory on neighbouring plants. *Funct Ecol.* 2007;**21**: 969–974. doi:10.1111/j.1365-2435.2007.01309.x
41. Soler R, Harvey JA, Kamp AFD, Vet LEM, Van der Putten WH, van Dam NM, *et al.* Root herbivores influence the behaviour of an aboveground parasitoid through changes in plant-volatile signals. *Oikos.* 2007;**116**: 367–376. doi:10.1111/j.0030-1299.2007.15501.x
42. Soler R, Bezemer TM, Van Der Putten WH, Vet LEM, Harvey JA. Root herbivore effects on above-ground herbivore, parasitoid and hyperparasitoid performance via changes in plant quality. *J Anim Ecol.* 2005;**74**: 1121–1130. doi:10.1111/j.1365-2656.2005.01006.x
43. Gols R, van Dam NM, Raaijmakers CE, Dicke M, Harvey JA. Are population differences in plant quality reflected in the preference and performance of two endoparasitoid wasps? *Oikos.* 2009;**118**: 733–742. doi:10.1111/j.1600-0706.2008.17231.x
44. Guerrieri E, Pennacchio F, Tremblay E. Effect of adult experience on in-flight orientation to plant and plant-host complex volatiles in *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera, Braconidae). *Biol Control.* 1997;**10**: 159–165. doi:10.1006/bcon.1997.0556
45. Vet LEM, Lewis WJ, Carde RT. Parasitoid foraging and learning. In: Bell WJ, Carde RT, editors. Chemical ecology of insects, 2nd ed. Chapman and Hall; 1995. pp. 65–101.
46. Guerrieri E, Pennacchio F, Tremblay E. Flight behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: *Braconidae*) in response to plant and host volatiles. *European Journal of Entomology.* 1993. pp. 415–421.
47. Reed HC, Tan SH, Haapanen K, Killmon M, Reed DK, Elliott NC. Olfactory responses of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: *Aphidiidae*) to odor of plants, aphids, and plant-aphid complexes. *J Chem Ecol.* 1995;**21**: 407–418. doi:10.1007/BF02036738

48. Battaglia D, Poppy G, Powell W, Romano A, Tranfaglia A, Pennacchio F. Physical and chemical cues influencing the oviposition behaviour of *Aphidius ervi*. *Entomol Exp Appl*. 2000;**94**: 219–227. doi:10.1023/A:1003968700811
49. Du YJ, Poppy GM, Powell W, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM. Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. *J Chem Ecol*. 1998;**24**: 1355–1368. doi:10.1023/A:1021278816970
50. Wickremasinghe MG V, Van Emden HF. Reactions of adult female parasitoids, particularly *Aphidius rhopalosiph*, to volatile chemical cues from the host plants of their aphid prey. *Physiol Entomol*. 1992;**17**: 297–304. doi:10.1111/j.1365-3032.1992.tb01025.x
51. Gripenberg S, Mayhew PJ, Parnell M, Roslin T. A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecol Lett*. 2010;**13**: 383–393. doi:10.1111/j.1461-0248.2009.01433.x
52. De Farias AMI, Hopper KR. Responses of female *Aphelinus asychis* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Aphidius matricariae* (Hymenoptera: Aphidiidae) to host and plant-host odors. *Environ Entomol*. 1997;**26**: 989–994. doi:10.1093/ee/26.4.989
53. Dicke M, van Poecke RMP, de Boer JG. Inducible indirect defence of plants: from mechanisms to ecological functions. *Basic Appl Ecol*. 2003;**4**: 27–42. doi:10.1078/1439-1791-00131
54. Pareja M, Moraes MCB, Clark SJ, Birkett M a., Powell W. Response of the aphid parasitoid *Aphidius funebris* to volatiles from undamaged and aphid-infested *Centaurea nigra*. *J Chem Ecol*. 2007;**33**: 695–710. doi:10.1007/s10886-007-9260-y
55. Gols R, Harvey JA. Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. *Phytochem Rev*. 2009;**8**: 187–206. doi:10.1007/s11101-008-9104-6
56. Hopkinson JE, Zalucki MP, Murray D a H. Host selection and parasitism behavior of *Lysiphlebus testaceipes*: Role of plant, aphid species and instar. *Biol Control*. 2013;**64**: 283–290. doi:10.1016/j.biocontrol.2012.11.016
57. Vinson SB, Iwantsch GF. Host Suitability for Insect Parasitoids. *Annu Rev Entomol. Annual Reviews*;1980; 397–419. doi:10.1146/annurev.en.25.010180.002145
58. Leckstein PM, Llewellyn M. Effect of dietary amino acids on the size and alary polymorphism of *Aphis fabae*. *J Insect Physiol*. 1973;**19**: 973–980. doi:10.1016/0022-1910(73)90023-1
59. Douglas AE. Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. *J Exp Bot*. 2006;**57**: 747–754. doi:10.1093/jxb/erj067
60. Schmid-Hempel P. Evolutionary parasitology: the integrated study of infections, immunology, ecology, and genetics. New York: Oxford University Press; 2011.
61. Berhow MA, Polat U, Glinski JA, Glensk M, Vaughn SF, Isbell T, et al. Optimized analysis and quantification of glucosinolates from *Camelina sativa* seeds by reverse-phase liquid chromatography. *Ind Crop Prod. Elsevier B.V.*; 2013;**43**: 119–125. doi:10.1016/j.indcrop.2012.07.018
62. Browne LM, Conn KL, Ayert WA, Tewariy JP. The camalexins: New phytoalexins produced in the leaves of *Camelina sativa* (Cruciferae). *Tetrahedron*. 1991;**41**: 3909–3914. doi:10.1016/S0040-5974(01)86431-0
63. Kettles GJ, Drurey C, Schoonbeek H, Maule AJ, Hogenhout SA. Resistance of *Arabidopsis thaliana* to the green peach aphid, *Myzus persicae*, involves camalexin and is regulated by microRNAs. *New Phytol*. 2013;**198**: 1178–90. doi:10.1111/nph.12218

- 64.** Sznajder B, Harvey JA. Second and third trophic level effects of differences in plant species reflect dietary specialisation of herbivores and their endoparasitoids. *Entomol Exp Appl.* 2003;**109**: 73–82. doi:10.1046/j.1570-7458.2003.00096.x
- 65.** Jeffries MJ, Lawton JH. Enemy free space and the structure of ecological communities. *Biol J Linn Soc.* 1984;**23**: 269–286. doi:10.1111/j.1095-8312.1984.tb00145.x
- 66.** Dwernychuk LW, Boag DA. Ducks nesting in association with gulls—an ecological trap? *Can J Zool.* NRC Research Press Ottawa, Canada; 1972;**50**: 559–563. doi:10.1139/z72-076
- 67.** Schlaepfer MA, Runge MC, Sherman PW. Ecological and evolutionary traps. *Trends Ecol Evol.* 2002;**17**: 22–27. doi:10.1016/S0169-5347(02)02580-6

Étude 2 : Effet de l'intrant azoté sur les interactions tri-trophiques

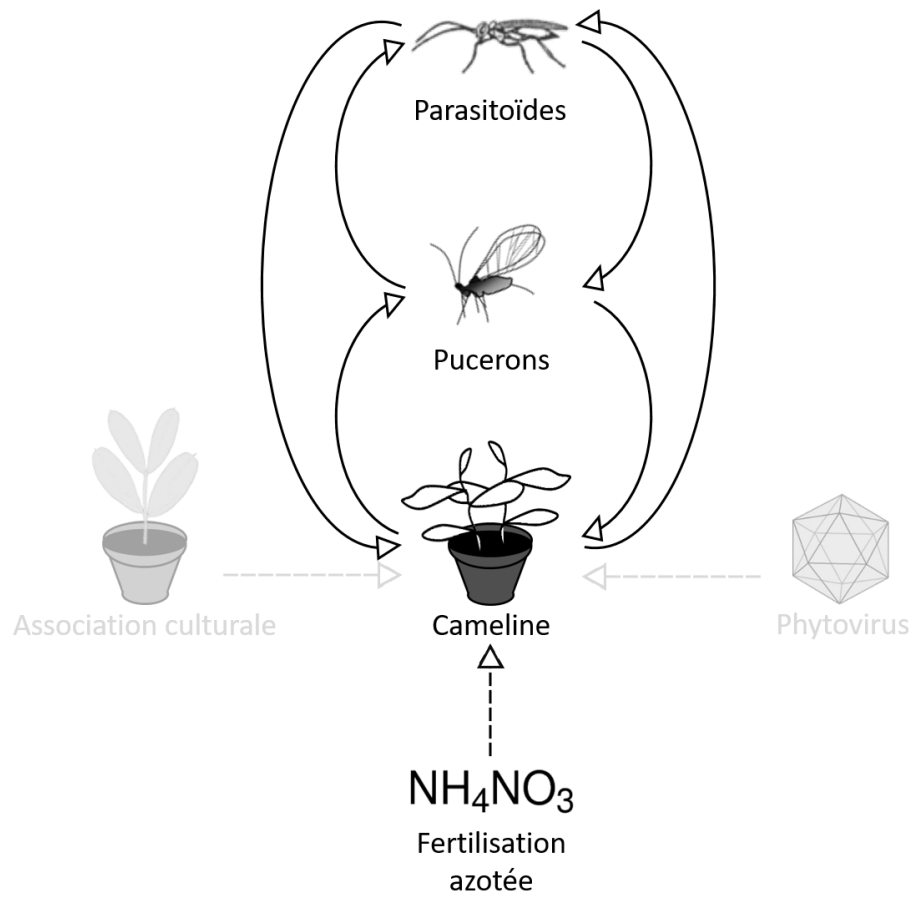


Fig. 17. Influence de la fertilisation azotée sur les interactions tri-trophiques cameline-puceron-parasitoïde.

Présentation de l'étude et principaux résultats :

La cameline présente de faibles besoins en fertilisation en azote (N), cependant des études de terrain ont montré que des doses modérées ont des effets significatifs sur les rendements en biomasse et la composition des huiles (Solis *et al.* 2013). Cependant, ces intrants peuvent avoir des conséquences écologiques importantes sur l'ensemble des niveaux trophiques (Mattson 1980; White 1993). Dans les agro-écosystèmes, le succès des ennemis naturels peut dépendre non seulement de leurs hôtes herbivores mais aussi des plantes hôtes dont la qualité peut être modulée par la fertilisation azotée (Kagata & Ohgushi 2006).

Nous avons donc modulé les concentrations en azote foliaires de plantes de *Camelina sativa* en leur fournissant trois niveaux différents de fertilisation azotée (une dose contrôle « 0 » c'est-à-dire aucune fertilisation, une dose « optimale » de 80 kg/ha en se référant à la bibliographie et une dose « en excès » de 240 kg/ha équivalente à trois fois la dose « optimale »). Nous avons étudié comment l'altération de la qualité nutritionnelle de la plante-hôte influençait les performances de deux espèces de pucerons, le puceron généraliste vert du pêcher, *Myzus persicae* et le puceron cendré du chou, *Brevicoryne brassicae*, ainsi que leur parasitoïde commun *Diaeretiella rapae* (**Fig. 17.**).

Les apports azotés (80 kg/ha et 240 kg/ha) ont tous deux conduit à une augmentation des concentrations en azote dans les plantes, mais les concentrations azotées ont été plus contrastées pour les pucerons en fonction de l'espèce considérée. Par rapport au contrôle, la biomasse de la plante a augmenté pour un traitement optimal en azote mais diminué avec le traitement en excès. Les performances de *M. persicae* ont été améliorées pour le traitement optimal en comparaison de celles mesurées sur les plantes témoin et traitées en excès alors que les performances de *B. brassicae* ont été négativement impactées suite au traitement excessif. En tests de non-choix, les taux d'émergences de *D. rapae* se développant dans *M. persicae* ont été supérieurs pour les deux traitements azotés (optimal et excessif), alors qu'ils sont restés stables quel que soit le traitement pour les parasitoïdes se développant dans *B. brassicae*. Les tailles des parasitoïdes femelles émergentes ont été positivement affectées par le traitement azoté seulement quand elles se sont développées dans *M. persicae* élevés sur plantes ayant subi un traitement azoté excessif.

Ce travail a montré que, contrairement à un apport en azote optimal, quand l'azote est délivré en dose excessive, la qualité de la plante pour les pucerons est diminuée et par conséquent affecte négativement leurs paramètres démographiques. Étonnamment, ces effets négatifs peuvent avoir des répercussions neutres à positives sur les paramètres des parasitoïdes, ce qui suggère un effet tampon à l'échelle du troisième niveau trophique.

De plus, notre travail a montré qu'en accord avec l'hypothèse d'« interactions tri-trophiques » (TTI) de Mooney, Pratt & Singer (2012), les variations de qualité de la plante se répercutent différemment sur les niveaux trophiques supérieurs en lien avec le degrés de spécialisation alimentaire des herbivores. Ces

variations ayant un impact plus important sur les herbivores généralistes que spécialistes, et donc, par conséquent, plus d'effets sur le troisième niveau trophique lorsqu'il se développe sur un herbivore généraliste.

Article n°3:

Cascading effects of N input on Tri-Trophic (Plant - Aphid - Parasitoid) Interactions

(Article publié dans *Ecology and Evolution*, doi : 10.1002/ece3.2404)

Quentin Chesnais, Aude Couty, Manuella Catterou & Arnaud Ameline

FRE CNRS 3498 EDYSAN (Écologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), Université de Picardie Jules Verne, 33 rue St Leu, F-80039 Amiens Cedex, France.

Summary

Because N is frequently the most limiting mineral macronutrient for plants in terrestrial ecosystems, modulating N input may have ecological consequences through trophic levels. Thus, in agro-ecosystems, the success of natural enemies may depend not only from their herbivorous hosts but also from the host-plant whose qualities may be modulated by N input.

We manipulated foliar N concentrations by providing to *Camelina sativa* plants three different nitrogen rates (control, optimal and excessive). We examined how the altered host-plant nutritional quality influenced the performances of two aphid species, the generalist green peach aphid, *Myzus persicae* and the specialist cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*, and their common parasitoid *Diaeretiella rapae*.

Both N inputs led to increased N concentrations in the plants but induced contrasted concentrations within aphid bodies depending on the species. Compared to the control, plant biomass increased when receiving the optimal N treatment but decreased under the excessive treatment. Performances of *M. persicae* improved under the optimal treatment compared to the control and excessive treatments whereas *B. brassicae* parameters declined following the excessive N treatment. In no-choice trials, emergence rates of *D. rapae* developing in *M. persicae* were higher on both optimum and excessive N treatments, whereas they remained stable whatever the treatment when developing in *B. brassicae*. Size of emerging *D. rapae* females was positively affected by the treatment only when it developed in *M. persicae* on the excessive N treatment.

This work showed that contrary to an optimal N treatment, when N was delivered in excess, plant suitability was reduced and consequently affected negatively aphid parameters. Surprisingly, these negative effects resulted in no or positive consequences on parasitoid parameters, suggesting a buffered effect at the third trophic level. Host N content, host suitability and dietary specialization appear to be major factors explaining the functioning of our studied system.

Key words Brassicaceae, *Brevicoryne brassicae*, *Camelina sativa*, *Diaeretiella rapae*, *Myzus persicae*, Nitrogen fertilization, Performances, Tri-Trophic Interactions hypothesis.

Introduction

Trophic cascades, defined as mutual consumer-resource interactions that alter performances of trophic levels across more than one link in a food web (Knight *et al.* 2005), represent not only indirect effects of a higher trophic level on nonadjacent lower trophic levels, *i.e.* top-down cascade, but also effects of lower trophic levels that can transmit upward to nonadjacent higher trophic levels, *i.e.* bottom-up cascade (Hunter and Price 1992, Johnson 2008).

Ecological stoichiometry studies these interactions in ecosystems by investigating how the balance of energy and elements affects and is affected by organisms (Sterner and Elser 2002, Moe *et al.* 2005). Indeed, there are differences in the nitrogen (N) content among trophic levels indicating that consumer development would be limited by the amount of N in the resources (White 1993). The amount of N is an important factor limiting survival and growth of several herbivores and predators (Mattson 1980, Denno and Fagan 2003). Therefore, N in host plants and its accumulation by herbivorous insects may influence the performance of natural enemies (Kagata and Ohgushi 2006). One hypothesis for explaining trophic cascades is that a higher N level in host plants leads to an increase in the N content of herbivorous insects, which in turn leads to an increase in predator performance (Mayntz and Toft 2001).

In terrestrial agro-ecosystems, nitrogen (N) is an important macronutrient for plants that may vary and be patchy due to soil properties (Keddy 2007). N availability strongly defines patterns of plant growth and allocation. Generally, in response to enhanced N, plant foliar N concentration, photosynthetic rate, growth rate and aerial biomass production increase (Leith *et al.* 1999, Magill *et al.* 2000, Hermans *et al.* 2006). However, excessive N input may induce symptoms indicating toxicity such as chlorosis of leaves, reduced growth or yield depressions which are due to excessive ammonium (NH₄⁺) in plants (Britto and Kronzucker 2002). Because N is frequently the most limiting mineral macronutrient for plants in temperate terrestrial ecosystems (Vitousek and Howarth 1991), modulating N input may have ecological consequences through the different trophic levels.

Generally, improved plant nutritional quality due to enhanced leaf N content (*i.e.* decreased C:N ratio) has been reported to induce better herbivore development (Awmack and Leather 2002, Stiling and Moon 2005, Huberty and Denno 2006, Zehnder and Hunter 2008) and higher herbivore population growth rate (Gratton and Denno 2003). However, using an aphid model and by experimentally manipulating foliar N content, Zehnder and Hunter (2009) have shown that strong N foliar content due to excessive N input may limit herbivore population growth rates.

Within agro-ecosystems, nitrogen can exert a variety of bottom-up effects through the different trophic levels, from the plant to the natural enemies (predators/parasitoids). Development and life history traits of parasitoids directly depend upon their host quality and, indirectly, upon the quality of the host-plant (Turlings and Benrey 1998, Schädler *et al.* 2010). Plant nitrogen inputs were reported to directly improve host nutritional quality for parasitoid development through an increase of N concentrations in host bodies (Winter and Rostás 2010). Several studies have shown that N plant inputs generally enhances parasitism success (Ponti *et al.* 2007, Aqueel *et al.* 2015), but to our knowledge, the impact of excessive N input on the third level has not been investigated yet. Nevertheless, N is known to cascade up to higher trophic levels and subsequently alter the abundance and/or performance of natural enemies, thus altering top-down influences.

This work explores how different levels of N input (no input, optimum input, excessive input) impact host-plant quality (biomass and C:N ratio) and subsequently may alter tritrophic interactions. As aphids have proven to be useful and interesting models for studying important questions in ecology and evolution (Huang and Qiao 2014), two aphid species (*Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae*) differing in their dietary specialization and being both used as hosts by the aphid parasitoid wasp *Diaeretiella rapae* Mc’Intosh (Hymenoptera: *Braconidae*) were studied on the host plant *Camelina sativa* (Brassicales: *Brassicaceae*). Increasing attention has been paid to camelina, both because of its phyletic proximity to *Arabidopsis thaliana* (Beilstein *et al.* 2008) and its agronomic characteristics (Bansal and Durrett 2016). In terms of yield, camelina responded positively to nitrogen input up to 80-120 kgN/ha and negatively to higher N input (Solis *et al.* 2013). Camelina is generally reported to be tolerant and resistant to various pathogens and insects (Séguin-Swartz *et al.* 2009), although it has recently been shown to be a potential host for some aphid pests (Chesnais *et al.* 2015). Among those aphids, *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae) and *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) are commonly studied on *Brassicaceae* crops because of their different dietary specialization. *B. brassicae* is a *Brassicaceae* specialist (Costello and Altieri 1995), responsible for severe damage on cabbage (Blackman and Eastop 2000). *M. persicae* is a generalist aphid (Costello and Altieri 1995) and a serious pest on a wide range of crops (Cole 1997b).

In our study, different N fertilization rates (optimum vs. excessive) were used to modulate *C. sativa* nitrogen availability to determine whether altered leaf N content would cascade up through trophic levels and then would influence the interaction between the two aphid species and their common aphid parasitoid, *Diaeretiella rapae*. We expected that insect performances would depend on their host (either the host plant for the aphid or the host aphid for the parasitoid) N concentration. The “Tri-Trophic Interactions” (TTI) hypothesis predicts that generalist herbivores should be more sensitive to variations in host-plant quality than specialist herbivores, and thus that the subsequent effects on natural enemies should be more important when the generalist host/prey feeds on low quality plants (Mooney *et al.*

2012). We therefore expected that the variation in host-plant quality would affect more the parasitoid *D. rapae* developing on *M. persicae* than when it developed on *B. brassicae*.

Materials and Methods

Insects

The *Myzus persicae* (Sulzer) colony was established from one parthenogenetic female collected in 1999 in a potato field near Loos-en-Gohelle (France) (**Fig.1**). The *Brevicoryne brassicae* (L.) colony, established from one parthenogenetic female, was provided in 2008 by INRA-Le Rheu (Rennes, France). Aphids of both colonies were reared on rapeseed (*Brassica napus* cv. “Adriana”). Pots (90 × 90 × 70 mm) containing each three to four rapeseed plants were placed in ventilated plastic cages (240 × 110 × 360 mm) and maintained in a growth chamber under 20 ± 1°C, 60 ± 5% relative humidity (RH), and 16L:8D photoperiod at 2.5 klux. Aphid clones were used to minimize intraspecific variability and to ensure a certain uniformity of response.



Fig. 1 Green peach aphid, *Myzus persicae*, on *Camelina sativa* plant.

Diaeretiella rapae (M’Intosh, 1855) parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae) were obtained from IFTECH (Les Ponts de Cé, France) as mummies and were reared on the complex *B. brassicae* - *B. napus*. Upon reception, mummies were transferred to plastic tubes (75 x 13 mm) closed with a cotton plug. Once emerged, parasitoids were sexed and mating was allowed by grouping three to four males with six to seven females in the same tube. They were fed ad libitum with a 1:1 honey/water (v/v) solution until used for the experiments. Parasitoids were maintained in a room at 20 ± 1°C, 60 ± 5% relative humidity,

and a 16L:8D photoperiod at 2.5 klux. Three-day-old standardized parasitoid females (mated, fed and without oviposition experience) and males (mated and fed) were randomly selected for the experiments.

Plants and Nitrogen treatments

Camelina seeds (*Camelina sativa* cv. “Celine”) were sown (4 seeds/pot) in plastic pots (9 × 9 × 10 cm) containing potting soil (NPK 18-10-20, 0.5 kg/m³, FLORAGARD) and maintained in a growth chamber under 20 ± 1°C, 60 ± 5% relative humidity (RH), and 16L:8D photoperiod at 2.5 klux.

Plants were randomly assigned to one of the three following treatments: (i) no nitrogen input, consisting of the potting soil only (control referred to as “0N”) (ii) potting soil supplemented with 0.065 gN/pot (*i.e.* 80 kgN/ha) of ammonium nitrate (referred to as “80N”), constituting the recommended input for camelina (Solis *et al.* 2013) or (iii) potting soil supplemented with 0.195 gN/pot (*i.e.* 240 kgN/ha) of ammonium nitrate (referred to as “240N”). Application of the nitrogenous solutions was carried out over the entire soil surface of each pot. A first half-dose, diluted in 100 mL of water, was applied at the sowing date. A second half-dose was applied one week later. Four weeks-old plants were used for the experiments. Camelina pots were randomly arranged in the growth chamber, independent of their N treatment.

First trophic level - Plants

Ten 30 days-old camelina plants per treatment were used for this experiment. The aerial part of each plant was cut and weighed using an electronic balance (Mettler Toledo ML204, Max: 220 g, d = 0.1 mg) (fresh weight). The first four leaves from the base of each plant were used to assess plant quality through the calculation of the Carbon:Nitrogen (C:N) ratio. Each plant sample was treated individually, lyophilized at 4 °C for 48 hours (lyophilizer Alpha I-5), grinded for two minutes with a ball mill (MM400, Restch, Germany), then placed in a tin basket and dry weighed (Sartorius Genius ME415S, Max: 410 g, d = 0.01 mg). The dosage of C and N was achieved using an elemental analyser (Flash EA 1112 series Thermo Electron, Bremen Germany).

Second trophic level - Aphids

Nitrogen treatment and aphid performance

Pools of synchronized first instar nymphs (less than 24-h old) of each aphid species were obtained from parthenogenetic adult females placed on leaves of *B. napus* set in 1.5 % agar in Petri dishes (90 mm diameter). For the nymph survival study, groups of five first instar nymphs were transferred onto camelina plants. Each group of aphid nymphs was enclosed in a clip cage on one leaf at mid-height of each camelina plantlet. Nymph survival was recorded daily. Twenty repetitions per aphid species x N treatment were made. For the adult performance study, for each treatment and each aphid species, twenty seven to thirty surviving adults were randomly selected and placed individually in a clip cage on the plant to be tested. Their survival and fecundity were recorded daily. The pre-reproductive period (*i.e.*

the period of time from birth until the onset of reproduction) of adult aphids was also measured. Their fecundity was assessed for a duration equivalent to twice the pre-reproductive period duration (PRP) for each aphid species. Newly larviposited nymphs were removed daily (Le Roux *et al.* 2004, Hackett *et al.* 2013).

Nitrogen treatment and aphid size

Thirty-three to thirty-five eight-day-old aphids, randomly selected from the nymph survival study, were measured under a stereomicroscope (LEICA M165C) from the tip of the head to the base of the cauda.

Nitrogen treatment and aphid C:N ratio

Cohorts of eight-day-old aphids were obtained as described in the nymph survival study. For each aphid species, ten samples of 15-20 aphids per N treatment were frozen and then freeze dried for further C and N content analysis. The same protocol as the one used for leaf plant samples was used.

Third trophic level - Parasitoid

The experimental setup used was modified from Boquel *et al.* (2012). It consisted of six ventilated Plexiglas® chambers (360 x 240 x 110 mm) used simultaneously, inside which, three plants of *C. sativa* (1 plant per pot) belonging to one of the three treatments (“0N”, “80N” or “240N”) were placed. In each chamber, 180 to 200 three-day-old nymphs, which had been reared on camelina from the corresponding treatment, were deposited evenly on the 3 plants. Groups of five to six males and ten females standardized *D. rapae* wasps were introduced with a small paintbrush in the middle of the experimental setup for 24 hours before being removed. Two replicates of each treatment were performed. All experiments were conducted under controlled conditions ($20 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity (RH), and 16L:8D photoperiod at 2.5 klux).

Aphids were observed daily until formation of a mummy. Mummies were transferred into plastic tubes (75 x 13 mm) closed with a cotton plug. Emerged parasitoids were sexed and then stored at -80°C for further measurements. Left hind tibia length was used as a proxy for parasitoid size. It was measured under a stereomicroscope (LEICA M165C) on 30-35 randomly selected parasitoid females for each N treatment x host aphid species combination.

The following parasitoid life-history parameters were then computed: 1) Nymphal developmental time (from mummification to adult emergence) in days; 2) Emergence rate expressed as a percentage ((No. of emerged parasitoids / No. of mummies) x 100); 3) Tibia length (in mm) of parasitoid females.

Statistical analyses

Mean values are given with their standard error of the mean (SEM). The effect of treatment on plant (biomass and C:N) and aphid (PRP, fecundity and C:N) data that were not normally distributed was analysed using a Kruskal-Wallis one-way analysis of variance (H), followed by multiple comparison tests using the R package ‘nparcomp’ (type: Tukey). Aphid survival was analyzed using a Cox

proportional hazards model. Aphid length data being normally distributed, the effect of N treatment on this parameter was analyzed using a parametric one-way ANOVA test followed by pairwise comparisons using permutational t-tests (P-value adjustment method: fdr, 999 permutations, package 'RVAideMemoire'). The combined effects of aphid host species and N treatment on parasitoid parameters were analyzed using GLM with binomial error (link : logit) for emergence rate, as the use of binomial distribution is appropriate to model binary data or percentages ; GLM with gaussian distribution (link : identity) for the hind tibia length and poisson distribution (link : log) for the development time. All statistical analyses were carried out using the statistical program 'R' (R 3.2.2 - R Development Core Team 2015).

Results

First trophic level – Plant

Effect of Nitrogen treatment on Plant aerial biomass and quality

There was a significant treatment effect on both the aerial biomass (Kruskal–Wallis test, $H = 21.428$, $df = 2$, $P = 2.223e-05$) and the C:N ratio (Kruskal–Wallis test, $H = 19.125$, $df = 2$, $P = 7.031e-05$). Compared to the control “0N” treatment, the aerial biomass of *Camelina sativa* plants was significantly higher under the “80N” treatment and significantly lower under the “240N” treatment (**Fig. 2a**). Both N treatments (“80N” and “240N”) induced a significantly lower foliar C:N ratio compared to the control (**Fig. 2b**).

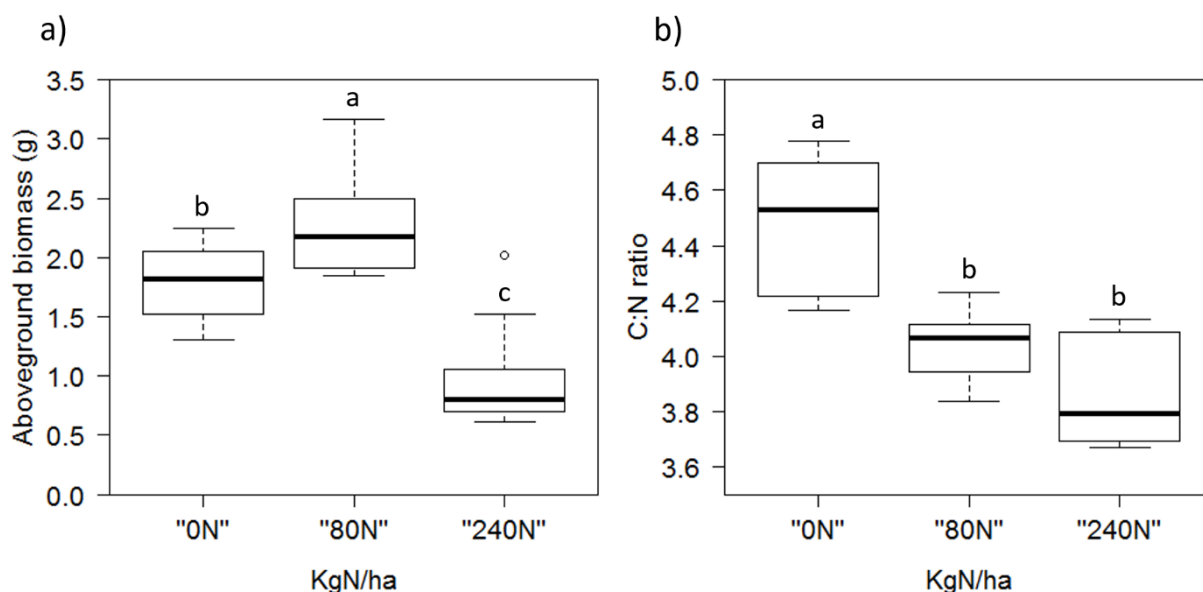


Fig. 2 a) Aboveground biomass and b) Leaf C:N ratio of *Camelina sativa* plants exposed to different nitrogen treatments. The letters indicate significant differences associated with Kruskal-Wallis one-way analysis of variance (H) followed by Tukey multiple comparison tests.

Second trophic level - Aphids

Plant-mediated Nitrogen effects on aphid life history traits

Whatever the treatment, nymph survival was significantly higher in *M. persicae* than in *B. brassicae* (ANOVA Cox model, $\chi^2 = 127.72$, $df = 1$, $P < 2.2e-16$) (**Fig. 3**). There was no significant effect of the treatment on aphid nymph survival, neither for *B. brassicae* (ANOVA Cox model, $\chi^2 = 0.1501$, $df = 1$, $P = 0.698$) nor for *M. persicae* (ANOVA Cox model, $\chi^2 = 3.438$, $df = 1$, $P = 0.064$).

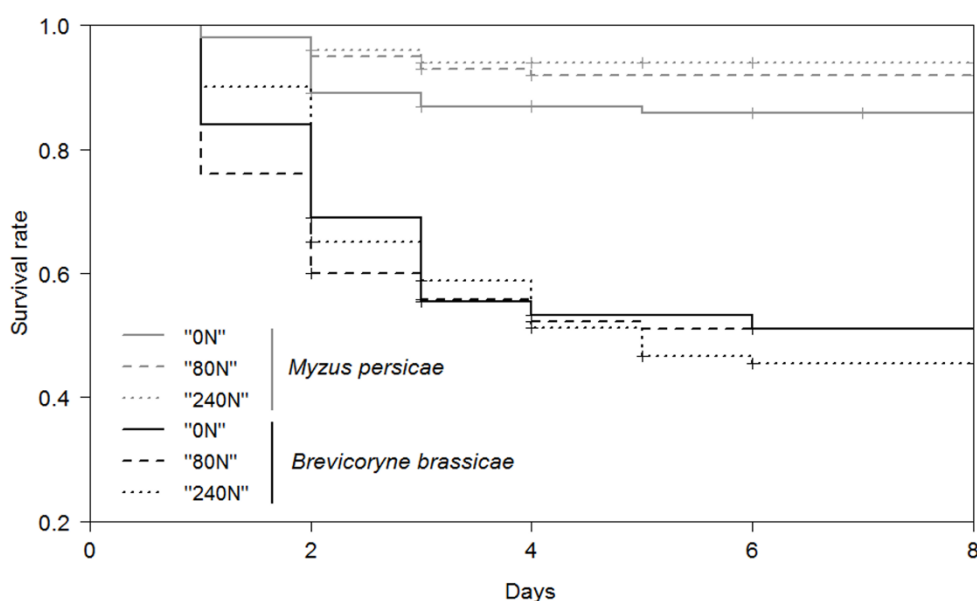


Fig. 3 Survival rates of aphid nymphs of *M. persicae* and *B. brassicae* on camelina plants exposed to different nitrogen treatments (“0N”, “80N” and “240N”).

For *B. brassicae* (Table 1a), there was a significant effect of the treatment on both fecundity (Kruskal–Wallis test, $H = 23.079$, $df = 2$, $P = 9.736e-06$) and length of adult aphids (ANOVA test, $F = 6.380$, $df = 2$, $P = 0.006$). The fecundity was significantly lower when aphids were reared on “240N” treated plants compared to “0N” control and “80N” treated plants. The length of *B. brassicae* adult aphids developed on N treated plants (“80N” or “240N”) were significantly higher than on control plants. There was no significant difference between the PRP and the C:N ratio of adult aphids reared on the different plant treatments (Kruskal–Wallis tests, $H = 0.841$, $df = 2$, $P = 0.657$ and $H = 0.784$, $df = 2$, $P = 0.675$).

For *M. persicae* (Table 1b), there was a significant effect of the treatment on aphid fecundity (Kruskal–Wallis test, $H = 23.996$, $df = 2$, $P = 6.157e-06$), the length of adult aphids (ANOVA test, $F = 5.382$, $df = 2$, $P = 0.003$) and the C:N ratio of adult aphids (Kruskal–Wallis test, $H = 9.715$, $df = 2$, $P = 0.008$). The fecundity was significantly higher when aphids were reared on “80N” treated plants compared to “0N” control and “240N” treated plants. The length of *M. persicae* adult aphids developed on “80N” treated plants was significantly higher than on control or “240N” treated plants. There was no significant difference between the PRP of adult aphids reared on the different plant treatments (Kruskal–Wallis test, $H = 2.087$, $df = 2$, $P = 0.352$). The adult aphids C:N ratio was significantly higher when aphids were reared on control plants (“0N”) than when they were reared on N treated plants (“80N” or “240N”).

Table 1 Life history traits (Mean $\pm$ SEM) of a) *Brevicoryne brassicae* and b) *Myzus persicae* aphids reared on *Camelina sativa* exposed to different nitrogen treatments (0, 80 and 240 kgN/ha).

Aphid parameters	“0N”	“80N”	“240N”	Statistics
a) <i>Brevicoryne brassicae</i>				
n	29	30	30	
PRP (days)	9.172 $\pm$ 0.193 a	9.300 $\pm$ 0.215 a	9.633 $\pm$ 0.212 a	$H = 0.841, df = 2, P > 0.1$
Fecundity ($\text{♀}/\text{♀}$)	50.793 $\pm$ 1.956 a	44.533 $\pm$ 1.896 a	33.333 $\pm$ 2.497 b	$H = 23.079, df = 2, \mathbf{P < 0.001}$
n	35	35	35	
Length (mm)	1.367 $\pm$ 0.021 b	1.456 $\pm$ 0.017 a	1.477 $\pm$ 0.027 a	$F = 6.380, df = 2, \mathbf{P < 0.01}$
n	10	10	10	
C:N ratio	5.72 $\pm$ 0.07 a	5.86 $\pm$ 0.09 a	5.87 $\pm$ 0.20 a	$H = 0.784, df = 2, P > 0.1$
b) <i>Myzus persicae</i>				
n	27	29	29	
PRP (days)	7.852 $\pm$ 0.163 a	8.138 $\pm$ 0.136 a	8.207 $\pm$ 0.235 a	$H = 2.087, df = 2, P > 0.1$
Fecundity ($\text{♀}/\text{♀}$)	50.148 $\pm$ 3.346 b	62.621 $\pm$ 1.781 a	44.655 $\pm$ 2.316 b	$H = 23.996, df = 2, \mathbf{P < 0.001}$
n	34	33	33	
Length (mm)	1.393 $\pm$ 0.016 b	1.448 $\pm$ 0.020 a	1.362 $\pm$ 0.019 b	$F = 5.382, df = 2, \mathbf{P < 0.05}$
n	10	10	7	
C:N ratio	6.01 $\pm$ 0.10 a	5.51 $\pm$ 0.10 b	5.45 $\pm$ 0.13 b	$H = 9.715, df = 2, \mathbf{P < 0.01}$

P-values in bold indicate statistically significant differences with *H* (Kruskal-Wallis test) or *F* (ANOVA test). Kruskal-Wallis one-way analyses of variance (*H*) were followed by Tukey multiple comparison tests and one-way ANOVA tests were followed by pairwise comparisons using permutational *t*-tests. The letters indicate significant differences associated with following pairwise comparisons. Means are presented with their standard error. n: number of aphids tested.

Third trophic level - Parasitoid

Emergence rate was significantly affected by the plant treatment ($\chi^2 = 22.695$, $df = 2$, $P = 1.180e-05$). There was a significant interaction between aphid species and treatment ($\chi^2 = 22.047$, $df = 2$, $P = 1.631e-05$). Only when *D. rapae* developed inside *M. persicae* its emergence rate was significantly lower under the “0N” treatment (**Table 2 a and b**).

Development time was not significantly affected by the plant treatment but was affected by the aphid species in which *D. rapae* females developed, with reduced development time inside *B. brassicae* ($\chi^2 = 11.515$, $df = 573$, $P = 0.0007$) (**Table 2 a and b**). There was no interaction between the two factors.

Hind tibia length was significantly affected by the N treatment ($\chi^2 = 0.007$, $df = 190$, $P = 0.038$) but not by the aphid species ($\chi^2 = 0.002$, $df = 192$, $P = 0.1141$). There was a significant interaction between aphid species and plant treatment ($\chi^2 = 0.015$, $df = 188$, $P = 0.0007$). When *D. rapae* developed inside *M. persicae*, parasitoid hind tibia length increased only under the “240N” treatment while when *D. rapae* developed inside *B. brassicae*, there was no significant difference (**Table 2 a and b**).

Table 2 Life history parameters (Mean $\pm$ SEM) of *Diaeretiella rapae* that developed inside a) *Brevicoryne brassicae* and b) *Myzus persicae* aphids on *Camelina sativa* exposed to different nitrogen treatments (0, 80 and 240 kgN/ha).

Parameters	“0N”	“80N”	“240N”
a) <i>Brevicoryne brassicae</i>			
n	143	94	93
Emergence rate	78.10%	75.80%	84.50%
Development time (days)	14.25 $\pm$ 0.09	15.47 $\pm$ 0.15	14.33 $\pm$ 0.13
n	34	33	33
Hind tibia length (mm)	0.541 $\pm$ 0.005	0.555 $\pm$ 0.005	0.544 $\pm$ 0.006
b) <i>Myzus persicae</i>			
n	70	101	73
Emergence rate	55.60%	88.60%	85.90%
Development time (days)	15.94 $\pm$ 0.16	15.79 $\pm$ 0.15	15.45 $\pm$ 0.14
n	32	31	31
Hind tibia length (mm)	0.547 $\pm$ 0.007	0.541 $\pm$ 0.007	0.572 $\pm$ 0.006

Means are presented with their standard error. n: number of parasitoids tested.

Discussion

Nitrogen inputs differently affected N concentrations within the first two trophic levels and the subsequent bottom-up effects within our tri-trophic system. Contrary to an optimal N application, when N was delivered in excess, the plant was stressed and its biomass decreased although N leaf concentration increased. Aphids parameters were negatively affected suggesting that the suitability of host plants receiving an excess of N was therefore reduced. Surprisingly, these negative effects resulted in no or positive effects on parasitoid parameters, suggesting a buffered effect at the third trophic level. Host N content, host suitability and dietary specialization appear to be major factors explaining the functioning of our studied system.

Nitrogen host content and performances of superior trophic levels

Nitrogen input affected severely the biomass and physiology of camelina. In our study, plants receiving the optimal “80N” treatment had an increased aerial biomass and a decreased leaf C:N ratio, due to increased leaf N concentration (data not shown). Our results are in accordance with previous works (Leith *et al.* 1999, Magill *et al.* 2000, Hermans *et al.* 2006). For the excessive “240N” treatment, even if the C:N ratio decreased, plant biomass decreased indicating a stressed status of the plants. In some cases of excessive N input, ammonium (NH₄⁺) stress may induce symptoms such as reduced growth or yield depressions (Britto and Kronzucker 2002) and this type of stress may then cascade up negatively on the 2nd trophic level such as observed in our study.

Previously published papers have shown positive relationships between high N concentration in the host-plant and high performances of phytophagous insects in terms of population growth rate (Couture *et al.* 2010), weight increase (Winter and Rostás 2010), or both (Aqueel and Leather 2011). Consistent with these previous works, in our study, *M. persicae* size and fecundity and *B. brassicae* size were positively impacted by the higher leaf N concentration obtained in the optimal “80N” treatment. However, increased leaf N concentration obtained in the excessive “240N” treatment did not affect positively *M. persicae* size and fecundity nor *B. brassicae* fecundity. A study from Zehnder and Hunter (2009) examining the impact of experimental increases of foliar N levels has documented a diminution in performance of an aphid species suggesting that excessive nutrient levels can limit herbivore population growth rates. This may occur when nutrient additions lead to host-plants presenting nutrient ratios that exceed herbivore threshold elemental ratios (TER) (Boersma and Elser 2006). To maintain homeostasis, herbivores need therefore to excrete excess elements, and if the excretion is energetically costly, then they may exhibit reduced population growth rates (Boersma and Elser 2006). Other physiological mechanisms (reviewed in Zehnder and Hunter, 2009) such as a decrease of feeding rate, an alteration of assimilation efficiency, or the impact of plant composition on aphid symbionts, may also explain how excessive N concentrations may result in decreased aphid performances.

Fagan *et al.* (2002) have revealed an imbalance between herbivorous and parasitoid insect N concentrations, indicating that N limitation can influence higher trophic levels interactions (Denno and Fagan 2003). On the one hand, on N treated plants N concentrations were enhanced for *M. persicae* but remained unchanged for *B. brassicae*. On the other hand, parasitoid emergence rates were enhanced when they developed inside *M. persicae* while emergence rates were not affected by the plant treatment when parasitoid developed inside *B. brassicae*. Therefore, in accordance with Aqueel *et al.* (2015), our study suggests that the greater is the N concentration in the body of the aphid host, the better is the parasitoid emergence rate. Effects of N input on development rate of parasitoid seem to be variable as both positive (Garratt *et al.* 2010) and no effects (Aqueel *et al.* 2015) have been previously observed. In our study, whatever the N host content, the developmental duration of parasitoids was not affected. Interestingly, the size of female parasitoids was increased when developing in *M. persicae* in the excessive “240N” treatment, potentially enhancing the level of pest control they may provide as size is generally positively correlated to their fitness (e.g. egg load) (Jervis *et al.* 2008).

Variation of N input and the “Tri-Trophic Interaction” Hypothesis

According to the “Tri-Trophic Interactions” (TTI) hypothesis developed by Mooney *et al.* (2012): (1) generalist herbivores should be more sensitive to variation in host-plant quality than specialist herbivores, and 2) a low quality host-plant should impact more the third trophic level when the herbivore host/prey is a generalist than when it is a specialist. We therefore expected that 1) variations in performances would be more important for *M. persicae* than *B. brassicae* and 2) the variation in host-plant quality would affect more the parasitoid *D. rapae* developing on *M. persicae* than when it developed on *B. brassicae*.

Validation of Prediction 1) depends on the level of the N input

At the optimal “80N” treatment, consistent with prediction 1), the generalist *M. persicae* was more affected than the specialist *B. brassicae*. Fecundity and size of *M. persicae* were enhanced whereas in *B. brassicae* only the size was enhanced. However, unexpectedly, under the excessive “240N” treatment (*i.e.* stressed plant), prediction 1) was invalidated. *M. persicae* fecundity and size were not affected whereas, paradoxically, fecundity was reduced and, in the specialist aphid *B. brassicae*, size was enhanced. Both N treatments may have influenced host-plant resistance to the second trophic level through the alteration of primary and secondary metabolites production (Rosenthal and Berenbaum 1992, Lou and Baldwin 2004, Chen *et al.* 2008). For both N treatments, a decrease in the C:N ratio compared to the control treatment may be related to a higher percentage of amino acids in the phloem sap (Crafts-Brandner 2002). Extensive studies of aphid physiology have revealed the central role of sucrose concentration, amino acid concentration and composition, and sucrose:amino acid ratio in shaping aphid performances (Auclair 1963, Febvay *et al.* 1988, Douglas 1998). The better performance

of *M. persicae* may therefore possibly be attributed to an increase in the quantity and/or quality of amino acids in the camelina plants submitted to the optimal “80N” treatment.

Several works have emphasized the role of bacterial symbionts in situation of low-N availability. Indeed, aphids have bacterial symbionts that enable them to modify the quality of the ingested phloem sap by upgrading nonessential amino acids to essential amino acids (Douglas 1998), enabling them to maintain high reproductive rates on diets with low concentrations of low-quality nitrogen. However, there is no indication of how these microbial symbionts would behave in case of excessive N input and how this might alter their relationship with the aphids (Zehnder and Hunter 2009).

Besides, high rates of N application may increase plant demand for water and then increase the possibility of water stress (Scagel *et al.* 2011). Many phytophagous insects, especially sap-feeders, are adversely affected by continuous water stress (reviewed in Huberty & Denno 2004). During periods of plant stress, reductions in turgor and water content may also interfere with the herbivore’s ability to access or utilize nitrogen. This effect may also partly explain the limited fecundity of *B. brassicae* on the “240N” treatment.

Depending on the plant species, N treatment may also affect the synthesis and levels of constitutive and induced defensive secondary compounds (Dudt and Shure 1994, Lou and Baldwin 2004, Chen *et al.* 2008). For example, foliar glucosinolate content in Brassica crops is influenced by fertilizer treatments (Staley *et al.* 2010, 2011) and generally decreases in reaction to N input (Schonhof *et al.* 2007). The specialist aphid, *B. brassicae*, is dependent on glucosinolate compounds, which can act as phago-stimulants (Cole 1997a, Kim *et al.* 2008) and may be or not affected by GLS in their host plants (Le Guigo *et al.* 2011). N input may have induced lower glucosinolate concentrations in camelina leaves and then negatively affected *B. brassicae* feeding rate, thus, leading to a decreased fecundity, whereas *M. persicae* performances, which are less strongly related to glucosinolate concentrations (Cole 1997a), were enhanced. This latter result can be related to the way *M. persicae* deals with GLS. As a generalist aphid, it uses a strategy of toleration, whereby glucosinolates and other plant secondary metabolites are flushed rapidly through the aphid gut and are present in the honeydew (Weber *et al.* 1986).

Wilkens *et al.* (1996) found that N fertilization altered levels of phenolic compounds that are associated with plant resistance to aphids (Cole 1984). The decreased performance of *B. brassicae* on the “240N” treatment could therefore be attributed to a variation in such phenolic compounds.

Validation of Prediction 2)

Consistent with our prediction 2), whatever the N treatment, *D. rapae* performances were more affected, and positively so, when it developed on the generalist aphid *M. persicae* than when it developed on the specialist *B. brassicae*. It has been shown that plant allelochemicals may not only affect the development of herbivores but also that of their parasitoids (Hunter 2003, Ode 2006). Parasitoids of herbivores feeding on glucosinolate-containing plants may be negatively affected by plant-derived compounds that

are stored in the haemolymph or other body tissues of the herbivore (Gols and Harvey 2009). However, the lack of variation of the emergence rate of *D. rapae* developing in *B. brassicae* observed in our study can be related to the works of (Le Guigo *et al.* 2011) which showed that *B. brassicae* did not benefit from the sequestration of GLS to limit attacks by *D. rapae*.

Nevertheless, performances improvement (*i.e.* emergence rate and size of the tibia) of *D. rapae* females when developing inside *M. persicae* could be explained by lower glucosinolates levels in camelina leaves exposed to N treatments. The better performances of *D. rapae* on *M. persicae* on N treated plants may be linked to the aphid-host nutritional quality, expected to be enhanced on plant exposed to N treatment. Indeed, size of parasitoids is often related to nutritional characteristics of the host (Godfray 1994) and adult life span and fecundity of the parasitoids are increased by the availability of nutrients in host insects (Kaneshiro and Johnson 1996, Azzouz *et al.* 2004).

Conclusion

The originality of our work lies in the fact that although an excessive N input induced the expected negative impacts on the performance on the first two trophic levels, this effect was buffered at the third trophic level. This also highlights the fact that a high host N content does not always warranty a good nutritional quality for the upper trophic level.

Our work shows that according to the “Tri-Trophic Interactions” hypothesis, N treatments cascaded up differentially to the third trophic level depending on the aphid host dietary specialization. Variation in host-plant quality had indeed stronger effects on dietary generalist aphids than on dietary specialist ones. Consequently, it appeared that bottom-up forces were relatively more important on the parasitoids when a generalist aphid species was involved than when it was a specialist. This study provides key insight on the complex interactions between bottom-up and top-down forces that structure plant-herbivores communities under the context of agricultural intensification. Indeed, N recommendations based on tests and projected crop N demand often result in over-application (Cui *et al.* 2010) and it seems that this excessive input, apart from being detrimental in terms of yield for the plant, could also have a significant impact on higher trophic levels.

Acknowledgement

This work was performed, in partnership with the SAS PIVERT, within the frame of the French Institute for the Energy Transition (Institut pour la Transition Energétique (ITE) P.I.V.E.R.T. (www.institut-pivert.com) selected as an Investment for the Future (“Investissements d’Avenir”). This work was supported, as part of the Investments for the Future, by the French Government under the reference ANR-001-01. Florent Bogaert is thanked for technical assistance. Charles Vincent (Agriculture and Agri-Food Canada) is thanked for critical comments on the manuscript and for revision of the English text.

References

- Aqueel, M. A., and S. R. Leather. 2011. Effect of nitrogen fertilizer on the growth and survival of *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Sitobion avenae* (F.) (Homoptera: *Aphididae*) on different wheat cultivars. *Crop Protection* **30**:216–221.
- Aqueel, M. A., A. M. Raza, R. M. Balal, M. A. Shahid, I. Mustafa, M. M. Javaid, and S. R. Leather. 2015. Tritrophic interactions between parasitoids and cereal aphids are mediated by nitrogen fertilizer. *Insect Science* **22**:813–820.
- Auclair, J. L. 1963. Aphid Feeding and Nutrition. *Annual Review of Entomology* **8**:439–490.
- Awmack, C. S., and S. R. Leather. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* **47**:817–844.
- Azzouz, H., P. Giordanengo, F. L. Wäckers, and L. Kaiser. 2004. Effects of feeding frequency and sugar concentration on behavior and longevity of the adult aphid parasitoid: *Aphidius ervi* (Haliday) (Hymenoptera: *Braconidae*). *Biological Control* **31**:445–452.
- Bansal, S., and T. P. Durrett. 2016. *Camelina sativa*: An ideal platform for the metabolic engineering and field production of industrial lipids. *Biochimie* **120**:9–16.
- Beilstein, M. A., I. A. Al-Shehbaz, S. Mathews, and E. A. Kellogg. 2008. Brassicaceae phylogeny inferred from phytochrome A and *ndhF* sequence data: Tribes and trichomes revisited. *American Journal of Botany* **95**:1307–1327.
- Blackman, R. L., and V. F. Eastop. 2000. Aphids on the World’s Crops: An Identification and Information Guide. John Wiley. Wiley, New York.
- Boersma, M., and J. J. Elser. 2006. Too Much of a Good Thing: on Stoichiometrically Balanced Diets and Maximal Growth. *Ecology* **87**:1325–1330.
- Boquel, S., C. Delayen, A. Couty, P. Giordanengo, and A. Ameline. 2012. Modulation of Aphid Vector Activity by Potato virus Y on In Vitro Potato Plants. *Plant Disease* **96**:82–86.
- Britto, D. T., and H. J. Kronzucker. 2002. NH₄⁺ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology* **159**:567–584.
- Chen, Y., E. A. Schmelz, F. Wäckers, and J. R. Ruberson. 2008. Cotton Plant, *Gossypium hirsutum* L., Defense in Response to Nitrogen Fertilization. *Journal of Chemical Ecology* **34**:1553–1564.

- Chesnais, Q., J. Verzeaux, A. Couty, V. Le Roux, and A. Ameline. 2015. Is the Oil Seed Crop *Camelina sativa* a Potential Host for Aphid Pests? *BioEnergy Research* **8**:91–99.
- Cole, R. A. 1984. Phenolic acids associated with the resistance of lettuce cultivars to the lettuce root aphid. *Annals of Applied Biology* **105**:129–145.
- Cole, R. A. 1997a. The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **85**:121–133.
- Cole, R. A. 1997b. Comparison of feeding behaviour of two Brassica pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **85**:135–143.
- Costello, M. J., and M. A. Altieri. 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.
- Couture, J. J., J. S. Servi, and R. L. Lindroth. 2010. Increased nitrogen availability influences predator–prey interactions by altering host-plant quality. *Chemoecology* **20**:277–284.
- Crafts-Brandner, S. J. 2002. Plant nitrogen status rapidly alters amino acid metabolism and excretion in *Bemisia tabaci*. *Journal of Insect Physiology* **48**:33–41.
- Cui, Z., F. Zhang, X. Chen, Z. Dou, and J. Li. 2010. In-season nitrogen management strategy for winter wheat: Maximizing yields, minimizing environmental impact in an over-fertilization context. *Field Crops Research* **116**:140–146.
- Denno, R. F., and W. F. Fagan. 2003. Might nitrogen limitation promote omnivory among carnivorous arthropods? *Ecology* **84**:2522–2531.
- Douglas, A. E. 1998. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*. *Annual Review of Entomology* **43**:17–37.
- Dudt, J. F., and D. J. Shure. 1994. The Influence of Light and Nutrients on Foliar Phenolics and Insect Herbivory. *Ecology* **75**:86–98.
- Fagan, W. F., E. Siemann, C. Mitter, R. F. Denno, A. F. Huberty, H. A. Woods, and J. J. Elser. 2002. Nitrogen in insects: implications for trophic complexity and species diversification. *The American naturalist* **160**:784–802.
- Febvay, G., J. Bonnin, Y. Rahbé, R. Bournoville, S. Delrot, and J. L. Bonnemain. 1988. Resistance of different lucerne cultivars to the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: influence of phloem composition on aphid fecundity. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **48**:127–134.
- Garratt, M. P. D., S. R. Leather, and D. J. Wright. 2010. Tritrophic effects of organic and conventional fertilisers on a cereal-aphid-parasitoid system. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **134**:211–219.
- Godfray, H. C. J. 1994. *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*. Princeton. Princeton, New Jersey.
- Gols, R., and J. A. Harvey. 2009. Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. *Phytochemistry Reviews* **8**:187–206.
- Gratton, C., and R. F. Denno. 2003. Seasonal shift from bottom-up to top-down impact in phytophagous insect populations. *Oecologia* **134**:487–495.

- Le Guigo, P., Y. Qu, and J. Le Corff. 2011. Plant-mediated effects on a toxin-sequestering aphid and its endoparasitoid. *Basic and Applied Ecology* **12**:72–79.
- Hackett, S. C., A. J. Karley, and A. E. Bennett. 2013. Unpredicted impacts of insect endosymbionts on interactions between soil organisms, plants and aphids. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **280**:20131275–20131275.
- Hermans, C., J. P. Hammond, P. J. White, and N. Verbruggen. 2006. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in Plant Science* **11**:610–617.
- Huang, X.-L., and G.-X. Qiao. 2014. Aphids as models for ecological and evolutionary studies. *Insect science* **21**:247–50.
- Huberty, A. F., and R. F. Denno. 2004. Plant water stress and its consequences for herbivorous insects: A new synthesis. *Ecology* **85**:1383–1398.
- Huberty, A. F., and R. F. Denno. 2006. Consequences of nitrogen and phosphorus limitation for the performance of two planthoppers with divergent life-history strategies. *Oecologia* **149**:444–455.
- Hunter, M. D. 2003. Effects of plant quality on the population ecology of parasitoids. *Agricultural and Forest Entomology* **5**:1–8.
- Hunter, M. D., and P. W. Price. 1992. Playing Chutes and Ladders : Heterogeneity and the Relative Roles of Bottom-Up and Top- Down Forces in Natural Communities. *Ecology* **73**:724–732.
- Jervis, M. A., J. Ellers, and J. A. Harvey. 2008. Resource Acquisition, Allocation, and Utilization in Parasitoid Reproductive Strategies. *Annual Review of Entomology* **53**:361–385.
- Johnson, M. T. J. 2008. Bottom-Up Effects of Plant Genotype on Aphids, Ants, and Predators. *Ecology* **89**:145–154.
- Kagata, H., and T. Ohgushi. 2006. Bottom-up trophic cascades and material transfer in terrestrial food webs. *Ecological Research* **21**:26–34.
- Kaneshiro, L. N., and M. W. Johnson. 1996. Tritrophic Effects of Leaf Nitrogen on *Liriomyza trifolii* (Burgess) and an Associated Parasitoid *Chrysocharis oscinidis* (Ashmead) on Bean. *Biological Control* **6**:186–192.
- Keddy, P. A. 2007. Plants and Vegetation: Origins, Processes, Consequences. Cambridge University Press, UK.
- Kim, J. H., B. W. Lee, F. C. Schroeder, and G. Jander. 2008. Identification of indole glucosinolate breakdown products with antifeedant effects on *Myzus persicae* (green peach aphid). *The Plant Journal* **54**:1015–1026.
- Knight, T. M., M. W. McCoy, J. M. Chase, K. A. McCoy, and R. D. Holt. 2005. Trophic cascades across ecosystems. *Nature* **437**:880–883.
- Leith, I. D., W. K. Hicks, D. Fowler, and S. J. Woodin. 1999. Differential responses of UK upland plants to nitrogen deposition. *New Phytologist* **141**:277–289.
- Lou, Y., and I. T. Baldwin. 2004. Nitrogen Supply Influences Herbivore-Induced Direct and Indirect Defenses and Transcriptional Responses in *Nicotiana attenuata*. *Plant Physiology* **135**:496–506.
- Magill, A. H., J. D. Aber, G. M. Berntson, W. H. McDowell, K. J. Nadelhoffer, J. M. Melillo, and P. Steudler. 2000. Long-term nitrogen additions and nitrogen saturation in two temperate forests. *Ecosystems* **3**:238–253.

- Mattson, W. J. 1980. Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics* **11**:119–161.
- Mayntz, D., and S. Toft. 2001. Nutrient composition of the prey's diet affects growth and survivorship of a generalist predator. *Oecologia* **127**:207–213.
- Moe, S. J., R. S. Stelzer, M. R. Forman, W. S. Harploe, T. Daufresne, and T. Yoshida. 2005. Recent advances in ecological stoichiometry: Insights for population and community ecology. *Oikos* **109**:29–39.
- Mooney, K. A., R. T. Pratt, and M. S. Singer. 2012. The Tri-Trophic Interactions Hypothesis: Interactive Effects of Host Plant Quality, Diet Breadth and Natural Enemies on Herbivores. *PLoS ONE* **7**:e34403.
- Ode, P. J. 2006. Plant Chemistry and Natural Enemy Fitness: Effects on Herbivore and Natural Enemy Interactions. *Annual Review of Entomology* **51**:163–185.
- Ponti, L., M. A. Altieri, and A. P. Gutierrez. 2007. Effects of crop diversification levels and fertilization regimes on abundance of *Brevicoryne brassicae* (L.) and its parasitization by *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) in broccoli. *Agricultural and Forest Entomology* **9**:209–214.
- R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rosenthal, G. A., and M. R. Berenbaum. 1992. Herbivores. Their interactions with secondary plant metabolites. (G. A. Rosenthal and M. R. Berenbaum, Eds.). Academic Press, New York.
- Le Roux, V., J. Saguez, C. Vincent, and P. Giordanengo. 2004. Rapid method to screen resistance of potato plants against *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) in the laboratory. *Journal of Economic Entomology* **97**:2079–82.
- Scagel, C. F., G. Bi, L. H. Fuchigami, and R. P. Regan. 2011. Effects of irrigation frequency and nitrogen fertilizer rate on water stress, nitrogen uptake, and plant growth of container-grown rhododendron. *HortScience* **46**:1598–1603.
- Schädler, M., R. Brandl, and A. Kempel. 2010. Host plant genotype determines bottom-up effects in an aphid-parasitoid-predator system. *Entomologia Experimentalis et Applicata* **135**:162–169.
- Schonhof, I., D. Blankenburg, S. Müller, and A. Krumbein. 2007. Sulfur and nitrogen supply influence growth, product appearance, and glucosinolate concentration of broccoli. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **170**:65–72.
- Séguin-Swartz, G., C. Eynck, R. K. Gugel, S. E. Strelkov, C. Y. Olivier, J. L. Li, H. Klein-Gebbinck, H. Borhan, C. D. Caldwell, and K. C. Falk. 2009. Diseases of *Camelina sativa* (false flax). *Canadian Journal of Plant Pathology* **31**:375–386.
- Solis, A., I. Vidal, L. Paulino, B. L. Johnson, and M. T. Berti. 2013. Camelina seed yield response to nitrogen, sulfur, and phosphorus fertilizer in South Central Chile. *Industrial Crops and Products* **44**:132–138.
- Staley, J. T., R. D. Girling, A. Stewart-Jones, G. M. Poppy, S. R. Leather, and D. J. Wright. 2011. Organic and conventional fertilizer effects on a tritrophic interaction: parasitism, performance and preference of *Cotesia vestalis*. *Journal of Applied Entomology* **135**:658–665.
- Staley, J. T., A. Stewart-Jones, T. W. Pope, D. J. Wright, S. R. Leather, P. Hadley, J. T. Rossiter, H. F. van Emden, and G. M. Poppy. 2010. Varying responses of insect herbivores to altered plant chemistry under organic and conventional treatments. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society B* **277**:779–86.

- Sterner, R. W., and J. J. Elser. 2002. *Ecological Stoichiometry: The Biology of Elements from Molecules to the Biosphere*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Stiling, P., and D. C. Moon. 2005. Quality or quantity: The direct and indirect effects of host plants on herbivores and their natural enemies. *Oecologia* 142:413–420.
- Turlings, T. C. J., and B. Benrey. 1998. Effects of plant metabolites on the behavior and development of parasitic wasps. *Ecoscience* 5:321–333.
- Vitousek, P. M., and R. W. Howarth. 1991. Nitrogen Limitation on Land and in the Sea: How Can It Occur? *Biogeochemistry* 13:87–115.
- Weber, G., S. Oswald, and U. Zoellner. 1986. Suitability of rape cultivars with a different glucosinolate content for *Brevicoryne brassicae* (L.) and *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera, Aphididae). *Journal of Plant Diseases and Protection* 93:113–124.
- White, T. C. R. 1993. *The Inadequate Environment: Nitrogen and the Abundance of Animals*. Springer-Verlag, New York.
- Wilkens, R. T., J. M. Spoerke, and N. E. Stamp. 1996. Differential Responses of Growth and Two Soluble Phenolics of Tomato to Resource Availability. *Ecology* 77:247–258.
- Winter, T. R., and M. Rostás. 2010. Nitrogen deficiency affects bottom-up cascade without disrupting indirect plant defense. *Journal of Chemical Ecology* 36:642–51.
- Zehnder, C. B., and M. D. Hunter. 2008. Effects of nitrogen deposition on the interaction between an aphid and its host plant. *Ecological Entomology* 33:24–30.
- Zehnder, C. B., and M. D. Hunter. 2009. More is not necessarily better : the impact of limiting and excessive nutrients on herbivore population. *Ecological Entomology* 34:535–543.

CHAPITRE 5.

EFFETS DES PHYTOVIRUS SUR LES INTERACTIONS TRI-TROPHIQUES

Effets des phytovirus sur les interactions tri-trophiques

Étude 1 : Effets des phytovirus sur un système bi-trophique

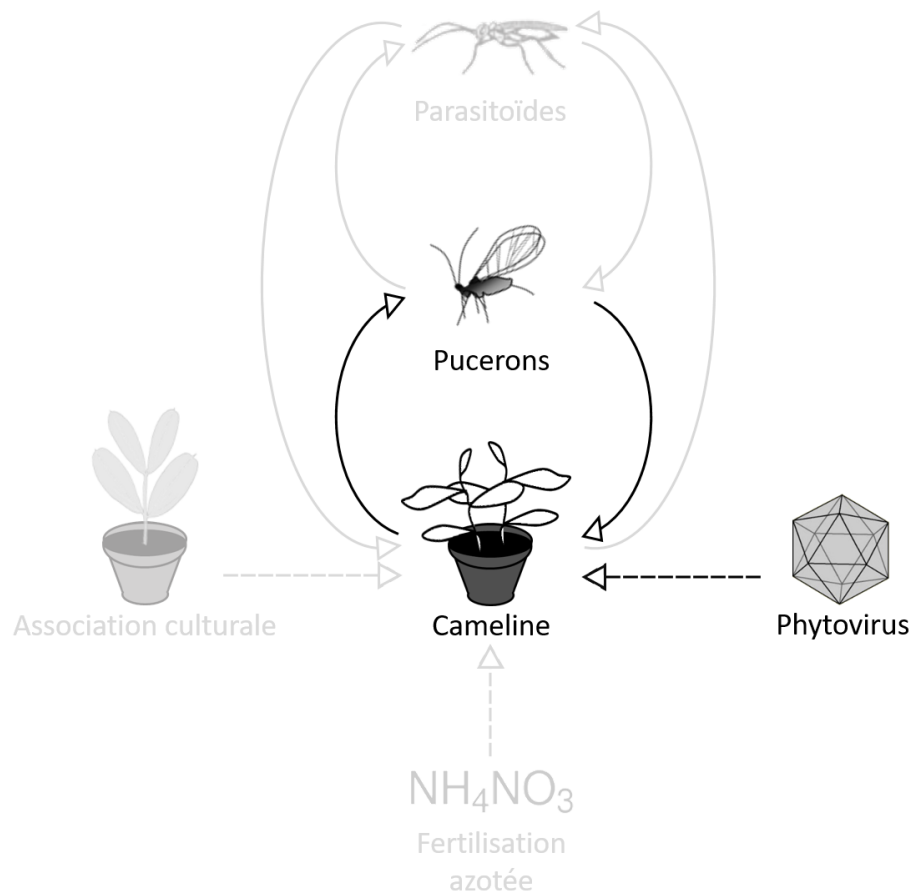


Fig. 18. Influence d'un virus sur les relations bi-trophiques cameline-puceron.

Présentation de l'étude et principaux résultats :

Les phytovirus à transmission vectorielle peuvent induire des changements phénotypes chez leurs plantes hôtes, et par conséquent influencer les interactions plante-vecteur, ceci pouvant favoriser leur propagation en fonction de leur mode de transmission (persistants, semi-persistants ou non-persistants) (Mauck *et al.* 2012). Cette manipulation indirecte du vecteur par le virus à travers la plante nécessite une co-évolution étroite du complexe plante hôte-virus-vecteur et serait donc effective uniquement pour des associations très spécifiques (Mauck *et al.* 2014b). Plusieurs points restent toutefois à éclaircir. La classification selon la persistance du virus dans le vecteur est discutable puisqu'elle est basée sur des hypothèses regroupant les virus persistants et semi-persistants dans la même catégorie. En considérant le site de rétention (circulant vs. non-circulants), les virus persistants seraient finalement plus proches des virus non-persistants. De plus, certaines études suggèrent que cette manipulation indirecte peut dépendre de plusieurs facteurs relatifs à diverses caractéristiques intrinsèques des vecteurs telles que l'efficacité de la transmission et le degré de spécialisation alimentaire. Ces effets pouvant avoir des conséquences importantes sur la propagation et l'épidémiologie du virus (Jeger *et al.* 2004; Sisterson 2008), il nous a semblé important d'évaluer les rôles relatifs de ces différents facteurs sur la transmission virale.

Dans une étude intégrative, nous avons testé les effets de l'infection de la cameline par le virus non-circulant de la mosaïque du chou (*Cauliflower mosaic virus* – CaMV) ou par le virus circulant de la jaunisse du navet (*Turnip yellows virus* – TuYV) sur la colonisation de la plante hôte par deux espèces de pucerons différant en termes d'efficacité de transmission virale: le polyphage *Myzus persicae* et le spécialiste des Brassicaceae *Brevicoryne brassicae* (**Fig. 18.**).

Nos résultats ont mis en évidence un rôle négligeable du degré de spécialisation alimentaire du puceron, mais ont confirmé le rôle important du mode de transmission puisque les effets indirects du CaMV sur les deux espèces de pucerons ont induit des altérations négatives du comportement alimentaire et des performances qui étaient propices à la propagation du virus. L'efficacité de transmission virale semble également jouer un rôle dans la manipulation des vecteurs par des virus car seules les réponses du vecteur « efficace » aux effets indirects du TuYV étaient favorables à sa propagation.

Au final, ce travail a démontré que la manipulation virale des vecteurs est non seulement modulée par le mode de transmission du virus mais aussi par l'efficacité de la transmission virale du vecteur. À l'échelle de l'agrosystème, les conséquences en termes de propagation des phytovirus pourraient être importantes. Concernant le TuYV, seul le vecteur est attiré, ce qui limite la concurrence et celui-ci voit ses performances améliorées sur la plante infectée, impactant significativement de façon positive la dynamique de populations en vecteurs. Pour le CaMV, les résultats laissent penser que le virus induirait une dynamique d'acquisition-répulsion rapide, très favorable à sa propre propagation par les vecteurs.

Article n°4:

Indirect vector manipulation by viruses, vector transmission efficiency and virus mode of transmission play their part.

(Article en revue dans *Journal of Virology*)

Q. Chesnais¹, A. Couty¹, M. Uzest², V. Brault³, A. Ameline¹.

¹FRE CNRS 3498 EDYSAN (Écologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), Université de Picardie Jules Verne, 33 rue St Leu, F-80039 Amiens Cedex, France.

²INRA, UMR BGPI, CIRAD-INRA-Montpellier SupAgro, TA A54/K Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier Cedex 5, France.

³UMR 1131 SVQV, INRA-UDS, 28, rue de Herrlisheim, 68021 Colmar cedex, France.

Abstract

Insect-vectorized phytoviruses can induce changes in plant phenotypes, thus influencing plant–vector interactions in a way that may promote their propagation according to their mode of transmission (*i.e.* circulative vs non circulative). This indirect vector manipulation requires tight host–virus–vector co-evolution and would thus be effective solely in very specific plant–virus–vector species. Some studies suggest this manipulation may depend on multiple factors relative to various intrinsic characteristics of vectors such as transmission efficiency and dietary specialization. In an integrative study, we tested the effects of infection of the Brassicaceae *Camelina sativa* with the non-circulative *Cauliflower mosaic virus* or the circulative *Turnip yellows virus* on the host plant colonization of two aphid species differing by their virus transmission efficiency: the polyphagous *Myzus persicae* and the Brassicaceae specialist *Brevicoryne brassicae*. Results highlighted a negligible role of aphid dietary specialization but confirmed the important role of virus mode of transmission as plant-mediated effects of CaMV on the two aphid species induced negative alterations of feeding behavior and performances that were conducive for virus propagation. Virus transmission efficiency also played a part in vector manipulation by viruses as only the responses of the efficient vector to plant-mediated effects of TuYV were favorable to its dispersal. Altogether, this work demonstrated that vector manipulation by viruses is not only driven by the virus mode of transmission but also by vector transmission efficiency.

Importance

Phytoviruses have been shown to induce indirect *manipulation* of vector (*i.e.*, virally mediated changes in host-plant physiology) in a way that promote their propagation. Convergent host-plant-mediated effects on vectors were mainly observed according to the virus mode of transmission (*i.e.* circulative vs. non-circulative) and little attention has been paid to other factors such as the intrinsic characteristics of vectors. We conducted an integrative study on two plant-virus-aphid pathosystems by investigating the role not only of the virus mode of transmission but also of two aphid characteristics, the virus transmission efficiencies and the dietary specialization. Our results show that, in addition to the role of virus mode of transmission, only vector transmission efficiency plays a major part influencing indirect manipulation of vectors by viruses. Thus our results reinforce the idea that vector manipulation requires tight co-evolution and would be effective solely in plant-virus-vector species associations.

Introduction

A growing number of studies suggest that vector-borne pathogens and parasites manipulate phenotypic traits of their vectors and hosts, thus influencing the frequency and nature of hosts-vectors interactions in ways that increase contacts between them and which eventually favour the dissemination of the pathogens/parasites (Hurd 2003; Belliure *et al.* 2005; Lefèvre *et al.* 2006). This phenomenon has led to the emergence of several hypotheses. Initially, the “Host Manipulation Hypothesis” (HMH) was established for an animal pathosystem, the acanthocephalan-arthropod model (Holmes & Bethel 1972). Larval acanthocephalan parasites have been shown to manipulate their intermediate amphipod hosts by altering their behaviour. When parasitized, amphipods were more vulnerable to predation, which increased acanthocephalans’ chance to pursue their life cycle in their final fish host. Over the last decades, parasites have been shown to alter a broad range of phenotypic traits in their hosts, extending from colour and morphology to physiology and behaviour. More recently, the “Vector Manipulation Hypothesis” (VMH) has been proposed to explain the strategies exhibited by phytoviruses to enhance their spread to new host-plants through direct and indirect effects on aphid vectors (Ingwell, Eigenbrode & Bosque-Pérez 2012). Phytoviruses have been shown to indirectly modulate their transmission by altering plant colonization by the vector. Indeed, phytoviruses may alter their host-plant phenotype traits by modifying chemical and/or visual cues (Eigenbrode *et al.* 2002; Jimenez-Martinez *et al.* 2004) that may in turn influence/manipulate patterns of retention, feeding, reproduction and dispersal of their aphid vectors (Belliure *et al.* 2005; Fereres & Moreno 2009).

Many studies have correlated the changes induced in infected plants by viruses to the vector behaviour and ultimately to the virus transmission by the vector. Based on previous models developed by McElhany, Real & Power (1995) and Sisterson (2008), Mauck *et al.* (2012) predicted that most changes in host-plant phenotypes induced by pathogens would have positive (or neutral) effects on transmission

by vectors. They also showed that viruses having similar modes of transmission (*i.e.* either non-persistently (NPT), semi-persistently (SPT) or persistently (PT) transmitted viruses) induced similar phenotypic alterations in their host plant which in turn similarly affected the aphid vector behaviour. Specifically, they observed that NPT, SPT and PT viruses tended to enhance aphid vector attraction to infected hosts. However, aphid settling, feeding preferences and aphid performances varied depending on the virus transmission mode. PT viruses tended to improve host quality for aphid vectors and promote long-term feeding whereas NPT viruses induced a reduction of plant quality and promoted rapid aphid dispersal. According to Mauck *et al.* (2012), the SPT viruses appear to have the same effect on their vectors as the PT ones, although this conclusion was based on very few studies. Yet, if we consider the mode of transmission based on the retention site of the virus within the vector (salivary glands for the circulative mode, stylet and/or foregut for the non-circulative mode) (Mauck, De Moraes & Mescher 2016), the SPT are closer to the NPT viruses (both being non-circulative) than the PT viruses (circulative). Circulative viruses, are acquired through prolonged vector feeding (minutes to hours) and retained for long periods (days to months) whereas non-circulative viruses are acquired through brief probes (seconds to minutes) and retained for relatively short periods of time (seconds to hours).

Vector manipulation requires tight host–virus–vector co-evolution and would thus be effective solely in very specific plant–virus–vector species associations (Mauck, De Moraes & Mescher 2014). Indeed, some studies have investigated the relationship between alteration of colonization by the vector on infected plants and vector virus-transmission efficiency. For example, the PT circulative *Southern rice black-streaked dwarf virus* (SRBSDV, *Fijivirus*) infection on rice plants had no effects on a non-vector brown planthopper (BPH, *Nilaparvata lugens*) (He *et al.* 2014) but affected its vector, the white-backed planthopper (WBPH, *Sogatella furcifera*) (Tu *et al.* 2013). Boquel *et al.* (2011; 2012) highlighted a positive correlation between the aphid transmission efficiency of the NPT non-circulative *Potato virus Y* (PVY, *Potyvirus*) and the feeding behaviour of the different aphid species on the PVY-infected plants. Indeed, non-vectors of PVY, *Aphis fabae* and *Brevicoryne brassicae*, exhibited reduced or unchanged ingestion periods while the vectors, *Myzus persicae* and *Sitobion avenae*, had longer phloem phases. Virus-induced modifications of plants may also differently affect vectors having dietary specialization. For instance, the infection of the NPT non-circulative cabbage black ringspot strain (CBRSV) of the *Turnip mosaic virus* (TuMV, *Potyvirus*) on *Brassica rapa* induced antagonistic effects on the polyphagous *M. persicae* and the *Brassicaceae*-adapted *B. brassicae* (Hodgson 1981).

Altogether, these studies suggest that plant-mediated vector-manipulation by viruses may depend on multiple factors not only inherently linked to the mode of transmission but also to characteristics of aphid vectors (*i.e.* virus transmission efficiency and dietary specialization). We conducted an integrative study of aphids-phytoviruses interactions by analysing two viruses which differ by their mode of transmission; the PT circulative *Turnip yellows virus* (TuYV, *Polerovirus* genus in the *Luteoviridae* family) and the SPT non circulative *Cauliflower mosaic virus* (CaMV, *Caulimovirus* genus in the

Caulimoviridae family). We studied the effects of TuYV and CaMV infection of the *Brassicaceae* *Camelina sativa* on the behaviour of two aphid species exhibiting not only different dietary specializations - the polyphagous *M. persicae* and the *Brassicaceae* specialist *B. brassicae* – but also different transmission efficiencies of the two viruses.

We hypothesized that the virus-induced effects on plant would impact the aphid behaviour differently depending on i) the virus mode of transmission (circulative (PT) vs non-circulative (SPT and NPT)), ii) the virus transmission efficiency of each aphid species and iii) the dietary specialization of aphids. We therefore predicted that i) based on their mode of transmission (circulative vs. non-circulative), CaMV infected plants would promote more aphid dispersal than control ones whereas TuYV infected plants would retain more aphids than control ones, that CaMV would induce a decrease of phloem sap ingestion whereas TuYV would induce a prolonged phloem sap ingestion on infected plants compared to control ones, and that CaMV would decrease aphid performances whereas TuYV would increase aphid performances on infected plants compared to control ones. We also predicted that these pre-cited effects ii) would apply only to efficient vectors and iii) would also be modulated depending on the dietary specialization of aphids.

Materials and Methods

Insects and Plants

Seeds of camelina (*Camelina sativa* cv. “Celine”) (Brassicales: *Brassicaceae*) provided by the Technical Institute in Agronomy Terres Inovia (Paris, France) were sown in plastic pots (90 × 90 × 100 mm) containing commercial sterilized potting soil in a growth chamber under 20 ± 1°C, 60 ± 5% relative humidity (RH), and 16L:8D photoperiod at 2.5 klux.

The *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: *Aphididae*) colony was established from one parthenogenetic female collected in 1999 in a potato field near Loos-en-Gohelle (France). The *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: *Aphididae*) colony was provided in 2008 by INRA-Le Rheu (Rennes, France). Aphids of both species were reared on rapeseed (*Brassica napus* cv. “Adriana”) (Brassicales: *Brassicaceae*). Pots (90 × 90 × 100 mm) containing each 3-4 rapeseed plants were placed in ventilated plastic cages (240 × 110 × 360 mm) and maintained in a growth chamber under 20 ± 1°C, 60 ± 5% relative humidity (RH), and 16L:8D photoperiod at 2.5 klux. Aphid clones were used to minimize intraspecific variability and to ensure a certain uniformity of response.

The *Turnip yellows virus* (TuYV, *Luteoviridae*) (Leiser *et al.* 1992) used in our experiments was provided by Véronique Ziegler-Graff at IBMP-CNRS (Strasbourg, France) and maintained on *Montia perfoliata* (Caryophyllales: *Portulacaceae*). The *Cauliflower mosaic virus* (CaMV, *Caulimoviridae*) strain Cabb B-JI used in our experiment was provided by Marilyne Uzest at UMR BGPI (Montpellier, France)

and maintained on *B. napus*. *C. sativa* plants were inoculated with TuYV or CaMV by placing 5 aphids, previously maintained 24 hours on infected *C. perfoliata* for TuYV or *B. napus* for CaMV, on a single 7 day-old camelina plant for a 3 day-inoculation period. After 72 h, aphids and nymphs were gently removed with a brush. The infection status of the inoculated plants was visually confirmed 21 days post-infection (dpi) by symptoms observation: dwarfing, reddening/yellowing of leaf margins and interveinal discoloration for TuYV and dwarfing, mosaic, deformation of the plant structure, necrotic lesions on leaf surfaces for CaMV. Virus infection was also confirmed using double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay with polyclonal antibodies produced by LOEWE for TuYV and SEDIAG for CaMV (Adams & Clark 1977).

Sham-inoculated (*i.e.* non-infected) plants were treated similarly using non-viruliferous aphids. For all the bioassays described below, plants were used three weeks after virus inoculation or sham-inoculation.

All experiments were conducted under controlled conditions ($20 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity (RH), and 16L:8D photoperiod at 2.5 klux).

Transmission efficiency of TuYV and CaMV

The transmission efficiencies of CaMV and TuYV by *M. persicae* and *B. brassicae* were tested as described by Fereres *et al.* (1993). Aphids (young apterous adults) were placed inside a Petri dish for a 1 h pre-acquisition starving period. Then, starved aphids were deposited on an infected camelina plant exhibiting visual symptoms of infection for virus acquisition. For the CaMV, 50 aphids at a time were allowed to acquire the virus from the infected plant. For the TuYV, 150 aphids at a time were allowed to acquire the virus from the infected plant. After a 24-h acquisition access period, groups of three aphids were transferred to each camelina test plant ($n = 15$) for a 72-h inoculation access period before being manually removed. Although the CaMV can be efficiently transmitted after small acquisition access periods, its transmission rate has been shown to increase upon phloem ingestion (Palacios *et al.* 2002). We thus chose to apply the same experimental design to both viruses, regardless of their SPT and PT belonging, to avoid any bias linked to the time spent on the plant.

Plant-mediated effects of virus on aphids' plant settlement/migration

Preference tests that allowed contact, volatile and visual cues and measurement of emigration rates were performed using parthenogenetic adult females of *M. persicae* and *B. brassicae*. The experimental setup used was adapted from Mauck, De Moraes & Mescher (2010) (Fig. 1). In these bioassays, we assessed the propensity of apterous aphids to emigrate from infected or non-infected plants. Ten aphids were released onto leaves of an infected or control plant (the “release” plant) placed adjacent to a second plant (the “choice” plant) which was of the opposite status, either infected or non-infected. The two plants in the cage were linked by a bridge ensuring the possibility of aphids to move between plants. The whole setting was placed in a $360 \times 240 \times 110$ mm plastic aerated cage where the “release” and “choice”

plants were randomly placed in order to avoid any position effect. Aphids were then counted on each plant 2 h and 24 h after deposition. Each test was repeated 15 times.

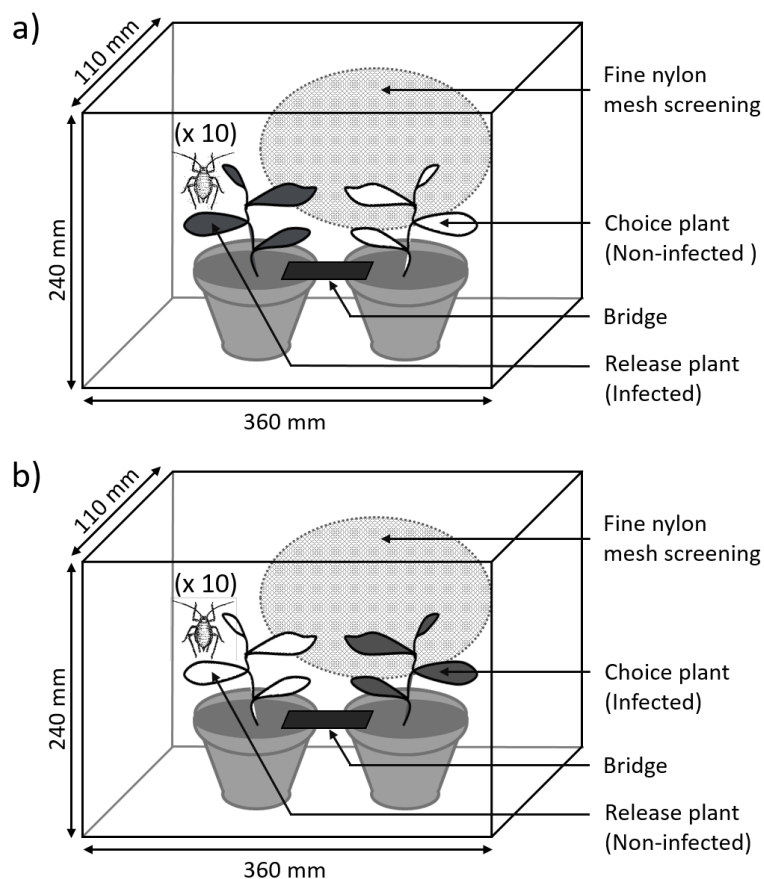


Fig. 1. Bioassay set-up used to test aphid emigration and settlement on infected and non-infected plants. a) Release of aphids on the infected plant. b) Release of the aphids on the sham-inoculated (*i.e.* non-infected) plant.

Plant-mediated effects of virus on aphids' feeding behaviour

The electrical penetration graph DC-system was used as described by Tjallingii (1988). To insert one aphid and one plant into an electrical circuit, a thin gold wire (20 μ m diameter and 2 cm long) was tethered on the insect's dorsum using conductive silver glue (EPG systems, Wageningen, The Netherlands). Eight aphids were connected to the Giga-8 DC-EPG amplifier and each one was placed on the leaf of an individual plant. A second electrode was inserted into the soil of each potted plant to close the electrical circuit. The recordings were performed continuously for 8 h during the photophase. Each aphid-plant system was placed inside a Faraday cage at 20 ± 1 °C. Acquisition and analysis of the EPG waveforms were carried out with PROBE 3.5 software (EPG Systems, www.epgsystems.eu). Relevant aphid behaviour-related EPG parameters were calculated with EPG-Calc 6.1 software (Giordanengo 2014) and were based on different EPG waveforms described by Tjallingii & Hogen Esch

(1993). Although several parameters were calculated, we chose to present only the E2 (passive phloem sap ingestion) parameter as it is considered as the most important feeding behaviour parameter reflecting the suitability of the plant. This parameter is also an indicator of the transmission success of PT circulative viruses by aphids. In this study, the feeding behaviour of *M. persicae* and *B. brassicae* on *C. sativa*, infected or not by TuYV or CaMV, was investigated using 20 individuals for each combination aphid x virus.

Plant-mediated effects of virus on aphids' performance

Pools of synchronized first instar nymphs (less than 24-h old) of each aphid species were obtained from parthenogenetic adult females placed on leaves of *B. napus* set in 1.5 % agar in Petri dishes (90 mm diameter). To obtain synchronized young adults, first instar nymphs were further kept in the same device for eight days. Every 2 days, they were transferred onto newly prepared Petri dishes containing freshly cut leaves of *B. napus*. For the nymph survival study, twenty groups of five first-instar nymphs were transferred onto the plantlets to be tested. These groups of aphid nymphs were enclosed in clip-cages on leaves at mid-height of each plantlet and their survival was recorded daily until they reached adulthood. The time to reach adulthood which corresponds to the time the first larviposition, *i.e.* the pre-reproductive period, is recorded for each individual aphid. Young adults were then randomly selected from the pool of surviving individuals and transferred onto the plantlets to be tested to study adult performance. Each adult aphid was individually placed into a clip-cage. Adult survival and the number of nymphs produced were daily recorded for a duration equivalent to the duration of pre-reproductive period. The newly larviposited individuals were daily removed with a brush to estimate the daily fecundity of each individual parent. For each combination aphid x virus tested, 23 to 39 aphids were used. The daily fecundity and intrinsic rate of natural increase (r_m) were calculated using the DEMP 1.5.2 software (Giordanengo, 2014). The intrinsic rate of natural increase (r_m) was calculated as $\sum e^{-r_m x} l_x m_x = 1$, where x is the age, l_x the age-specific survival, and m_x the mean number of female offspring produced in a unit of time by a female aged x (Birch 1948).

Statistical analyses

Mean values are given with their standard error of the mean (SEM). As aphid performance and feeding behaviour data were not normally distributed, they were analysed using a Kruskal-Wallis one-way analysis of variance (H), followed by multiple comparison tests using the R package 'nparcomp' (type: Tukey). Data on aphid retention and attraction were analysed using Mann-Whitney U test. Transmission efficiency of viruses by the two aphid species were analysed using the Chi-square test. All statistical analyses were carried out using the statistical program 'R' (version 3.2.2) (R Core Team 2015).

Results

Aphid transmission efficiency of TuYV and CaMV

To be able to correlate the aphid's behaviour on infected plants with the virus transmission efficiency, we conducted transmission experiments with the two aphid species using camelina infected either with TuYV or CaMV as virus sources. The transmission rate of TuYV was significantly higher for *M. persicae* than for *B. brassicae* (Chi-square test, $\chi^2 = 3.485$, $df = 28$, $P < 0.001$), while the transmission rate of CaMV was equal for both aphid species (Chi-square test, $\chi^2 = 2.824$, $df = 28$, $P = 0.093$) (Table 1).

Table 1. Transmission rates of Turnip yellows virus (TuYV) and Cauliflower mosaic virus (CaMV) by *Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae*

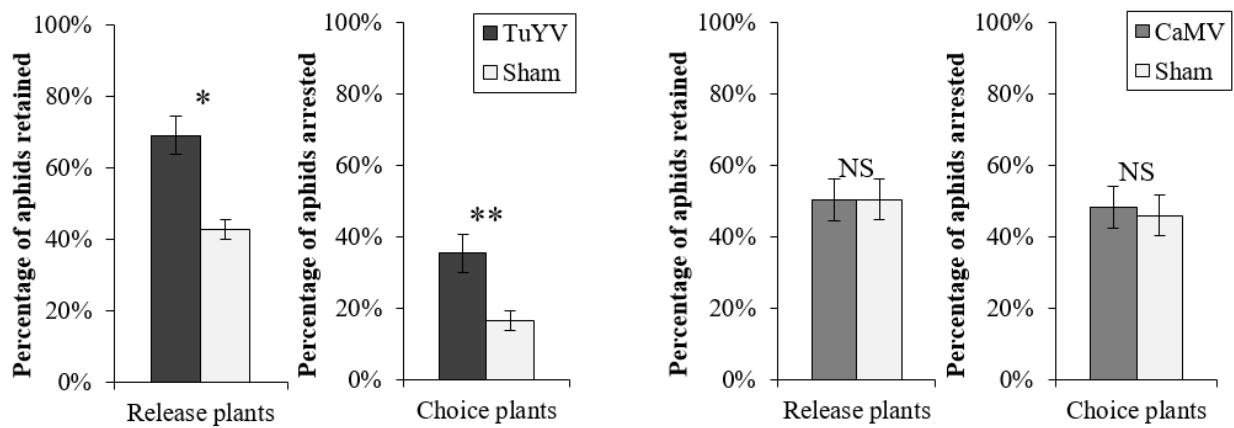
	Aphid species		Statistics
	<i>Myzus persicae</i>	<i>Brevicoryne brassicae</i>	
TuYV	13/15 (86.7 %) ^a	1/15 (6.7 %)	$\chi^2 = 3.485$, $df = 28$, $P < 0.001$
CaMV	13/15 (86.7 %)	9/15 (60.0 %)	$\chi^2 = 2.824$, $df = 28$, $P = 0.093$

a: number of plants infected after aphid inoculation/total number of plants tested. In brackets, the percentage of infected plants.

Plant-mediated effects of virus on aphids' preference tests

In these bioassays, we assessed the propensity of apterous aphids to leave a “release” plant, infected or non-infected, in order to settle on a “choice plant” of the opposite status. For *M. persicae*, 24-h after releasing the aphids, TuYV-infected “release” plants retained more aphids than non-infected “release” plants (Mann-Whitney *U* test, $U = 61$, $P = 0.031$) and TuYV-infected “choice” plants arrested more aphids than non-infected “choice” plants (Mann-Whitney *U* test, $U = 53$, $P = 0.008$) (Fig. 2a). For *B. brassicae*, 24-h after releasing the aphids, TuYV-infection of the “release” or the “choice” plants did not affect aphid movements (Mann-Whitney *U* tests, $P > 0.05$) (Fig. 2b). For both *M. persicae* and *B. brassicae*, 24-h after releasing the aphids, CaMV-infection of the “release” or the “choice” plants did not affect aphid movements (Mann-Whitney *U* tests, $P > 0.05$) (respectively, Fig. 2a and 2b).

a) *Myzus persicae*



b) *Brevicoryne brassicae*

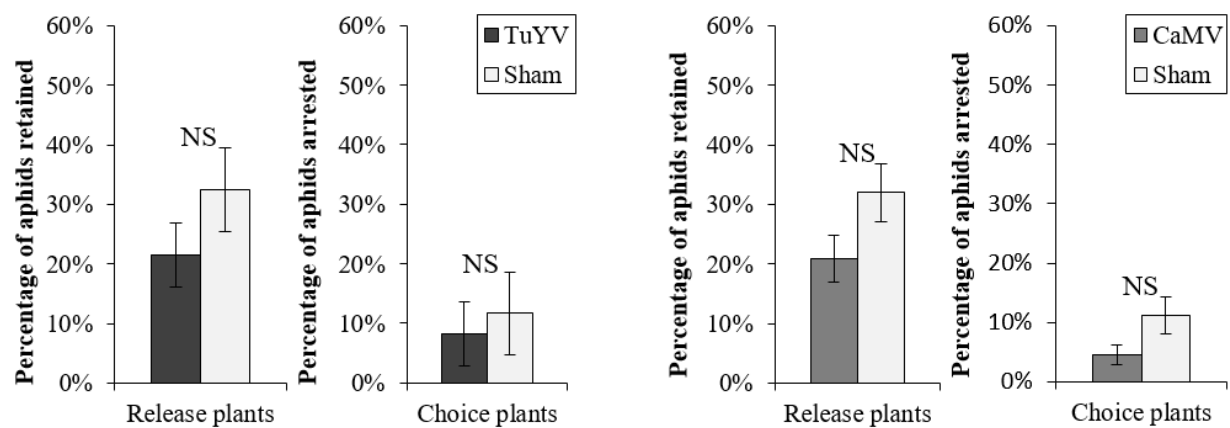
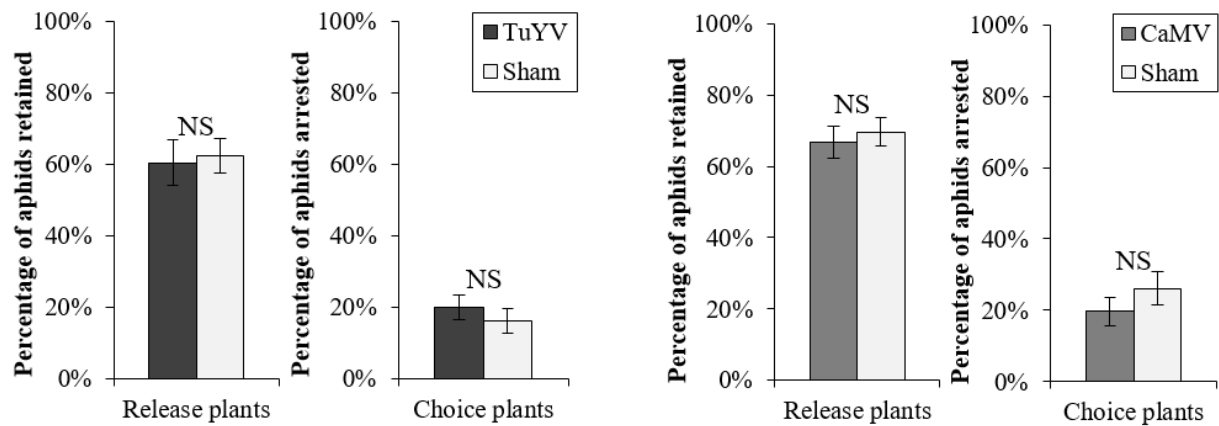


Fig. 2. Aphid behavioural responses to contact, volatile and visual cues of sham-inoculated (i.e. non-infected) and infected plants (either *Turnip yellows virus* TuYV or *Cauliflower mosaic virus* CaMV) after 24 hours. a) *Myzus persicae* and b) *Brevicoryne brassicae*. Ten aphids were allowed to disperse from leaves of a non-infected or infected “release plant” to an adjacent “choice plant” of the opposite disease status. Fifteen replicates were performed for each condition. Asterisks indicate significant differences (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$) associated with Mann-Whitney U test.

a) *Myzus persicae*



b) *Brevicoryne brassicae*

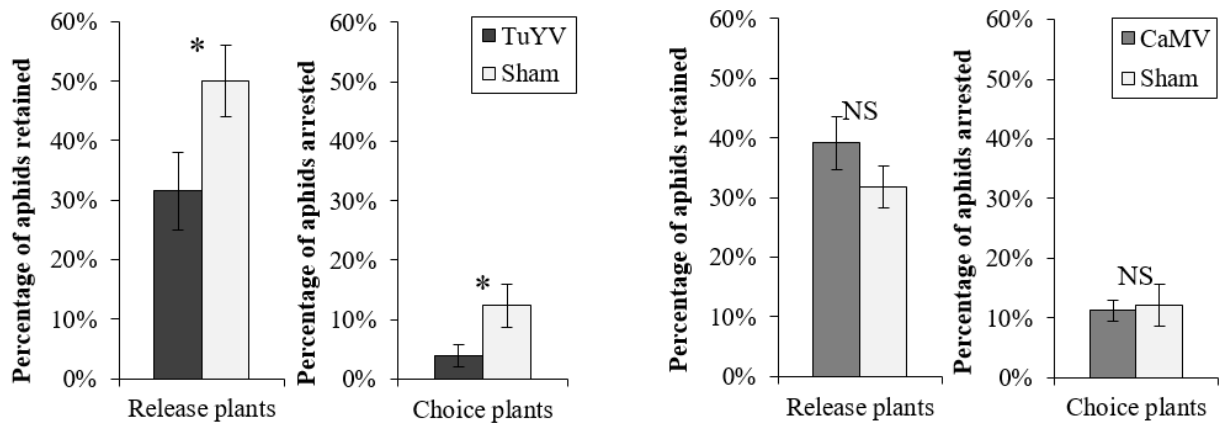


Fig. S1. Aphid behavioural responses to contact, volatile and visual cues of sham-inoculated (*i.e.* non-infected) and infected plants (either *Turnip yellows virus* TuYV or *Cauliflower mosaic virus* CaMV) after 2 hours. a) *Myzus persicae* and b) *Brevicoryne brassicae*. Ten aphids were allowed to disperse from leaves of a non-infected or infected “release plant” to a neighbouring “choice plant” of the opposite disease status. Fifteen replicates were performed for each condition. Asterisks indicate significant differences (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$) associated with Mann-Whitney U test.

Two hours after release, non-infected “release” plants retained more *B. brassicae* than TuYV-infected “release” plants (Mann-Whitney U test, $U=142$, $P=0.043$) and TuYV-infected “choice” plants arrested more *B. brassicae* than control “choice” plants (Mann-Whitney U test, $U=143$, $P=0.026$) (Fig. S1b). There were no differences observed 2-h after aphid release for *M. persicae*, for both TuYV and CaMV, or *B. brassicae* for CaMV (Mann-Whitney U tests, $P > 0.05$) (Fig. S1).

Plant-mediated effects of virus on aphids' feeding behaviour

There was a significant effect of virus plant infection on the total duration of phloem sap ingestion (E2) of both *M. persicae* and *B. brassicae* (Kruskal-Wallis H tests, $H = 24.445$, $df = 2$, $P < 0.001$ for *M. persicae* and $H = 6.549$, $df = 2$, $P = 0.038$ for *B. brassicae*) (Table 2). Phloem sap ingestion of *M. persicae* was two times longer on TuYV-infected plants and was slightly reduced on CaMV-infected plants compared to non-infected plants (Table 2). For *B. brassicae*, phloem sap ingestion was three times reduced on TuYV-infected plants compared to non-infected plants (Table 2). Although to a lesser extent, a significant reduction of phloem sap ingestion by *B. brassicae* was also observed on plants infected with CaMV compared to non-infected plants (Table 2).

Table 2. Total duration of phloem sap ingestion (E2) (minutes; means $\pm$ SEM) of *M. persicae* and *B. brassicae* calculated during an 8-h monitoring session on *Camelina sativa* plants infected by the *Turnip yellows virus* (TuYV), the *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) or sham-inoculated (*i.e.* non-infected) plants.

Aphid species	TuYV n=20			Sham-inoculated n=20			CaMV n=20			Statistics
<i>Myzus persicae</i>	117.195	$\pm$ 14.135	a	51.605	$\pm$ 6.452	b	41.457	$\pm$ 19.107	c	$H = 24.445, df = 2, P < 0.001$
<i>Brevicoryne brassicae</i>	37.059	$\pm$ 10.126	b	113.820	$\pm$ 25.318	a	86.767	$\pm$ 29.741	ab	$H = 6.549, df = 2, P = 0.038$

Within a row, different letters indicate significant differences between treatments (Kruskall-Wallis H test followed by multiple comparison tests type: Tukey).

Plant-mediated effects of virus on aphids' performance

There was a significant effect of virus infection on the pre-reproductive period (Kruskal–Wallis test, $H = 31.544$, $df = 2$, $P < 0.001$), the daily fecundity (Kruskal–Wallis test, $H = 19.842$, $df = 2$, $P < 0.001$) and the intrinsic rate of natural increase r_m (Kruskal–Wallis test, $H = 41.283$, $df = 2$, $P < 0.001$) of *M. persicae* (Table 3a). The pre-reproductive period was significantly shorter on plants infected with TuYV compared to non-infected or CaMV-infected plants (Table 3a). The daily fecundity of *M. persicae* was reduced on plants infected with CaMV compared to non-infected and TuYV-infected plants. Intrinsic rate of natural increase (r_m) of *M. persicae* was significantly higher on plants infected by TuYV and lower on CaMV-infected plants compared to non-infected plants (Table 3a).

There was also a significant effect of virus infection on the pre-reproductive period (Kruskal–Wallis test, $H = 8.280$, $df = 2$, $P = 0.016$), the daily fecundity (Kruskal–Wallis test, $H = 21.467$, $df = 2$, $P < 0.001$) and the r_m (Kruskal–Wallis test, $H = 42.807$, $df = 2$, $P < 0.001$) of *B. brassicae* (Table 3b). The pre-reproductive period was significantly longer on plants infected with TuYV compared to non-infected plants (Table 3b). The daily fecundity of *B. brassicae* was reduced on plants infected by CaMV and TuYV compared to non-infected ones. Intrinsic rate of natural increase of *B. brassicae* was lower on both TuYV and CaMV infected plants with a more pronounced effect on plants infected with CaMV (Table 3b).

Table 3. Mean ($\pm$ SEM) population parameter values of a) *Myzus persicae* and b) *Brevicoryne brassicae* reared on *Camelina sativa* plants infected by the Turnip yellows virus (TuYV), the Cauliflower mosaic virus (CaMV) or sham-inoculated (i.e. non-infected) plants.

a) <i>Myzus persicae</i>	TuYV				CaMV				Sham-inoculated				Statistics	
Parameter	n=39				n=34				n=39					
Pre-reproductive period (days)	7.923	±	0.113	b	9.235	±	0.164	a	8.897	±	0.159	a	<i>H</i> = 31.544, <i>df</i> = 2, <i>P</i> = 1.413e-07	
Daily fecundity	4.284	±	0.223	a	3.258	±	0.146	b	4.104	±	0.119	a	<i>H</i> = 19.842, <i>df</i> = 2, <i>P</i> = 4.914e-05	
<i>r_m</i>	0.297	±	0.006	a	0.242	±	0.005	c	0.269	±	0.005	b	<i>H</i> = 41.283, <i>df</i> = 2, <i>P</i> = 1.085e-09	
b) <i>Brevicoryne brassicae</i>	TuYV				CaMV				Sham-inoculated				Statistics	
Parameter	n=23				n=26				n=30					
Pre-reproductive period (days)	11.522	±	0.266	a	10.962	±	0.225	ab	10.000	±	0.384	b	<i>H</i> = 8.280, <i>df</i> = 2, <i>P</i> = 0.01592	
Daily fecundity	1.515	±	0.146	b	1.285	±	0.101	b	2.215	±	0.142	a	<i>H</i> = 21.467, <i>df</i> = 2, <i>P</i> = 2.18e-05	
<i>r_m</i>	0.144	±	0.008	b	0.117	±	0.008	c	0.221	±	0.009	a	<i>H</i> = 42.807, <i>df</i> = 2, <i>P</i> = 5.066e-10	

Within a row, different letters indicate significant differences between treatments (Kruskall-Wallis H test followed by multiple comparison tests type: Tukey).

Discussion

Table 4. Summary of virus transmission efficiency by aphid vectors and indirect plant-mediated effects of viruses on aphids depending on the virus transmission mode.

	Turnip yellows virus TuYV – PT circulative		Cauliflower mosaic virus CaMV – SPT non-circulative	
	Transmission efficiency	Plant-mediated effects	Transmission efficiency	Plant-mediated effects
<i>Myzus persicae</i> Polyphagous	Good	Positive	Good	Negative/neutral
<i>Brevicoryne brassicae</i> Brassicaceae specialist	Poor	Negative/neutral	Good	Negative/neutral

The purpose of this study was to better characterize how host-plant mediated effects of viruses on aphids are modulated by the various factors studied (virus transmission mode, virus transmission efficiency by vector and vector dietary specialization). Our results validate the hypothesis that these host-plant mediated effects on aphid vectors depend on both 1) the virus mode of transmission, either circulative or non-circulative and 2) the virus transmission efficiency of vectors. Plant-mediated effects of the SPT non-circulative CaMV were detrimental for the two CaMV efficient aphid vectors, *M. persicae* and *B. brassicae*, in terms of both feeding behaviour and intrinsic growth rate (r_m). Plant-mediated effects of the PT circulative TuYV benefited *M. persicae* retention, feeding and performances whereas *B. brassicae* suffered from TuYV infection (Table 4). Given this latter finding, indirect vector manipulation by viruses seems to apply only for efficient vectors. However, host-plant mediated effects remained unaffected by dietary specialization, since *M. persicae*, the polyphagous, and *B. brassicae*, the *Brassicaceae* specialist, responded similarly to CaMV-infected camelina.

For both aphid species, feeding behaviour and r_m were negatively affected through plant-mediated effects of the SPT non-circulative CaMV. Moreover, these deleterious alterations were strengthened by the moderate but consistent tendency of *B. brassicae* to emigrate from CaMV-infected plants (Fig. 2b). Those results are in accordance with our predictions stating that infection by non-circulative viruses, either SPT or NPT viruses, would tend to decrease host-plant quality for vectors and promote rapid vector dispersal. In our experiments, the feeding behaviour of the two aphids was compatible with efficient CaMV transmission, as the number of pd was important for both species (data not shown), promoting efficient virus acquisition. This set of effects on host–vector interactions (reduced host–plant quality for aphids, rapid aphid dispersal from infected to control plants) appear to be conducive to the transmission of non-circulative viruses that are efficiently transmitted when vectors briefly probe infected hosts, acquiring virions and then rapidly disperse. Moreover, our results suggest that SPT

viruses such as CaMV, for which receptors are located at the tip of aphid stylets (Uzest *et al.* 2007), should not be placed in the same category as PT viruses and should be considered as NPT viruses, when regarding their effects on host-vector interactions. As stated in a recent review by Mauck *et al.* (2016), the retention site of the virus within the vector (*i.e.* depending on the circulative vs. non-circulative category of virus) seems therefore to be a crucial criteria to take into account when studying virus indirect effects on vectors. However, as already mentioned by Mauck *et al.* (2012), more studies on SPT viruses will be needed to fill up knowledge on SPT plant-mediated effects on vectors.

Plant-mediated effects of the PT circulative TuYV benefited *M. persicae* in terms of both feeding behaviour and intrinsic growth rate. Furthermore, aphids also preferentially emigrated from non-infected than from infected plants, a situation already observed when aphids were subjected to plants infected with other members in the *Luteoviridae* family (Bosque-Pérez & Eigenbrode 2011). Indeed, *Potato leaf roll virus* (PLRV) and *Barley yellow dwarf virus* (BYDV), two members of the *Luteoviridae* family, triggered plant volatile emissions that attracted aphid vectors (Eigenbrode *et al.* 2002; Jimenez-Martinez *et al.* 2004). Moreover, these two viruses induced changes in plant sap quality that benefited aphid growth (Montllor & Gildow 1986; Castle & Berger 1993; Jiménez-Martínez *et al.* 2004). The two aphid vectors of BYDV, *Rhopalosiphum padi* and *Schizaphis graminum*, produced more offspring on BYDV-infected wheat (RPV-NY isolate of BYDV) and oats (BYDV strain PAV) (Montllor & Gildow 1986; Jiménez-Martínez *et al.* 2004), and *M. persicae* performed better on PLRV-infected potatoes (Castle & Berger 1993). Thus, PLRV and BYDV appear to induce changes in the phenotypic traits of their host plants that enhance vector attraction, settling and performance on infected plants. Similar patterns of such plant–vector interactions both in the literature and in our study appear favourable to the mode of transmission of PT circulative viruses (Ferreles & Moreno 2009; Mauck *et al.* 2012). However, concerning the second aphid species tested, *B. brassicae*, plant-induced phenotypic modifications by TuYV were detrimental regarding feeding behaviour and rm. These negative effects were strengthened by a higher emigration rate from TuYV-infected plants at 2h (Fig. S1). Some conflicting results have been observed with other members of the *Luteoviridae* family, such as a reduction of the vector intrinsic rate of increase of *Sitobion avenae* on wheat plants infected by either MAV or PAV BYDV strains (Fiebig, Poehling & Borgemeister 2004) suggesting that the beneficial effect of Luteovirus and Polerovirus infection on aphid vector may not apply for all vector-virus combinations.

Altogether, these results show that virus indirect effects on vectors are not only driven by the virus mode of transmission. Our studied pathosystem seems to support the idea that viruses affect differently vector and non-vector aphid species. Indeed, for the TuYV, plant-mediated effects were opposed on the two aphid species that exhibit opposite transmission efficiency, *M. persicae* being an efficient vector whereas *B. brassicae* a poor/null one. On the other hand, plant-mediated effects (decreased aphid settling and performances on infected-plants) were similar for the CaMV which is efficiently transmitted by both aphid species. Although those differences between responses of vectors and non-vectors to viral

infection have been poorly studied until now, some studies have shown similar patterns. The PT circulative SRBSDV infection on rice plants had no effect on a planthopper non-vector (He *et al.* 2014) but affected its vector (Tu *et al.* 2013). A positive correlation was also highlighted between the NPT non-circulative PVY transmission efficiency by five aphid species (from non-vector to efficient ones) and the duration of their phloem sap ingestion phases (Boquel *et al.* 2011, 2012). More recently, Su *et al.* (2016) revealed that the PT circulative Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV, *Begomovirus*) influenced differently the performances of its vector (*Bemisia tabaci*) and a non-vector herbivore (*Tetranychus urticae*). A suppression of JA-mediated responses was observed in the TYLCV-infected plants, which enhanced vector performances.

We also hypothesized that virus plant-mediated effects on vectors may additionally be modulated depending on the dietary specialization of aphids. In accordance with the work of Hodgson (1981) on the NPT non-circulative TuMV, the PT circulative TuYV-infected plants induced divergent effects on the polyphagous aphid, *M. persicae*, and the Brassica specialist, *B. brassicae*. However, this was not the case for the SPT non-circulative CaMV infected plants which induced similar effects on both aphid vectors. Therefore, the dietary specialization of aphid does not seem to play a key role in the indirect manipulation by viruses.

Our study focused on indirect plant-mediated vector-manipulation by viruses but recent studies have highlighted that direct vector-manipulation by viruses may also occur through the alteration of the behaviour of viruliferous vectors (Ingwell *et al.* 2012; Moreno-Delafuente *et al.* 2013). Up to date, these effects have been shown only for PT circulative viruses. In light of our study and previous ones, it would be interesting to extend these types of investigations to SPT and NPT non-circulative viruses that should exert less important or null direct effects on vectors as they interact less strongly with vectors.

Besides, it would be noteworthy to investigate how a virus can indirectly manipulate its vector depending on the host plant species (e.g. Mauck *et al.* (2014)). Most studies, ours included, have used agriculturally relevant pathosystems (*i.e.* including cultivated plants). However, wild and natural plant communities, such as weeds, are likewise subjected to plant viruses that may not cause the typical visual symptoms but are nevertheless likely to induce changes in plant chemistry also influencing interactions with vectors (Duffus 1971; Wisler & Norris 2005; Roossinck *et al.* 2010; Alexander *et al.* 2014).

References

- Adams, A.N. & Clark, M.F. (1977) Characteristics of the Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology*, **34**, 475–483.
- Alexander, H.M., Mauck, K.E., Whitfield, A.E., Garrett, K. A. & Malmstrom, C.M. (2014) Plant-virus interactions and the agro-ecological interface. *European Journal of Plant Pathology*, **138**, 529–547.
- Belliure, B., Janssen, A., Maris, P.C., Peters, D. & Sabelis, M.W. (2005) Herbivore arthropods benefit from vectoring plant viruses. *Ecology Letters*, **8**, 70–79.
- Birch, L.C. (1948) The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *Journal of Animal Ecology*, **17**, 15–26.
- Boquel, S., Ameline, A. & Giordanengo, P. (2011) Assessing aphids potato virus Y-transmission efficiency: A new approach. *Journal of Virological Methods*, **178**, 63–67.
- Boquel, S., Delayen, C., Couty, A., Giordanengo, P. & Ameline, A. (2012) Modulation of Aphid Vector Activity by Potato virus Y on In Vitro Potato Plants. *Plant Disease*, **96**, 82–86.
- Bosque-Pérez, N.A. & Eigenbrode, S.D. (2011) The influence of virus-induced changes in plants on aphid vectors: insights from luteovirus pathosystems. *Virus research*, **159**, 201–205.
- Castle, S.J. & Berger, P.H. (1993) Rates of growth and increase of *Myzus persicae* on virus-infected potatoes according to type of virus-vector relationship. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **69**, 51–60.
- Duffus, J.E. (1971) Role of Weeds in the Incidence of Virus Diseases. *Annual Review of Phytopathology*, **9**, 319–340.
- Eigenbrode, S.D., Ding, H., Shiel, P. & Berger, P.H. (2002) Volatiles from potato plants infected with potato leafroll virus attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (Homoptera: *Aphididae*). *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, **269**, 455–460.
- Fereres, A. & Moreno, A. (2009) Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. *Virus Research*, **141**, 158–168.
- Fereres, A., Perez, P., Gemenio, C. & Ponz, F. (1993) Transmission of Spanish Pepper- and Potato-PVY Isolates by Aphid (Homoptera: *Aphididae*) Vectors: Epidemiological Implications. *Environmental Entomology*, **22**, 1260–1265.
- Fiebig, M., Poehling, H.-M. & Borgemeister, C. (2004) Barley yellow dwarf virus, wheat, and *Sitobion avenae*: a case of trilateral interactions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **110**, 11–21.
- Giordanengo, P. (2014) EPG-Calculator: a PHP-based script to calculate electrical penetration graph (EPG) parameters. *Arthropod-Plant Interactions*, **8**, 163–169.

- He, X., Xu, H., Gao, G., Zhou, X., Zheng, X., Sun, Y., Yang, Y., Tian, J. & Lu, Z. (2014) Virus-Mediated Chemical Changes in Rice Plants Impact the Relationship between Non-Vector Planthopper *Nilaparvata lugens* Stål and Its Egg Parasitoid *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang (ed Y Zhang). *PLoS ONE*, **9**, e105373.
- Hodgson, C.J. (1981) Effects of infection with the cabbage black ringspot strain of *turnip mosaic virus* on turnip as a host to *Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae*. *Annals Applied Biology*, **98**, 1–14.
- Holmes, J.C. & Bethel, W.M. (1972) Modification of intermediate host behavior by parasites. Behavioural aspects of parasite transmission. (eds E.U. Canning & C.A. Wright), pp. 123–147. Academic Press, London, UK.
- Hurd, H. (2003) Manipulation of Medically Important Insect Vectors by Their Parasites. *Annual Review of Entomology*, **48**, 141–161.
- Ingwell, L.L., Eigenbrode, S.D. & Bosque-Pérez, N.A. (2012) Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. *Scientific Reports*, **2**, 1–6.
- Jiménez-Martínez, E.S., Bosque-Pérez, N.A., Berger, P.H. & Zemetra, R.S. (2004) Life History of the Bird Cherry-Oat Aphid, *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: *Aphididae*), on Transgenic and Untransformed Wheat Challenged with *Barley yellow dwarf virus*. *Journal of Economic Entomology*, **97**, 203–212.
- Jimenez-Martinez, E.S., Bosque-Pérez, N.A., Berger, P.H., Zemetra, R.S., Ding, H. & Eigenbrode, S.D. (2004) Volatile Cues Influence the Response of *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: *Aphididae*) to *Barley Yellow Dwarf Virus*-Infected Transgenic and Untransformed Wheat. *Environmental Entomology*, **33**, 1207–1216.
- Lefèvre, T., Koella, J.C., Renaud, F., Hurd, H., Biron, D.G. & Thomas, F. (2006) New prospects for research on manipulation of insect vectors by pathogens. *PLoS Pathogens*, **2**, 633–635.
- Leiser, R.M., Ziegler-Graff, V., Reutenauer, A., Herrbach, E., Lemaire, O., Guilley, H., Richards, K. & Jonard, G. (1992) Agroinfection as an alternative to insects for infecting plants with *beet western yellows luteovirus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **89**, 9136–40.
- Mauck, K.E., Bosque-Pérez, N.A., Eigenbrode, S.D., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2012) Transmission mechanisms shape pathogen effects on host-vector interactions: evidence from plant viruses (ed C Fox). *Functional Ecology*, **26**, 1162–1175.
- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2010) Deceptive chemical signals induced by a plant virus attract insect vectors to inferior hosts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 3600–3605.

- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2014) Evidence of Local Adaptation in Plant Virus Effects on Host-Vector Interactions. *Integrative and Comparative Biology*, **54**, 193–209.
- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2016) Effects of pathogens on sensory-mediated interactions between plants and insect vectors. *Current Opinion in Plant Biology*, **32**, 53–61.
- McElhany, P., Real, L.A. & Power, A.G. (1995) Vector Preference and Disease Dynamics : A Study of *Barley Yellow Dwarf Virus*. *Ecology*, **76**, 444–457.
- Montllor, C.B. & Gildow, F.E. (1986) Feeding responses of two grain aphids to *barley yellow dwarf virus*-infected oats. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **42**, 63–69.
- Moreno-Delafuente, A., Garzo, E., Moreno, A. & Fereres, A. (2013) A Plant Virus Manipulates the Behavior of Its Whitefly Vector to Enhance Its Transmission Efficiency and Spread (ed M Ghanim). *PLoS ONE*, **8**, e61543.
- Palacios, I., Drucker, M., Blanc, S., Leite, S., Moreno, A. & Fereres, A. (2002) *Cauliflower mosaic virus* is preferentially acquired from the phloem by its aphid vectors. *Journal of General Virology*, **83**, 3163–3171.
- R Core Team. (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, URL <https://www.R-project.org/>.
- Roossinck, M.J., Saha, P., Wiley, G.B., Quan, J., White, J.D., Lai, H., Chavarría, F., Shen, G. & Roe, B.A. (2010) Ecogenomics: Using massively parallel pyrosequencing to understand virus ecology. *Molecular Ecology*, **19**, 81–88.
- Sisterson, M.S. (2008) Effects of Insect-Vector Preference for Healthy or Infected Plants on Pathogen Spread: Insights from a Model. *Journal of Economic Entomology*, **101**, 1–8.
- Su, Q., Mescher, M.C., Wang, S., Chen, G., Xie, W., Wu, Q., Wang, W. & Zhang, Y. (2016) Tomato yellow leaf curl virus differentially influences plant defence responses to a vector and a non-vector herbivore. *Plant, Cell and Environment*, **39**, 597–607.
- Tjallingii, W.F. (1988) Electrical recording of stylet penetration activities. Aphids: Their Biology, Natural Enemies and Control. World Crop Pests. Elsevier, pp. 95–108. Amsterdam, The Netherlands.
- Tjallingii, W.F. & Hogen Esch, T. (1993) Fine structure of aphid stylet routes in plant tissues in correlation with EPG signals. *Physiological Entomology*, **18**, 317–328.
- Tu, Z., Ling, B., Xu, D., Zhang, M. & Zhou, G. (2013) Effects of southern rice black-streaked dwarf virus on the development and fecundity of its vector, *Sogatella furcifera*. *Virology Journal*, **10**, 145.
- Uzest, M., Gargani, D., Drucker, M., Hebrard, E., Garzo, E., Candresse, T., Fereres, A. & Blanc, S. (2007) A protein key to plant virus transmission at the tip of the insect vector stylet. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 17959–17964.

Wisler, G.C. & Norris, R.F. (2005) Interactions between weeds and cultivated plants as related to management of plant pathogens. *Weed Science*, **53**, 914–917.

Étude 2 : Effets des phytovirus sur un système tri-trophique

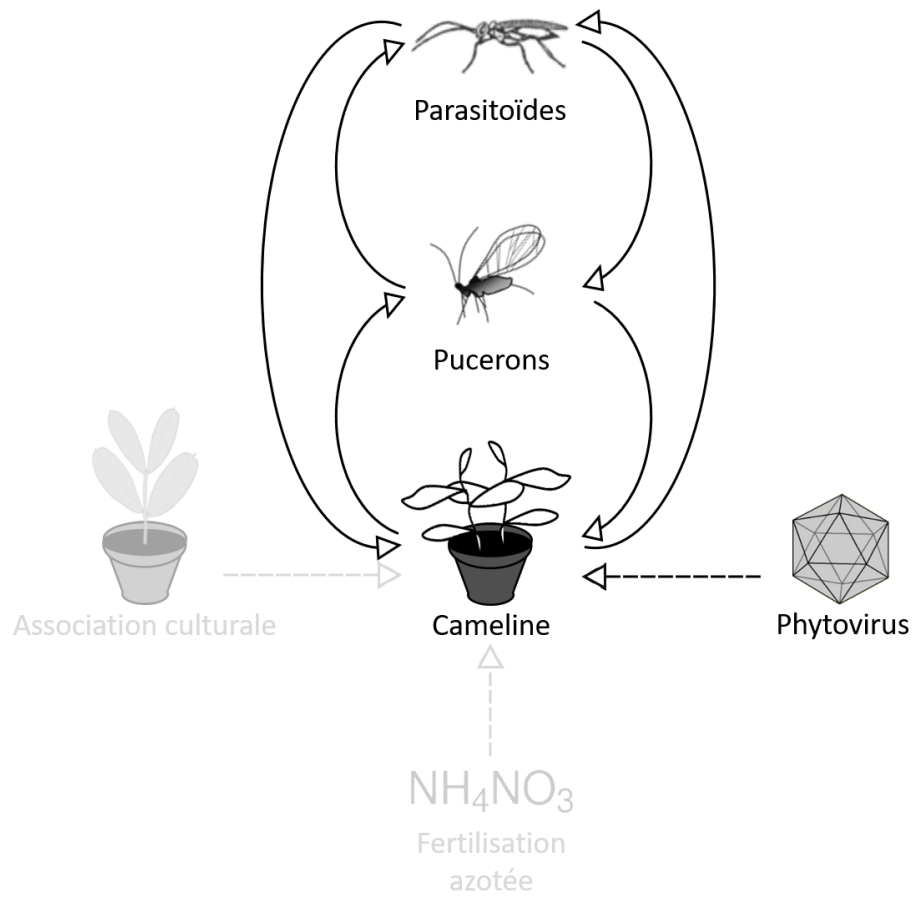


Fig. 19. Influence d'un virus sur les relations tri-trophiques cameline-puceron-parasitoïde.

Présentation de l'étude et principaux résultats :

L'influence des phytovirus au sein des systèmes plante/puceron-vecteur/ennemi naturel, et notamment sur la physiologie et le comportement des troisièmes niveaux trophiques, n'a été que rarement étudiée. L'étude précédente ayant mis en évidence des effets positifs d'une infection virale sur la population de puceron vecteur et par conséquent sur la propagation du virus, nous voulions évaluer la possibilité qu'un ennemi naturel puisse contrecarrer la dynamique observée. Cette étude s'est donc focalisée sur l'incidence de l'infection virale sur la régulation « bottom-up » des deux niveaux trophiques supérieurs, et plus particulièrement les parasitoïdes de pucerons ; les conséquences sur la régulation « top-down » ont alors été envisagées.

Nous avons testé l'hypothèse qu'un phytovirus transmis par des pucerons peut modifier l'attraction d'un parasitoïde par une plante et/ou des pucerons infectés, au sein d'un système d'étude constitué du virus persistant *Turnip yellows virus* (TuYV), de la plante *Camelina sativa*, du puceron-vecteur *Myzus persicae* et du parasitoïde *Aphidius colemani* (**Fig. 19.**). Nous avons également quantifié l'influence de ce virus sur les traits d'histoire de vie et les traits physiologiques des plantes, du puceron et de son parasitoïde.

Les tests de choix réalisés en cage ont montré une attraction similaire des parasitoïdes pour des plantes saines et infectées, et des taux d'attaque similaires sur pucerons élevés sur plante infectée ou élevés sur plante saine. Ces résultats indiquent que le virus TuYV n'affecte pas le comportement de sélection de l'hôte par les parasitoïdes. Nous avons cependant observé une réduction de la taille, du taux de développement, de la fécondité et de la teneur en lipides des parasitoïdes femelles lorsqu'elles se développent dans des pucerons élevés sur plantes infectées. Cette réduction des traits liés à la fitness pourrait être expliquée par la plus petite taille des pucerons hôtes élevés sur plantes infectées. L'altération de la qualité de la plante pour les pucerons serait due à une activité photosynthétique et une taille réduites des plantes infectées.

La présence du virus TuYV dans les agrosystèmes pourrait donc réduire le contrôle biologique des pucerons par les parasitoïdes, qui ne semblent pas discriminer un hôte virulifère (s'étant développé sur une plante infectée) réduisant leurs performances et un puceron sain (s'étant développé sur une plante saine). Les conséquences agronomiques et épidémiologiques pourraient être importantes puisque ce virus altère la régulation « bottom-up » en modifiant positivement la qualité de la plante pour le puceron-vecteur mais négativement la qualité du puceron-hôte pour le parasitoïde. Par conséquent, la dissémination vectorielle du virus devrait être favorisée par une augmentation de la population en puceron-vecteur et une diminution du parasitisme.

Article n°5:

Plant virus influences bottom-up regulations in a plant-aphid-parasitoid system.

(Article soumis dans *Oecologia*)

Moiroux J., Q. Chesnais, F. Spicher, E. Verrier, A. Ameline & A. Couty.

FRE CNRS 3498 EDYSAN, Université de Picardie Jules Verne, 33 rue St Leu, F-80039 Amiens Cedex, France.

Running title: Influence of a plant virus on tri-trophic system

Key words: Tri-trophic system, Plant physiology, Insect physiology, Parasitoid behaviour, Photosynthesis, Vector, Pathogen.

Summary statement: Plant virus negatively influenced parasitoid fitness by modifying plant and aphid physiology, but not its foraging behaviour.

Abstract

Plant viruses strongly influence physiology of their host plants and phytophagous insect vectors, and can mediate interactions between them. Despite the important role of natural enemies on vectors regulation and thus on virus dissemination, influence of plant viruses on the third trophic level received little attention. We investigated how the infection of the Brassicaceae *Camelina sativa* by the *Turnip yellows virus* (TuYV) could influence host plant, aphid vector (*Myzus persicae*) and aphid parasitoid *Aphidius colemani* through bottom-up effects on the physiology of the three trophic levels. We also considered the behavioural responses of *A. colemani* towards control and infected plant-aphid complexes. TuYV infection resulted in (i) decreased photosynthetic activity and biomass in *C. sativa*, (ii) an improvement of some aphid parameters important for virus dissemination (*i.e.* better survival and shorter pre-reproductive period), but (iii) a decrease in aphid parameters influencing parasitoid fitness (*i.e.* lower body size and quantity of energetic resources). These latter effects probably explained the lower body size, fecundity and lipid content observed in parasitoids developing in aphids reared on infected plants; underlining the importance of virus infection on bottom-up regulations in tri-trophic systems. Despite a decreased fitness in wasps developing in viruliferous aphids, females showed similar attraction towards control and infected plants, and similar attack and rejection rates towards control and viruliferous aphids. Our results suggest that in agrosystems, virus presence may reduce parasitoid abundance and consequently biological control of aphid vectors, impacting virus dissemination and thus damages on plants.

Introduction

Plant viruses have strong and various negative effects on host physiology, such as an accelerated demise of the photosynthetic apparatus (Balachandran et al., 1997) and the accumulation of nitrogen compounds or expanded oxidase activities (Culver and Padmanabhan, 2007), and are a major cause of yield losses throughout the world (Strange et al., 2005). Phytoviruses are mainly transmitted by insect hemipteran vectors - more than 55% of the >700 known phytoviruses (Nault, 1997), 30% by aphids (Brault et al., 2010) - and these associations generally result from a tight co-evolution (Mauck et al., 2014a). Thus, viruses can alter plant-vector interactions to increase their own dissemination, through visual and chemical modifications of infected hosts phenotypes (for a review, see Blanc and Michalakakis, 2016). Eigenbrode et al. (2002) observed for example changes in volatile emissions of potatoes infected by a persistently-transmitted virus, the *Potato leafroll virus* PLRV (*Poterovirus*), which resulted in preferential colonisation of the virus-infected plantlets by the principal vector, the aphid *Myzus persicae*. Moreover this virus, as well as the majority of viruses transmitted in a persistent manner (for reviews, see Fereres and Moreno, 2009; Mauck et al., 2012; Blanc and Michalakakis, 2016), is known to increase the quality of the host plants for their vectors, conferring them increased fecundity and/or shorter development time (Castle and Berger, 1993), and consequently increasing virus own dispersal rate by enhancing vectors' population.

Studies on tri-trophic interactions involving plant viruses, aphid vectors and natural enemies have mostly focused on top-down effects. Originally, aphid parasitoids were thought to limit dissemination of viruses by limiting aphid populations (Mackauer and Chow, 1986) but there has been increasing evidence that the presence of a parasitoid or parasitism itself improve virus dispersal through an increase in aphid's movements (Weber et al., 1996; Hodge and Powell, 2008; Hodge et al., 2011).

Studies of the effects of plant viruses on bottom-up regulations have mainly been restricted to plant-aphid systems and little attention has been paid to tri-trophic systems integrating parasitoids. Viruses may induce direct effects of plants on parasitoids behaviour but authors failed to observe any difference in parasitoid attraction towards odours of non-infected and virus-infected plants (Mauck et al., 2015). Indirect effects of infected-plants mediated by the aphid-host may also occur. Indeed, Mauck et al. (2015) and Christiansen-Weniger et al. (1998) observed respectively an increased and a decreased emergence rate of parasitoids developing in viruliferous aphids while de Oliveira et al. (2014) showed no effects. Christiansen-Weniger et al. (1998) also observed that parasitoid development was delayed when *Aphidius ervi* developed in *Sitobion avenae* infected by the *Barley yellow dwarf virus* BYDV (*Luteovirus*). Such effects on parasitoid fitness may modulate behavioural decisions made by females facing control or viruliferous aphids. De Oliveira et al. (2014) observed that aphids infected by the *Cereal yellow dwarf virus* (CYDV, RPV isolate) were more frequently attacked by *Aphidius colemani* females than control aphids although they were not emitting attractive odors for parasitoid female. They proposed that this observation may be the consequence of indirect effects of the virus which would alter

aphid physiology and/or behaviour in a way that would make them more acceptable or suitable for parasitic wasps.

In the present study, we investigated the bottom-up effects of a plant virus on a plant-aphid-parasitoid tri-trophic system. We measured parameters linked to plant physiology (photosynthesis, stomatal conductance, chlorophyll content index and biomass), aphid performances and fitness (reproductive parameters, body size and energetic resources stored in their bodies) and parasitoid fitness-related traits (emergence rate, tibia size, fecundity and energetic resources stored in their bodies). We also measured effects of plant and aphid infection on parasitoid host selection behaviour. We focused on a persistent, circulative and non-propagative *Polerovirus*, the *Turnip yellows virus* (TuYV), also known as the *Beet western yellow virus* (BWYV). This virus, which has been reported in Europe, USA and Australia (Stevens et al., 2008), can infect plant species from at least 13 families, including many species of agronomic importance such as oilseed rape or lettuce (Walkey and Pink, 1990), and may be responsible for yield losses of up to 46% in *Brassica napus* (Jones et al., 2007). Among those host species, we focused on *Camelina sativa*, a Brassicaceae which was an important cultivated oil crop in temperate Europe until the nineteenth century and which has recently been re-introduced because its oil offers good opportunities as a biofuel and as functional food (Faure and Tepfer, 2016). Many common aphid species are able to transmit the TuYV from plant to plant and we studied its main vector, the generalist green peach aphid *Myzus persicae* (Stevens et al., 1995) for which transmission rates of over 90% have been experimentally reported (Schliephake et al., 2000). Among the natural enemies used to limit *Myzus persicae* populations, *Aphidius colemani* is a cosmopolitan parasitoid commercially available as a biocontrol agent (Boivin et al., 2012) and was used in this study. We thus investigated the influence of TuYV on its host *Camelina sativa*, its vector *Myzus persicae* and the parasitoid *Aphidius colemani* and provide the first study integrating physiological approaches on the three trophic levels and a behavioural approach on the parasitoid.

Materiels and Methods

Plants, insects and virus

Seeds of camelina *Camelina sativa* cv. “Celine” (Brassicales: *Brassicaceae*) were provided by the technical institute in agronomy Terres Inovia (Thiverval-Grignon, France). Plants were cultivated in plastic pots (90×90×90mm) containing commercial sterilised potting soil in a growth chamber under $20 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity (RH), and 16L:8D photoperiod at 2.5 klux.

The green peach aphid *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: *Aphididae*) colony was established from one parthenogenetic female collected in 1999 in a potato field in the vicinity of Loos-en-Gohelle (France). Aphids were reared on rapeseed *Brassica napus* cv. “Adriana” (Brassicales: *Brassicaceae*). Pots (90×90×90mm) containing each 3-4 rapeseed plants were placed in ventilated plastic cages

(360x240x110mm) and maintained in a climate chamber at $20 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity (RH), and 16L:8D photoperiod at 2.5 klux. Aphid clones were used to minimise intraspecific variability. Synchronised second instar aphids were used in the experiments with parasitoids. They were obtained by transferring adult aphids from the colony to a Petri dish ($\varnothing 90\text{mm}$) containing a control *C. sativa* leaf set in 1.5 % agar. Then, their progeny was removed twice a day and transferred and maintained until the experiments onto control or virus infected *C. sativa* plantlets placed in ventilated cages in similar conditions than the colony.

Our *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: *Aphidiinae*) colony was established from mummies purchased from Viridaxis S.A. (Gosselies, Belgium). Those mummies were isolated in plastic tubes (L=75mm, $\varnothing 10\text{mm}$) placed in a climate chamber at $20 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity (RH), and 16L:8D photoperiod at 2.5 klux. Upon emergence, parasitoids were sexed and fed *ad libitum* with a water-honey solution (50% vol/vol) for 48h. After that time, each female was allowed to mate with two males for 4h in a Petri dish ($\varnothing 45\text{mm}$). Those standardised F0 parasitoid females (*i.e.*, 3-5 days-old, mated with no oviposition experience) were then used to produce F1 parasitoid females which allowed us to investigate the plant-mediated and aphid-mediated effects of TuYV on parasitoids' life history traits and behaviour.

The Turnip yellows virus (TuYV, *Luteoviridae*) (Leiser *et al.* 1992) used in our experiment was provided by Véronique Ziegler-Graff at IBMP-CNRS (Strasbourg, France) and maintained in *Montia perfoliata* (Caryophyllales: *Portulacaceae*). *Camelina sativa* plants were inoculated with TuYV by placing five viruliferous aphids on a single 7 day-old camelina plant for a three days inoculation period. Viruliferous aphids were obtained by placing them for 24 hours on infected *M. perfoliata*. Sham-inoculated plants (*i.e.* control plants) were treated in the same manner using control aphids (*i.e.* non-viruliferous aphids), and were therefore not infected with the virus. For all of bioassays described below, plants were used three weeks after virus inoculation or sham inoculation. The TuYV infection status of plants was confirmed visually (smaller plants, reddening/yellowing leaf margins, interveinal discoloration) and using double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay using polyclonal antibodies produced by LOEWE (Clark and Adams, 1977).

Effects of TuYV on plants

Plant physiology. Physiological traits of ten control and TuYV-infected plants were measured on the third fully expanded leaf from bottom of a same plant, at 21 and 29 days after inoculation to cover the duration of the presence of aphids on the plant. Net assimilation rate of CO_2 (A_n) and stomatal conductance (g_s) to water were assessed using the 2 cm^2 leaf chamber LCF LI6400-40 linked to the portable photosynthesis system LI-6400 (LICOR Biosciences, Lincoln, Nebraska, USA). Before each measurement, leaves were acclimated during 15-20 minutes at $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ of photosynthetically active photons flux density (PPFD). Both parameters were measured in the same environmental

conditions: 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ of CO_2 , leaf temperature at 25°C and PPFD at saturating light considering previous measurements (data not shown), i.e. 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The chlorophyll content index (CCI) was measured with CCM200 (Opti-Sciences, Tyngsboro, Massachusetts, USA) in growth chamber conditions.

Biomass. Twenty control and TuYV-infected plants were harvested at soil level 21 and 29 days after inoculation, and their fresh above-ground biomass was measured.

Plant-mediated effects of TuYV on aphids' life history traits

Aphid performances. Pools of synchronised first instar (<24h) aphids were obtained from parthenogenetic adult females placed on *Brassica napus* leaves set in 1.5 % agar in Petri dishes (Ø90 mm). To measure nymph survival rate, twenty groups of five first instar aphids per treatment were transferred onto control or virus-infected *C. sativa* plantlets. These groups of aphids were enclosed in clip cages on leaves at mid-height of each plantlet and their survival was recorded every day until they reached adult stage. After that time, thirty individuals per treatment were placed individually in a clip-cage on control or virus-infected plantlets to measure adult aphid performance. Their survival was checked every day and newly larviposited aphids were counted and removed with a brush. This last procedure allowed us to estimate the duration of the pre-reproductive period and to measure fecundity of each adult, which was assessed daily for a time equivalent to the duration of the pre-reproductive period (Hackett et al., 2013; Pointeau et al., 2013).

Aphid body size. In parallel, aphids were reared on control or virus-infected plants and twenty 2-days and 8-days old aphids per treatment were sampled and photographed under a stereomicroscope (LEICA M165C). Their body size was then measured from the tip of the head to the base of the cauda using the analysis software ImageJ (Schneider et al. 2012).

Aphid lipid quantity and content. Lipid quantity of thirty aphids per treatment was measured using a chloroform-methanol extraction, as described in Moiroux et al. (2010). Briefly, thirty 8-days old aphids previously placed at -80°C were dried at 40°C for three days in an air oven and weighed with a Metler Toledo M3 microbalance (Max= 3g; Low=1 μg ; T=-3G; [dd]=1 μg). These individuals were then placed for two weeks in a Chloroform-Methanol solution (2:1) and dried again at 40°C for one day before being weighed. Lipid quantity and lipid content were respectively calculated as the difference between dry mass after and before lipid extraction and as the ratio between lipid quantity and lean dry mass.

Aphid sugar quantity and content. Sugar content was measured on thirty 8-days old aphids per treatment using a colorimetric analysis developed by Giron et al. (2002). Aphids were individually placed in Eppendorf tubes with 40 μL of Ringer solution and crushed with a plastic pestle in 300 μL of methanol. After centrifugation for 15 minutes at 4°C and 1400 rpm, we added 150 μL of chloroform and 60 μL of 2% sodium sulphate solution to the tubes which were vortexed and stored at 4°C during one night. The next day, tubes were again centrifuged for 15 minutes at 1400 rpm. We then transferred 150 μL of the

supernatant to other tubes which were heated at 90°C on aluminium block and removed before complete evaporation. We then added 1 ml of anthrone reagent in tubes, heated them for 15 min at 90°C and cooled them down on ice for 5 min. The absorbance was read at 620 nm with a spectrophotometer. We used glucose to establish the calibration curve for sugars.

Plant-mediated and aphid-mediated effects of TuYV on parasitoid life history traits

Emergence rate. Twenty standardised F0 parasitoid females were allowed to parasitise each twenty synchronised second instar aphids placed in a Petri dish (Ø90 mm) pierced on its side to allow introduction of a fresh *C. sativa* leaf. Parasitoids were continuously observed until they left the leaf for more than one minute or when they did not move for more than five minutes, and the number of attacks was recorded. An attack was noted when a parasitoid female bended its abdomen and touched the aphid with its ovipositor. Parasitised aphids were then respectively reared on control plants or on virus-infected plants until parasitoid emergence. We were thus able to calculate an emergence rate, which corresponded to the number of emerging parasitoids divided by the number of attacked aphids by a female.

Body size, fecundity and lipid content. Standardised F0 females were placed separately in a Petri dish (Ø90 mm) and were offered 25 synchronised second instar control aphids placed on a control *C. sativa* leaf set in 1.5 % agar for one hour. Parasitised aphids were then equitably transferred on control or virus-infected *C. sativa* plants until mummification. Mummies were isolated in gelatine capsules and emergence was checked twice a day, at 9:00 am and 7:00 pm to calculate development time, from oviposition until emergence. Upon emergence, fifty virgin females (<1hour-old) were placed at -80°C for each treatment. The left hind tibia and the left wing of twenty-five of those individuals were photographed and measured using the analysis software ImageJ. These females were then dissected in a drop of PBS solution under a binocular (x40, Leica M165C). Ovaries were both removed and the number of mature eggs was counted. The lipid quantity and content of twenty remaining parasitoid females per treatment were measured using the same procedure than for aphids.

Plant-mediated and aphid-mediated effects of TuYV on parasitoid behaviour

Plant attraction. Preference of F1 *A. colemani* females for control or virus-infected plants, with or without aphids, was assessed using dual choice tests. To obtain these F1 females, standardized F0 parasitoid females were offered second instar *M. persicae* placed on a *C. sativa* leaf set in 1.5 % agar in a Petri dish (Ø45mm) for one hour. Parasitised aphids were transferred in ventilated plastic cages containing *C. sativa* plantlets in rearing conditions until emergence of F1 females, which were fed *ad libitum* with a water-honey solution (50% vol/vol) for 48h and allowed to mate with two males for 4h in a Petri dish before experiments. In a first test, parasitoid preference was assessed using only plants, while in a second test, twenty second instar aphids reared on control or virus-infected plants were respectively placed on control or virus-infected plants. Females were placed with a paintbrush on a take-off platform in the centre of a ventilated plastic chamber (360x240x110 mm) inside which control and

virus-infected plants were placed 30 cm apart on opposite sides. In order to ensure that parasitoids were exposed to similar amounts of VOCs emitted by each side, we standardised plants biomass (Chesnais et al., 2015). The first pot contained one control plant while the second pot contained three virus-infected plants. Parasitoids were continuously observed until they landed on a first plant, and their choice was noted. Parasitoids which did not leave the platform or which did not land on a plant after 30 minutes were discarded from analyses. Four plastic chambers were observed at a same time in a climate room ($20\pm1^{\circ}\text{C}$, $60\pm5\%$ RH) and control and virus-infected plants were switched every replicate ($n=20$ for each combination control vs. virus-infected plant, control plant + aphids vs. virus infected plant + aphids).

Attack rate. In a no-choice experiment, attack rate of twenty *A. colemani* on non-viruliferous or viruliferous aphids was measured by placing a standardised F1 parasitoid female in a Petri dish ($\varnothing 90$ mm) pierced on its side to allow introduction of a fresh *C. sativa* leaf on which twenty synchronised second instar control or viruliferous aphids were placed. Parasitoids were continuously observed until they left the leaf for more than one minute or when they did not move for more than five minutes. The number of attacks on aphids and the number of host rejection were recorded using the behavioural coding software CowLog 2.0 (Hänninen and Pastell, 2009). An attack was noted when a parasitoid female bended its abdomen and touched the aphid with its ovipositor. Host rejection was recorded when antennal contact with an aphid was not followed by an attack. After observation, aphids were dissected to ensure that an attack resulted in an oviposition, and a mean true oviposition rate was calculated.

The same procedure was used to measure attack and rejection rate of twenty *A. colemani* in a dual choice experiment. Parasitoid females were offered simultaneously ten non-viruliferous and ten viruliferous aphids placed on a *C. sativa* leaf. A drop of blue or red painting (Posca®) was deposited on aphids to distinguish between control and viruliferous hosts, and colour was switched every day between treatments.

Statistical analyses

Plants. Photosynthetic activity, stomatal conductance and chlorophyll content index measured at 21 and 29 days post-inoculation were compared between control and TuYV-infected plants using linear mixed-effect models with treatment and time as factors and individuals as random variable. Considering normal distribution and homoscedasticity of the data, above-ground biomass was compared between treatments using distinct ANOVA for each age since this trait was measured on different individuals.

Aphids. Influence of plant status on aphid survival rate was tested with a Cox proportional hazards model. As data were normally distributed and met the assumption of homoscedasticity, other aphid parameters were analysed by using ANOVA except for differences in lipid content which were tested using an ANCOVA with lipid quantity as variable and lean dry mass as a covariate.

Parasitoids. Differences between treatments in tibia length and development time were assessed using an ANOVA as data were normally distributed and met the assumption of homoscedasticity. We tested differences in wing area using an ANCOVA with wing area as variable and tibia length as a covariate. Initial egg load was compared between treatments using a GLM, with treatment as fixed factor and tibia length as a covariate, considering a Poisson distribution for these data. Differences in lipid content between treatments were tested using an ANCOVA with lipid quantity as variable and lean dry mass as a covariate.

Attack rates, true oviposition rates (*i.e.* attacks which resulted in egg deposition), host rejection rate and emergence rate were compared between treatments using a GLM, with treatment as fixed factor and considering a binomial distribution for these data. Preference for control or TuYV-infected plants, without or with aphids, was tested using a chi-square test.

All statistical analyses were carried out using the statistical program 'R' (R 3.2.2 - R Development Core Team 2015; nlme package loaded for linear mixed-effect models).

Results

Effects of TuYV on plants.

Virus-infected plants had a reduced photosynthetic activity (An) (LME, treatment effect: $F = 22.11$, $p < 0.001$) and a reduced stomatal conductance (gs) (LME, treatment effect: $F = 76.51$, $p < 0.001$) in comparison with control plants (Table 1). These variables both decreased with time (LME, An : $F = 19.79$, $p < 0.001$; gs : $F = 25.51$, $p < 0.001$) but there was no interaction between treatment and time (LME, An : $F = 2.24$, $p = 0.144$; gs : $F = 1.25$, $p = 0.271$). Virus infection had no significant effect on chlorophyll content index (LME, treatment effect: $F = 3.598$, $p = 0.074$), but we observed a significant effect of time (LME, $F = 32.30$, $p < 0.001$) and of the interaction between treatment and time (LME, $F = 40.25$, $p < 0.001$). These effects were explained by the strong decrease in CCI which occurred in virus infected plants while it remained constant in control plants.

We also observed a smaller above-ground biomass in TuYV-infected plants than in control plants 21 days (ANOVA, $F_{1,38} = 170.70$, $p < 0.001$) and 29 days (ANOVA, $F_{1,38} = 24.06$, $p < 0.001$) after inoculation (Table 1).

Table 1. Mean values ($\pm$ s.e.) of parameters measured on sham-inoculated (=control) or TuYV-infected *Camelina sativa*. Different letters indicate significant differences between treatments and time.

Parameter	21 Days post-inoculation		29 Days post-inoculation	
	Control	TuYV-infected	Control	TuYV-infected
Assimilation rate ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	5.179 $\pm$ 0.441 a	3.923 $\pm$ 0.541 b	4.027 $\pm$ 0.182 b	1.611 $\pm$ 0.267 c
Stomatal conductance ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	0.101 $\pm$ 0.007 a	0.055 $\pm$ 0.004 c	0.072 $\pm$ 0.004 b	0.037 $\pm$ 0.004 d
Chlorophyll content index (mg. m^{-2}FW)	5.67 $\pm$ 0.05 a	6.57 $\pm$ 0.23 a	5.83 $\pm$ 0.06 a	3.66 $\pm$ 0.11 b
Above-ground biomass (g)	0.534 $\pm$ 0.018 b	0.231 $\pm$ 0.014 d	0.702 $\pm$ 0.051 a	0.403 $\pm$ 0.034 c

Plant-mediated effects of TuYV on aphids' life history traits.

Myzus persicae nymphs reared on TuYV-infected plants had a significantly lower survival rate than nymphs reared on control plants (Cox model, *chisq* = 10.41, *p* = 0.001). They were also significantly smaller at 2 days (ANOVA, *F* = 4.114, *p* = 0.044) and 8 days (ANOVA, *F* = 6.217, *p* = 0.027), reproduced earlier (ANOVA, *F* = 19.84, *p* < 0.001), but we did not observe any significant difference between treatments for daily fecundity (ANOVA, *F* = 2.087, *p* = 0.154) (Table 2).

Table 2. Mean values ($\pm$ s.e.) of parameters measured on *Myzus persicae* reared on sham-inoculated or TuYV-infected *Camelina sativa*.

Parameter	Control	TuYV	Statistics
Body length at 2 days (mm)	0.36 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.04	*
Body length at 8 days (mm)	1.50 $\pm$ 0.04	1.41 $\pm$ 0.05	*
Body mass at 8 days (mg)	0.152 $\pm$ 0.009	0.099 $\pm$ 0.005	***
Nymph survival rate	0.91 $\pm$ 2.53	1.00 $\pm$ 0.00	***
Pre-reproductive period (days)	8.97 $\pm$ 0.17	8.00 $\pm$ 0.14	***
Daily fecundity ($\frac{\text{♀}}{\text{♀}}/\text{day}$)	4.17 $\pm$ 0.12	4.54 $\pm$ 0.24	NS

p* < 0.05, ** *p* < 0.01, * *p* < 0.001, NS = Non significant

Aphids reared on TuYV-infected plants had less lipids (ANOVA, *F* = 70.5, *p* < 0.001) and less carbohydrates (ANOVA, *F* = 28.72, *p* < 0.001) than aphid adults reared on control plants, mainly because of their smaller size. We also observed a lower lipid content in adult aphids reared on TuYV-infected plants (ANCOVA, *F* = 30.37, *p* < 0.001) (Figure 1A) but a similar sugar concentration between aphids from the two treatments (ANOVA, *F* = 1.83, *p* = 0.181).

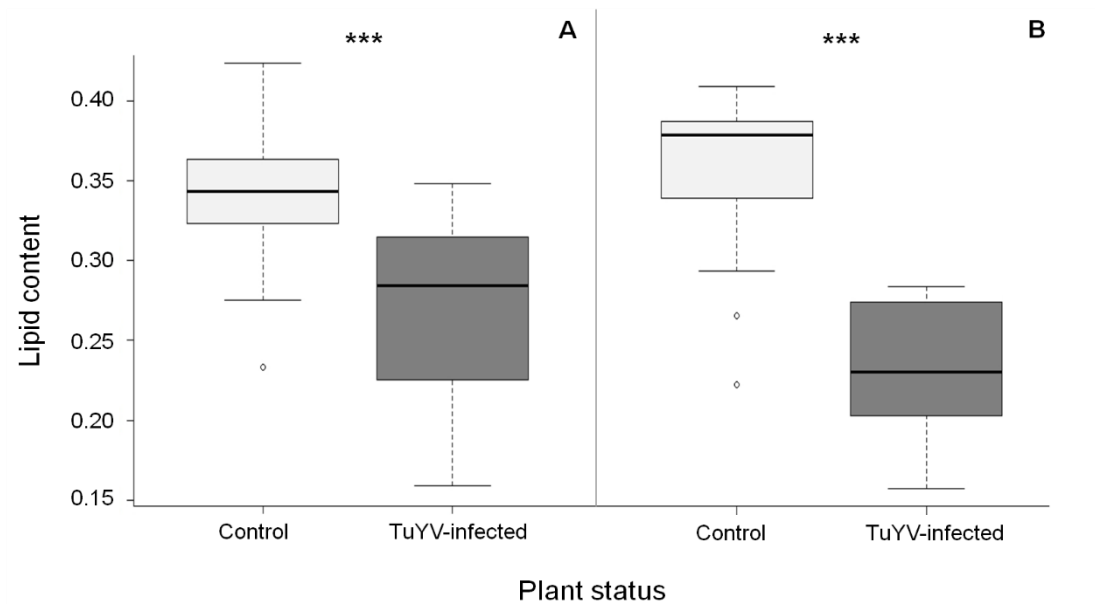


Figure 1. Boxplot of lipid content measured in (A) thirty *Myzus persicae* reared on control or TuYV-infected plants, and (B) twenty-five emerging *Aphidius colemani* females developing in *Myzus persicae* reared respectively on control and TuYV-infected plants. Asterisks indicate significant differences between treatments ($p < 0.001$).

Plant-mediated and aphid-mediated effects of TuYV on parasitoids' life history traits.

Parasitoid females which developed on viruliferous aphids were significantly smaller (ANOVA, $F = 6.171$, $p = 0.017$) (Table 3), and emerged with fewer eggs (GLM, $z = -5.08$, $p < 0.001$, Figure 2) and smaller lipid content (ANCOVA, $F = 28.43$, $p < 0.001$, Figure 1B) than females which developed on non-viruliferous aphids. We did not observe any significant difference in development time (ANOVA, $F = 1.914$, $p = 0.651$), wing area (ANCOVA, $F = 2.568$, $p = 0.212$) or in emergence rate between treatments (GLM, $z = -0.954$, $p = 0.565$) (Table 4).

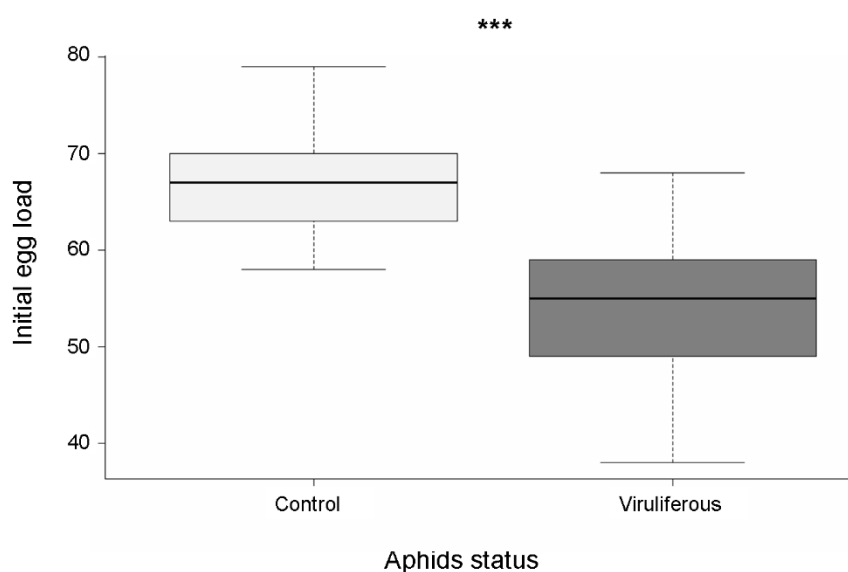


Figure 2. Boxplot of initial egg load measured in ovaries of twenty-five emerging *Aphidius colemani* females developing in *Myzus persicae* reared on control or infected-plants (*i.e.* viruliferous). Asterisks indicate significant differences between treatments ($p < 0.001$)

Table 3. Mean values ($\pm$ s.e.) of life history traits and emergence rate measured on *Aphidius colemani* developed in *Myzus persicae* reared respectively on control or infected-plants (*i.e.* viruliferous).

	Control	Viruliferous	Statistics
Parameter			
Tibia length (mm)	0.64 ± 0.04	0.59 ± 0.03	*
Development time (days)	15.4 ± 0.9	15.0 ± 1.0	NS
Wing area (mm ²)	1.44 ± 0.09	1.36 ± 0.08	NS
Emergence rate	57.5 ± 5.1	51.9 ± 6.7	NS

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, NS = Non significant

Table 4. Mean values ($\pm$ 95%CI) of oviposition and host rejection rates measured on *Aphidius colemani* attacking *Myzus persicae* reared on control or infected-plants (*i.e.* viruliferous) in no-choice or in dual-choice experiments.

	Control	Viruliferous	Statistics
Parameter			
No-choice experiment			
Oviposition rate	0.74 ± 0.09	0.68 ± 0.07	GLM, $z = -1.097$, $p = 0.509$
Host rejection rate	0.19 ± 0.04	0.24 ± 0.06	GLM, $z = 1.902$, $p = 0.484$
Dual-choice experiment			
Oviposition rate	0.69 ± 0.08	0.75 ± 0.07	GLM, $z = 2.544$, $p = 0.371$
Host rejection rate	0.23 ± 0.05	0.20 ± 0.03	GLM, $z = -1.142$, $p = 0.453$

Plant-mediated and aphid-mediated effects of TuYV on parasitoids' behaviour.

There was no significant difference in parasitoid preference for control or TuYV-infected plants without ($\chi^2 = 1.460$, $p = 0.377$) or with aphids ($\chi^2 = 1.129$, $p = 0.508$) (Figure 3). Moreover, attack rates were similar between non-viruliferous and viruliferous aphids when they were offered separately (GLM, $z = 1.474$, $p = 0.561$) or in a dual choice experiment (GLM, $z = 1.866$, $p = 0.427$). The rates of true oviposition and of host rejection were also similar between treatments when non-viruliferous and viruliferous aphids were offered separately (True oviposition: GLM, $z = -1.097$, $p = 0.509$; Host rejection: GLM, $z = 1.902$, $p = 0.484$) or in a dual choice experiment (True oviposition: GLM, $z = 2.544$, $p = 0.371$; Host rejection: GLM, $z = -1.142$, $p = 0.453$).

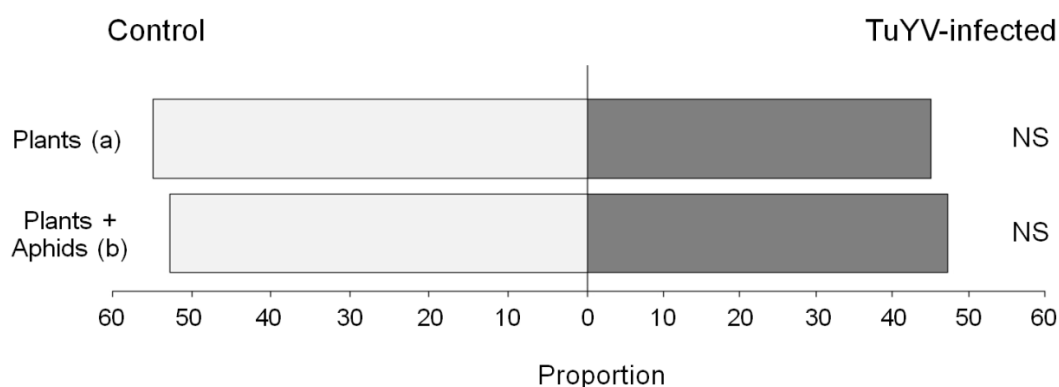


Figure 3. Proportion of *Aphidius colemani* females which preferentially oriented towards control (left) or TuYV-infected (right) *Camelina sativa* without (a) or with aphids *Myzus Persicae* (b). NS indicate non significant differences between treatments.

Discussion

In this study involving a plant-aphid-parasitoid tri-trophic system, we observed that bottom-up regulation was modulated by virus infection. The persistently-transmitted (TuYV) negatively affected *C. sativa* physiology, had contrasting effects on *M. persicae* traits and negatively affected parasitoid fitness. However, virus infection did not modify parasitoid host selection behaviour.

Plant physiology. We observed that virus infection resulted in reduced photosynthetic activity in *C. sativa*, as described for many other plant species infected by viruses (e.g. Chia and He, 1999; Swiech et al., 2001; Sampol et al., 2003). Several mechanisms have been proposed to explain this negative effect of virus infection on photosynthesis rate (for a review, see Balachadran et al., 1997), such as stomatal closure (Guo et al., 2005) or declined content of chlorophyll (Funayama-Noguchi, 2001). In our study, we observed a decrease in stomatal conductance which may partly explain the decreased photosynthetic activity in TuYV infected plants, as proposed by Guo et al., (2005) who observed similar results in

leaves of stem mustard infected by the *Turnip mosaic virus*. However, chlorophyll content could not explain differences in photosynthesis rate since this variable was similar between treatments 21 days after virus infection. It is thus likely that other mechanisms were involved in the reduced photosynthesis rate associated with virus infection, such as a decrease in mesophyll conductance to CO₂ and RUBISCO activity (Sampol et al., 2003) or a reduction in photosynthetic electron transport in photosystem II (Rahoutei et al., 2000).

This influence of virus on photosynthetic rate likely explains the lower above-ground biomass measured in virus-infected plants, as proposed by Funayama et al. (1997) who stated that the reduction in photosynthetic production they observed in virus infected *Eupatorium makinoi* was a major factor explaining lower performance in those plants.

Aphid-host performance and physiology. Virus infection improved some aphid fitness-related traits despite the alteration of the plant traits during the time of experiments on aphid demographic parameters. Aphid reared on infected-plants reached adult instar more frequently and reproduced earlier than control aphids while their daily fecundity was not affected. This resulted into enhanced performances that are consistent with observations reported in several studies which showed a positive effect of plant infection by persistently-transmitted viruses, especially *Luteoviruses*, on aphid fitness (for reviews, see Fereres and Moreno, 2009; Mauck et al., 2012; Blanc and Michalakakis, 2016). Such effects are thought to be adaptive for circulative viruses which generally require a long feeding period to be acquired and inoculated (Hogenhout et al., 2008). By changing plant physiology and chemistry, virusinfection influences plant suitability for aphids, and may lead to enhanced vector population and consequently to amplified virus propagation. This positive impact may be achieved indirectly through changes in plant physiology, such as down-regulation of defence pathways or altered amino acid content of the sap (Mauck et al., 2014b; Casteel et al., 2015; Su et al., 2016), but mechanisms are still little known. However, one cannot exclude a direct effect of the virus on aphids after acquisition on infected-plants as circulative viruses realise a complex circuit in its insect vector, thus potentially affecting its physiology or behaviour (Chuche et al., 2016).

We also observed that the reduction of infected plant performances between 21 and 29 dpi cascaded negatively on some aphid traits, such as host body size, which are important for parasitoid success. A trade-off between body size and developmental rate has been commonly described in insects (Roff, 1992; Nylin and Gothard, 1998) and is likely to explain the smaller body size observed in the fast-growing viruliferous aphids. Virus would benefit from increasing growth rate of their vectors, but this would be paid off by a smaller nymphal and adult body size, parameters which are less important for virus spreading success. This result contrasts with the study of de Oliveira *et al* (2014) who did not observe any difference in body size between control and viruliferous aphids. The smaller size we observed was associated with smaller lipid content in *M. persicae*. Viruses are known to affect plant nutritional quality. For example, they may disrupt ratios of carbohydrates to free amino acids in the

phloem (Mauck et al., 2015), where *M. persicae* feeds. To our knowledge, the influence of plant quality on lipid content has not been tested in aphids but results on Lepidoptera confirm that better plant quality generally results in higher lipid levels (Liu et al., 2007). These effects would have consequences on lipid accumulation but it did not influence carbohydrate concentration in our study. In aphids, lipid content is not correlated to fecundity (Gwynn et al., 2005); differences in this parameter between treatments should thus have limited influence on aphid intrinsic rate of natural increase. Such impact on fat content may however have important consequences on virus dispersal since lipids are the main resource used for long-range flight in alate aphids (Liquido and Irwin, 1986, Yao and Katagiri, 2011), but our results on apterae vectors should first be confirmed on winged aphids to suggest such potential impact.

Parasitoid fitness. We observed strong effects of infected-plants mediated by the aphid-host on some life history traits of parasitoids. Females which developed in aphids reared on virus-infected plants suffered from reduced body size, initial fecundity and lipid content in comparison with females which developed on control aphids and plants. To our knowledge, this is the first study showing such negative effects on traits important for pest management. These effects are likely the result of bottom-up effects where the body size of the vectors and the quantity of energetic resources, *i.e.* lipid and carbohydrates quantity, available for the parasitoid are reduced because of a lower photosynthetic activity of the plant. These resources are particularly important for parasitoids belonging to the genus *Aphidius* which lack adult lipogenesis and thus rely on lipids accumulated during larval development for adult life (Visser et al., 2010). Thus, the reduction in host body size and resources quantity probably explain the smaller body size and initial fecundity, which are commonly observed in parasitoids developing in small hosts (Godfray, 1994). Moreover, lipid content is generally positively correlated with several life history traits, such as egg production during adult life (Casas et al., 2005) or longevity (Ellers, 1996), and dispersal of parasitic wasps (Ellers et al., 1998). The reduction in lipid content may thus have important consequences on parasitoid population dynamics, and thus on biological control, through a reduction in their abundance and in between-fields movements. These negative effects of virus infection on parasitoid fitness are thus likely the results of bottom-up effects; but they may also be the consequence of direct interference or resource competition between the pathogen and the parasitoid larva or, both organisms co-occurring in the same host for a long period of time (Hodge and Powell, 2008; de Oliveira et al., 2014).

We observed similar emergence rate and development time between parasitoids developing in control aphids and aphids infected by the circulative virus TuYV. These results are consistent with observations of de Oliveira et al. (2014) who did not observe any influence of infection by a persistent virus on parasitoid emergence rate. However, development of parasitoid in aphid carrying circulative viruses can also result in delayed development and decreased emergence rate (Christiansen-Weniger et al., 1998). On the contrary, Mauck et al. (2015) observed an increased emergence rate of parasitoid developing in aphid reared on plants infected by the non-circulative *Cucumber mosaic virus* (CMV - *Cucumovirus*).

These authors proposed that the contrast between their results and those of Christiansen-Weniger et al. (1998) may be explained by differences in virus modes of transmission. Indeed, tight interaction between circulative viruses and their insect vector may offer increased latitude for direct effects on insect physiology, and consequently alter parasitoid success (Mauck et al., 2015). However, regarding our study and the paper by de Oliveira et al. (2014) in which infection by a persistent virus did not influence parasitoid emergence rate, it appears that the effect of virus on parasitoid emergence rate does not depend on virus mode of transmission and that such effects should be studied specifically.

Parasitoid behaviour. Aphid parasitoids are natural enemies which rely on both visual and chemical cues released by plants to detect their hosts (e.g. Du et al., 1998; Wajnberg et al., 2008). In our experiment, *Aphidius colemani* females were exposed to these two types of cues but they did not show any preference for control or virus-infected plants, infested or not by aphids. Parasitic wasps are known to respond more strongly to yellow than green traps (Rodriguez-Saona et al., 2012). We may thus expect that they would be more attracted by yellow leaves, *i.e.* virus-infected leaves, than by green leaves, *i.e.* healthy leaves, but it did not appear to be the case for *A. colemani*. Moreover, chemical cues emitted by infected-camelina did not influence parasitoid female attraction. This result was consistent with other studies testing parasitoid choice in Y-tube olfactometers. Authors did not observe any preference for odors of control and viruliferous aphids (de Oliveira et al., 2014) or for odors of aphid-infested control and virus-infected plants (Mauck et al., 2015). Mauck et al. (2015) proposed that the increased emissions of volatiles observed in *Cucurbita pepo* infected by the CMV may be offset by the smaller size of infected plants, leading to similar chemical profiles between those one and healthy plants. However, in our experiment, we standardised biomass of infected and control plants to avoid this effect, and *A. colemani* still did not orientate preferentially towards one type of plant. This result is thus likely due to the absence of differences between emission profiles of plants, at least qualitatively (Mauck et al., 2015), or to the inability of *A. colemani* to discriminate between odors of healthy and infected plants.

Following plant-host and aphid-host location, virus may influence aphid-host acceptance for oviposition by the parasitoid. This hypothesis may be especially true if parasitising a viruliferous aphid results in an increased or decreased fitness. In our experiment, we did not observe any difference in oviposition rate between aphids reared on infected (*i.e.* viruliferous aphids) or control plants, despite strong deleterious consequences on parasitoid life-history traits. This result contrasts with Christiansen-Weniger et al. (1998) who observed that *Aphidius ervi* deposited fewer eggs in *Sitobion avenae* carrying BYDV than in control aphids, likely because of a greater mortality and delayed development in viruliferous hosts. On the contrary, De Oliveira et al. (2014) observed a higher rate of ovipositor insertion following antennation into *Rhopalosiphum padi* infected by the CYDV than control aphids while aphid performances, especially their body size or survival rate, were not affected by acquisition of the virus. These authors hypothesised that parasitoids may preferentially parasitise viruliferous aphids because of compromised immune response. Our own results on aphids suggest that other parameters may be

involved in host selection, such as energetic resources available, but it did not influence *A. colemani* behaviour.

Agronomical consequences. Infection of *Camelina sativa* by the *Turnip yellows virus* may have strong agronomical consequences, since this virus altered bottom-up regulation by modifying positively host-plant quality for aphid-vector but negatively influenced aphid-host quality for the parasitoid. The presence of the virus indeed resulted in (i) smaller plants (ii) increased intrinsic rate of natural increase for the aphid (Chesnais et al., submitted) but decreased lipid content, (iii) decreased fitness-related traits of the parasitoid (fecundity, lipid content), and (iv) no preference of the parasitoid for control or virus-infected plants and aphids. Damages on *Camelina* may thus increase in presence of the TuYV because of (i) the virus itself, (ii) an increase in the number of aphids which feed on plants and transmit the virus, (iii) a decrease in biological control of *M. persicae* by one of its main natural enemies caused by smaller parasitoid abundance -a consequence of reduced parasitoid fecundity- and their inability to avoid viruliferous aphids. This last prediction contrasts with the study of de Oliveira et al. (2014) who observed that biological control by *Aphidius colemani* may be more effective in fields infected by the CYDV because of parasitoid preference for viruliferous aphids; but those authors did not consider influence of development in viruliferous aphids on traits related to parasitoid population dynamics such as fecundity or lipid content. Our study underlines the complexity of interactions between plant viruses and plant-vector-natural enemies and their implications in agriculture.

Acknowledgments.

We are grateful to Véronique Brault for useful comments on a previous version of this paper.

Competing Interests.

The authors have no competing interests.

Authors' Contributions.

JM, QC, FS, AA and AC were responsible for the conception and design of the experiment and manuscript preparation. JM, QC, FS, and EV performed the experiments. JM, QC and FS carried out statistical analyses. All authors gave final approval for publication.

Funding.

This work was performed, in partnership with the SAS PIVERT, within the frame of the French Institute for the Energy Transition (Institut pour la Transition Énergétique (ITE) P.I.V.E.R.T. (www.institut-pivert.com)) selected as an Investment for the Future (“Investissements d’Avenir”). This work was supported, as part of the Investments for the Future, by the French Government under the reference ANR-001-01.

References

- Balachandran, S., Hurry, V.M., Kelley, S.E., Osmond, C.B., Robinson, S.A., Rohozinski, J., Seaton, G.G.R. and Sims, D.A. (1997). Concepts of plant biotic stress. Some insights into the stress physiology of virus-infected plants, from the perspective of photosynthesis. *Physiologia Plantarum*. **100**, 203-213.
- Blanc, S. and Michalakakis, Y. (2016). Manipulation of hosts and vectors by plant viruses and impact of the environment. *Current Opinion in Insect Science*. **16**, 36-43.
- Boivin, G., Hance, T. and Brodeur, J. (2012). Aphid parasitoids in biological control. *Canadian Journal of Plant Science*. **92**, 1-12.
- Brault, V., Uzest, M., Monsion, B., Jacquot, E. and Blanc, S. (2010). Aphids as transport devices for plant viruses. *Compte Rendus Biologies*. **333**, 524-538.
- Casas, J., Pincebourde, S., Mandon, N., Vannier, F., Poujol, R. and Giron, D. (2005). Lifetime nutrient dynamics reveal simultaneous capital and income breeding in a parasitoid. *Ecology*. **86**, 545-554.
- Casteel, C., De Alwis, M., Bak, A., Dong, H., Steven, A. and Jander, G. (2015). Disruption of ethylene responses by Turnip mosaic virus mediates suppression of plant defense against the aphid vector, *Myzus persicae*. *Plant Physiology*. 00332.2015.
- Castle, S.J. and Berger, P.H. (1993). Rates of growth and increase of *Myzus persicae* on virus-infected potatoes according to type of virus-vector relationship. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **69**, 51-60.
- Chesnais, Q., Ameline, A., Doury, G., Le Roux, V. and Couty, A. (2015). Aphid Parasitoid Mothers Don't Always Know Best through the Whole Host Selection Process. *PloS one*. **10**, e0135661
- Chia, T.F. and He, J. (1999). Photosynthetic capacity in *Oncidium* (Orchidaceae) plants after virus eradication. *Environmental and Experimental Botany*. **42**, 11-16.
- Christiansen-Weniger, P., Powell, G. and Hardie, J. (1998). Plant virus and parasitoid interactions in a shared insect vector/host. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. **86**, 205-213.
- Chuche, J., Auricau-Bouvery, N., Danet, J.L. and Thiéry, D. (2016). Use the insiders: could insect facultative symbionts control vector-borne plant diseases? *Journal of Pest Science*. 1-18.
- Clark, M.F. and Adams, A.N. (1977). Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology*. **34**, 475-483.
- Culver, J.N. and Padmanabhan, M.S. (2007). Virus-induced disease: altering host physiology one interaction at a time. *Annual Review of Phytopathology*. **45**, 221-243.

- Du, Y., Poppy, G.M., Powell, W., Pickett, J.A., Wadham, L.J. and Woodcock, C.M. (1998). Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*. **24**, 1355-1368.
- Eigenbrode, S.D., Ding, H., Shiel, P. and Berger, P.H. (2002). Volatiles from potato plants infected with potato leafroll virus attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Proceeding of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. **269**, 455-460.
- Ellers, J. (1996). Fat and eggs: An alternative method to measure the trade-off between survival and reproduction in insect parasitoids. *Netherlands Journal of Zoology*. **46**, 227-235.
- Ellers, J., van Alphen, J.J.M. and Sevenster, J.G. (1998). A field study of size-fitness relationship in the parasitoid *Asobara tabida*. *Journal of Animal Ecology*. **67**, 318-324.
- Faure, J.D. and Tepfer, M. (2016). Camelina, a Swiss knife for plant lipid biotechnology. *Oilseeds & fats Crops and Lipids*. **5**, D503.
- Fereres, A. and Moreno, A. (2009). Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. *Virus Research*. **141**, 158-168.
- Funayama, S., Hikosaka, K. and Yahara, T. (1997). Effects of virus infection and growth irradiance on fitness components and photosynthetic properties of *Eupatorium makinoi* (Compositae). *American Journal of Botany*. **84**, 823-823.
- Funayama-Noguchi, S. (2001). Ecophysiology of virus-infected plants: a case study of *Eupatorium makinoi* infected by geminivirus. *Plant Biology*. **3**, 251-262.
- Giron, D., Rivero, A., Mandon, N., Darrouzet, E. and Casas, J. (2002). The physiology of host feeding in parasitic wasps: implications for survival. *Functional Ecology*. **16**, 750-757.
- Godfray, H.C.J. (1994). *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press.
- Guo, D.P., Guo, Y.P., Zhao, J.P., Liu, H., Peng, Y., Wang, Q.M., Chen, J.S. and Rao, G.Z. (2005). Photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence in leaves of stem mustard (*Brassica juncea* var. *tsatsai*) after turnip mosaic virus infection. *Plant Science*. **168**, 57-63.
- Gwynn, D.M., Callaghan, A., Gorham, J., Walters, K.F.A. and Fellowes, M.D.E. (2005). Resistance is costly: trade-offs between immunity, fecundity and survival in the pea aphid. *P. Roy. Soc. London B Biol.* **272**, 1803-1808.
- Hackett, S.C., Karley, A.J. and Bennett, A.E. (2013). Unpredicted impacts of insect endosymbionts on interactions between soil organisms, plants and aphids. *Proceeding of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. **280**, 20131275.
- Hänninen, L. and Pastell, M. (2009). CowLog: Open source software for coding behaviors from digital video. *Behavior Research Methods*. **41**, 472-476.

- Hodge, S., Hardie, J. and Powell, G. (2011). Parasitoids aid dispersal of a nonpersistently transmitted plant virus by disturbing the aphid vector. *Agricultural and Forest Entomology*. **13**, 83-88.
- Hodge, S. and Powell, G. (2008). Do plant viruses facilitate their aphid vectors by inducing symptoms that alter behavior and performance? *Environmental Entomology*. **37**, 1573-1581.
- Hogenhout, S.A., Ammar, E.D., Whitfield, A.E. and Redinbaugh, M.G. (2008). Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annual Review of Phytopathology*. **46**, 327-359.
- Jones, R.A.C., Coutts, B.A. and Hawkes, J. (2007). Yield-limiting potential of *Beet western yellows virus* in *Brassica napus*. *Australian Journal of Agricultural Research*. **58**, 788-801.
- Leiser, R. M., Ziegler-Graff, V., Reutenauer, A., Herrbach, E., Lemaire, O., Guilley, H., Richards, K. and Jonard, G. (1992). Agroinfection as an alternative to insects for infecting plants with beet western yellows luteovirus. *Proceeding of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. **89**, 9136-9140.
- Liquido, N.J. and Irwin, M.E. (1986). Longevity, fecundity, change in degree of gravidity and lipid content with adult age, and lipid utilisation during tethered flight of alates of the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. *Annals of Applied Biology*. **108**, 449-459.
- Liu, Z., Gong, P., Wu, K., Wei, W., Sun, J. and Li, D. (2007). Effects of larval host plants on overwintering preparedness and survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Physiology*. **53**, 1016-1026.
- Mackauer, M. and Chow, F.J. (1986). Parasites and parasite impact on aphid populations, in *Plant virus epidemics: monitoring, modelling and predicting outbreaks*. George D. McLean, Ronald G. Garrett, William G. Ruesink (Eds).
- Mauck, K.E, Bosque-Pérez, N.A., Eigenbrode, S.D., Moraes, C.M. and Mescher, M.C. (2012). Transmission mechanisms shape pathogen effects on host–vector interactions: evidence from plant viruses. *Functional Ecology*. **26**, 1162-1175.
- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. and Mescher, M.C. (2014a). Evidence of local adaptation in plant virus effects on host–vector interactions. *Integrative and Comparative Biology*. **54**, 193-209.
- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. and Mescher, M.C. (2015). Infection of host plants by Cucumber mosaic virus increases the susceptibility of *Myzus persicae* aphids to the parasitoid *Aphidius colemani*. *Scientific Reports*. **5**, 10963-10963.
- Mauck, K.E., Smyers, E., De Moraes, C.M. and Mescher, M.C. (2014b). Virus infection influences host plant interactions with non-vector herbivores and predators. *Functional Ecology*. **29**, 662-673.
- Moiroux, J., Le Lann, C., Seyahoei, M. A., Vernon, P., Pierre, J. S., van Baaren, J. and van Alphen, J.J.M. (2010). Local adaptations of life-history traits of a *Drosophila* parasitoid, *Leptopilina boulardi*: does climate drive evolution? *Ecological Entomology*. **35**, 727-736.

- Nault, L.R. (1997). Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Annals of the Entomological Society of America*. **90**, 521-541.
- Nylin, S. and Gotthard, K. (1998). Plasticity in life-history traits. *Annual Review of Entomology*. **43**, 63-83.
- Pointeau, S., Ameline, A., Sallé, A., Bankhead-Dronnet, S. and Lieutier, F. (2013). Characterization of antibiosis and antixenosis to the woolly poplar aphid (Hemiptera: Aphididae) in the bark of different poplar genotypes. *Journal of Economical Entomology*. **106**, 473-481.
- de Oliveira, C.F., Long, E.Y. and Finke, D.L. (2014). A negative effect of a pathogen on its vector? A plant pathogen increases the vulnerability of its vector to attack by natural enemies. *Oecologia*. **174**, 1169-1177.
- R Development Core Team. (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Rahoutei, J., García-Luque, I. and Barón, M. (2000). Inhibition of photosynthesis by viral infection: effect on PSII structure and function. *Physiologia Plantarum*. **110**, 286-292.
- Roff, D.A. (1992). *The evolution of life histories: theory and analysis*. Chapman and Hall, New York, Routledge.
- Rodriguez-Saona, C.R., Byers, J.A. and Schiffhauer, D. (2012). Effect of trap color and height on captures of blunt-nosed and sharp-nosed leafhoppers (Hemiptera: Cicadellidae) and non-target arthropods in cranberry bogs. *Crop Protection*. **40**, 132-144.
- Sampol, B., Bota, J., Riera, D., Medrano, H. and Flexas, J. (2003). Analysis of the virus-induced inhibition of photosynthesis in malmsey grapevines. *New Phytologist*. **16**, 403-412.
- Schliephake, E., Graichen, K. and Rabenstein, F. (2000). Investigations on the vector transmission of the *Beet mild yellowing virus* (BMYYV) and the *Turnip yellows virus* (TuYV). *Journal of Plant Disease and Protection*. **107**, 81-87.
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. and Eliceiri, K.W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*. **9**, 671-675.
- Stevens, M., McGrann, G., Clark, B., and Authority, H. (2008). *Turnip yellows virus (syn Beet western yellows virus): an emerging threat to European oilseed rape production*. HGCA *Hgca : Research Reviews. (Report)*, **69**, 0-36.
- Stevens, M., Smith, H.G. and Hallsworth, P.B. (1995). Detection of the luteoviruses, *Beet mild yellowing virus* and *Beet western yellows virus*, in aphids caught in sugar-beet and oilseed rape crops, 1990-1993. *Annals of Applied Biology*. **127**, 309-320.

- Strange, R.N. and Scott, P.R. (2005). Plant disease: a threat to global food security. *Phytopathology*. **43**, 83-116.
- Su, Q., Mescher, M. C., Wang, S., Chen, G., Xie, W., Wu, Q., Wang, W. and Zhang, Y. (2016). Tomato yellow leaf curl virus differentially influences plant defence responses to a vector and a non-vector herbivore. *Plant Cell & Environment*. **39**, 597-607.
- Swiech, R., Browning, S., Molsen, D., Stenger, D.C. and Holbrook, G.P. (2001). Photosynthetic responses of sugar beet and *Nicotiana benthamiana* Domin. infected with beet curly top virus. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. **58**, 43-52.
- Visser, B., Le Lann, C., den Blanken, F.J., Harvey, J.A., van Alphen, J.J.M. and Ellers, J. (2010). Loss of lipid synthesis as an evolutionary consequence of a parasitic lifestyle. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*. **107**, 8677-8682.
- Wajnberg, E., Bernstein, C. and van Alphen, J.J.M. (2008). *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids: From theoretical approaches to field application*. Blackwell Publishing, Malden.
- Walkey, D.G.A and Pink, D.A.C. (1990). Studies on resistance to *Beet western yellows virus* in lettuce (*Lactuca sativa*) and the occurrence of field sources of the virus. *Plant Pathology*. **39**, 141-155.
- Weber, C. A., Godfrey, L. D. and Mauk, P. A. (1996). Effects of parasitism by *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphidiidae) on transmission of Beet yellows closterovirus by bean aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economical Entomology*. **89**, 1431-1437.
- Yao, I. and Katagiri, C. (2011). Comparing wing loading, flight muscle and lipid content in ant-attended and non-attended *Tuberculatus* aphid species. *Physiological Entomology*. **36**, 327-334.

CHAPITRE 6.

DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Discussion générale et perspectives

En s'inscrivant dans la thématique générale des interactions multi-trophiques plantes-insectes herbivores-ennemis naturels, ce travail de thèse visait à appréhender les impacts potentiels de la réintroduction d'une espèce végétale cultivée et des pratiques culturales associées sur le cortège d'insectes et de pathogènes associés.

Les résultats obtenus répondent aux objectifs fixés au niveau de la tâche 3 du projet ANOI. Il s'agissait premièrement de considérer le rôle de la cameline, plante à vocations multiples (bioénergétique, industrielle, alimentaire...), en tant que plante réservoir pour différentes espèces de pucerons ravageurs des agro-écosystèmes du nord de la France. Ce travail devait également permettre d'étudier l'impact de pratiques culturales associées à la cameline sur les pucerons et leurs ennemis naturels, plus précisément les parasitoïdes. Nous avons abordé cette problématique en deux parties distinctes. Une première, prenant en exemple une association culturale usuelle entre la cameline et une légumineuse, a mis en évidence l'influence de cette pratique sur l'efficacité du contrôle biologique des pucerons par les parasitoïdes. Une seconde, basée sur les interrogations concernant les besoins en azote de la cameline, a permis d'évaluer les conséquences de différents niveaux de fertilisation azotée sur l'ensemble des partenaires du système tri-trophique. Enfin, ce travail devait caractériser les interactions entre la cameline, deux virus communs aux Brassicaceae et deux espèces de pucerons-vecteurs. Cette problématique a également été abordée en deux parties. Une première a mis en évidence les effets de deux infections virales sur les comportements de colonisation et la dynamique de population de deux espèces de pucerons-vecteurs. Une seconde partie a permis d'évaluer les effets « bottom-up » en cascade d'une infection virale sur les différents acteurs du système tri-trophique étudié et ainsi d'estimer les conséquences de l'infection virale sur le contrôle biologique exercé par les parasitoïdes de pucerons-vecteurs.

Tout d'abord, cette discussion générale présentera une synthèse des résultats, en les resituant au regard des objectifs de l'étude et en discutant leurs limites. Je présenterai également les perspectives à court et à moyen terme de ce travail, qui devraient permettre d'engager de nouvelles pistes de recherches.

En conclusion, nous proposerons des bases de réflexion à la création d'un itinéraire de réintroduction de la cameline au sein des agro-écosystèmes du nord de la France.

1. La cameline : un nouveau réservoir potentiel de ravageurs ?

Dans la perspective de réintroduire la cameline (*Camelina sativa* (L.) Crtz.) dans les agro-écosystèmes du nord de la France, nous avons évalué sa sensibilité vis-à-vis des principales espèces de pucerons ravageurs de grandes cultures afin d'étudier son rôle potentiel comme plante réservoir à ravageurs et vecteurs potentiels de virus. Il nous a semblé important de caractériser les interactions bi-trophiques cameline-puceron avant de complexifier notre réseau trophique i) en intégrant à l'échelle du premier niveau trophique différentes pratiques culturales ; ii) en ajoutant un troisième niveau trophique (parasitoïdes) ou iii) en ajoutant un pathogène (phytovirus transmis par les pucerons vecteurs).

La littérature fait état d'une résistance importante de la cameline vis-à-vis de nombreux insectes ravageurs des Brassicaceae. Des insectes d'ordres différents sont capables de s'orienter et d'atterrir sur la plante (Onyiah *et al.* 2012), mais ils sont dissuadés de s'y alimenter (Shudong *et al.* 2004) ou bien leur alimentation est altérée et reste faible (Naranjo & Stefanek 2012). Cependant, aucune étude ne s'est pour le moment intéressée à la colonisation de la cameline par les pucerons, principaux insectes vecteurs des phytovirus. Nous avons donc étudié le comportement alimentaire et les performances de différentes espèces de pucerons sur la cameline puis nous avons comparés les performances des pucerons sur cameline avec celles sur leurs plantes hôtes respectives.

Au regard des études citées précédemment, nous anticipons une résistance importante de la cameline vis-à-vis des pucerons. De plus, la cameline étant une Brassicaceae, nous pouvions supposer l'existence de capacités de colonisation de la plante différentes chez les espèces de pucerons pré-sélectionnées. Nous nous attendions à ce que l'espèce spécialiste des Brassicaceae, *Brevicoryne brassicae*, soit plus apte à coloniser, se nourrir et se développer sur la cameline que les deux espèces polyphages, *Aphis fabae* et *Myzus persicae*, et à ce que l'espèce spécialiste des céréales, *Rhopalosiphum padi*, soit repoussée par la cameline et ait des difficultés à assurer le développement d'une génération complète. En effet, la présence de défenses chimiques caractéristiques des Brassicaceae tels que les glucosinolates (dosés seulement dans les graines et dont la présence est suspectée dans les feuilles de cameline; cf. Chapitre 2, partie 1 § 1.3.) est censée réduire les performances des insectes polyphages (Agrawal & Kurashige 2003; Gols *et al.* 2008).

Cependant, nous avons mis en évidence que, en laboratoire, les quatre espèces de pucerons avaient la même capacité à s'orienter et atterrir sur la cameline. Le protocole mis en œuvre, sur 24 heures en condition de photophase 16:8 jour:nuit, ne permet pas de distinguer entre les différents indices, volatils ou visuels, utilisés par les pucerons pour ces premières étapes de colonisation. La cameline n'émettant pas de volatils dérivés des glucosinolates (Matthäus *et al.* 2000), la colonisation de celle-ci par les pucerons est probablement régie essentiellement par des stimuli visuels (Hardie 1989). Nos résultats ne nous ont pas permis de révéler de propriétés antixénotiques (i.e. altérations du comportement de l'insecte induisant une acceptation retardée et/ou au final le rejet de la plante comme hôte (Panda & Khush 1995))

à la surface des feuilles de la cameline car l'initiation du comportement alimentaire était semblable chez l'ensemble des pucerons étudiés. Cependant, des propriétés antixénétiques ont été mises en évidence au niveau du phloème pour *B. brassicae* et *R. padi*. Nous avons également montré que la cameline était une plante-hôte de meilleure qualité pour les deux espèces polyphages que pour l'espèce spécialiste des Brassicaceae, et que, curieusement, même l'espèce de puceron inféodée aux céréales était capable de s'y développer. La cameline semble donc être un hôte tout à fait adéquat au développement des deux espèces polyphages, *A. fabae* et *M. persicae*, et dans une moindre mesure, des deux espèces spécialistes, *B. brassicae* et *R. padi*.

Nos résultats ont montré que, en laboratoire, les performances des pucerons polyphages sur la cameline étaient identiques (voire meilleures pour *M. persicae*) à celles sur leur plante-hôte de référence (i.e. d'élevage). À l'inverse, les performances des deux pucerons spécialistes étaient moindres sur la cameline par rapport à celles sur leur plante-hôte de référence. La cameline peut donc être considérée comme un réservoir pour les pucerons étudiés, et sa ré-introduction pourrait avoir de réelles conséquences sur la pression exercée par les ravageurs sur les cultures du nord de la France. La cameline pouvant être semée de Mars à Juin selon les pratiques culturales (cultures pures ou associations), celle-ci pourrait constituer un réservoir pour les pucerons au moment de la floraison du colza, au moins pour *B. brassicae* et *M. persicae*. Toute fois, la colonisation de la cameline n'a pas été étudiée en situation de choix face aux plantes-hôtes des pucerons sélectionnés dans l'étude. Il est possible que, dans ce cas, les pucerons choisissent préférentiellement leurs plantes hôtes et l'incidence de l'introduction de la cameline serait alors moindre par rapport à celle envisagée à travers notre étude.

Cette étude a mis en évidence que les spectres de phagie, tels qu'ils sont décrits dans la littérature, ne suffisent pas à identifier les complexes plante-hôte herbivore réellement ou potentiellement associés à une culture. En effet, sur notre modèle Brassicaceae-pucerons, l'hypothèse « d'efficacité physiologique » (Dethier 1954) (i.e. les espèces « spécialistes » sont mieux adaptées et devraient avoir des performances supérieures à celles des « généralistes » sur leurs plantes hôtes partagées) est presque entièrement réfutée, le spécialiste des Brassicaceae n'étant pas plus performant que les espèces généralistes et le spécialiste des céréales étant capable de s'alimenter et se développer sur la cameline. Nos résultats font écho avec un débat actuel à propos des termes « généraliste » (i.e. individus avec une importante flexibilité comportementale et une gamme d'hôtes variée) et « spécialiste » (i.e. monophages fortement contraints par leur habitat) utilisés pour définir les régimes alimentaires des herbivores (Loxdale, Lushai & Harvey 2011), cette catégorisation étant peut-être plus apparente que réelle. Un nouveau cadre pour la définition de « généraliste » et « spécialiste » a été récemment proposé afin de mieux refléter les situations réelles (Loxdale & Harvey 2016). Les pucerons que nous avons étudiés pourraient, au regard de nos résultats, être caractérisés comme « généralistes larges » (i.e. herbivores s'accommodant de plantes différant par leurs métabolites secondaires) pour *M. persicae*, et *A. fabae*, généraliste composite (i.e. les génotypes individuels sont adaptés à un certain type de plante/métabolites

secondaires mais au niveau de l'espèce, on peut observer des individus s'alimentant sur de nombreuses espèces de plantes non-apparentées) pour *R. padi* et « spécialiste étroit » (i.e. une espèce d'herbivore restreinte à un faible nombre d'espèces de plantes hôtes) pour *B. brassicae*.

Cette étude de laboratoire a permis de mettre en avant le fait que pour évaluer les risques potentiels de l'introduction ou de la réintroduction d'une plante dans un paysage agricole, il est nécessaire de ne pas se limiter qu'aux espèces de ravageurs inféodés à la famille botanique de cette plante. Une approche plus systémique doit être utilisée, comprenant l'évaluation de son effet sur un plus large éventail d'organismes nuisibles potentiels, incluant même des espèces qui ne sont pas considérées comme associées à la culture focale.

Ce travail de thèse peut être mis en relation avec trois autres études menées en parallèle :

i) Une première étude a été réalisée en laboratoire afin de comparer la **sensibilité de différents cultivars de cameline** à *M. persicae* à celles d'une autre espèce d'intérêt industriel, la moutarde d'Éthiopie (*Brassica carinata*) et de la plante cultivée de référence, le colza (*Brassica napus*) (Objectifs du projet ANOI ; cf. **Annexe n°2**). Au niveau inter-spécifique, la cameline s'est révélée être un hôte plus adéquat que le colza ou la moutarde d'Éthiopie. Au niveau intra-spécifique aucune variabilité du taux d'accroissement de population (r_m) de *M. persicae* n'a été observée entre les différents cultivars de cameline. La cameline, en plus d'être un réservoir à pucerons, semble donc même être un hôte de meilleure qualité que la plante de référence, le colza, pour cette espèce de puceron polyphage, vecteur principal de phytovirus. Dans cette expérience de criblage (« screening ») de sensibilité, les cultivars ont été sélectionnés pour leurs caractéristiques agronomiques (teneurs en huiles et protéines, précocité, poids de mille grains). Il serait souhaitable de compléter cette étude avec des variétés plus rustiques, potentiellement plus résistantes aux pucerons, à partir desquelles des croisements pourraient être envisagés.

ii) Par la suite, la conduite d'une étude de **piégeage en champs** nous a permis d'évaluer la **pression réelle en pucerons** (richesse et abondance) de parcelles présentant l'association culturale cameline-féverole (**Annexe n°1**). Trente-cinq espèces différentes de pucerons ont été retrouvées dans les pièges disposés dans ces parcelles, parmi lesquelles les quatre espèces étudiées au laboratoire: les pucerons polyphages *M. persicae* et *A. fabae* ont été majoritairement piégés (respectivement 39 % et 16 % des effectifs piégés), alors que le spécialiste des Brassicaceae *B. brassicae* (1.6 %) et le spécialiste des Poaceae *R. padi* (0.07 %) représentaient une faible proportion des pucerons piégés (**Fig. 20. a**). Une étude de piégeage en monoculture de cameline pourrait permettre de compléter ces résultats. Parmi les diverses espèces de pucerons piégées, de nombreux vecteurs de phytovirus ont également été identifiés. Ceci renforce l'idée que la cameline pourrait jouer un rôle important de réservoir à pucerons, présentant un risque pour les agro-écosystèmes, en tant que ravageurs mais aussi vecteurs de phytovirus. Deux

espèces pourraient faire plus particulièrement l'objet d'une étude à court terme : i) le puceron vert du prunier *Brachycaudus helichrysi* (Kaltenbach), représentant 12 % des effectifs piégés et important vecteur du PVY dans les cultures de pommes de terre, bien que non-colonisateur ; ii) le puceron du saule et de la carotte *Cavariella aegopodii* (Scopoli), représentant près de 9 % des effectifs piégés, abondant sur les plantes maraîchères et également vecteur de Potyvirus.

a) Féverole - Cameline

b) Miscanthus

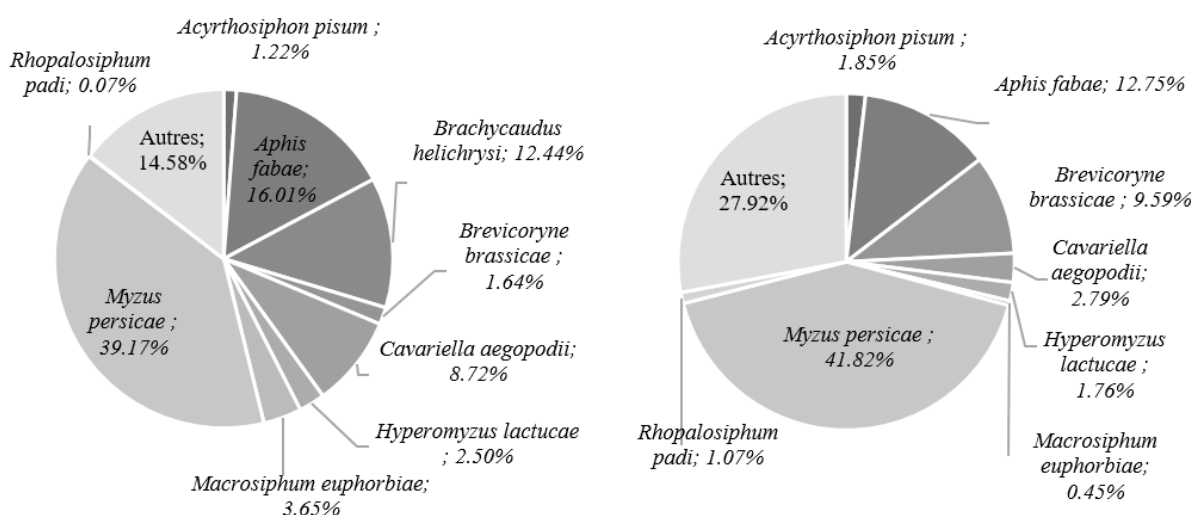


Fig. 20. Espèces principales de pucerons piégées en champs de a) Féverole-Cameline, b) Miscanthus.

iii) En parallèle à cette étude sur la cameline, d'autres travaux ont été menés au sein du **laboratoire** sur **une autre plante introduite** dans les agro-écosystèmes du nord de la France à des fins bioénergétiques, le **Miscanthus** géant (*Miscanthus x giganteus* (Greef & Deuter)). Des campagnes de piégeages en champs ont permis d'identifier le cortège et les prédominances de pucerons ravageurs (Ameline *et al.* 2015) (**Fig. 20. b**). Les pressions potentielles en pucerons ravageurs et/ou vecteurs de phytovirus sont comparables sur les deux cultures nouvellement introduite (Miscanthus) ou ré-introduite (cameline). Ceci suggère que les espèces de pucerons piégées sont peut-être plus liées au paysage de l'agro-écosystème qu'à la culture étudiée. Ainsi, à l'échelle du paysage agricole du nord de la France, les espèces les plus abondantes sont *M. persicae*, *A. fabae*, *B. brassicae*, *C. aegopodii* et, dans une moindre mesure, *R. padi* et *Acyrtosiphon pisum*.

Pour, conclure, les résultats de ces différents travaux indiquent qu'il pourrait y avoir des **conséquences épidémiologiques** importantes à la réintroduction de cultures de cameline dans les agro-écosystèmes. Chez les Brassicaceae, et plus particulièrement le colza ou les choux, de nombreux virus sont source de pertes de rendement (par exemple, les virus non-circulants *Turnip mosaic virus* TuMV et *Cauliflower mosaic virus* CaMV ou encore le virus circulant *Turnip yellows virus* TuYV ; pour la liste exhaustive des virus recensés, voir Brunt *et al.* (1997)). Les différentes espèces de pucerons étudiées présentent à la fois un comportement alimentaire adapté à la vection des virus non-circulants, qui pourraient être

transmis par les pucerons itinérants même s'ils ne sont pas inféodés aux Brassicaceae (Boquel, Ameline & Giordanengo 2011; Mondal *et al.* 2016), et à la vection des virus circulants pour les pucerons réalisant des phases d'ingestion soutenue de phloème (s_E2). L'espèce *Myzus persicae* peut être considérée comme la plus dangereuse, notamment à cause de ses effectifs importants et de sa capacité à véhiculer plus d'une centaine de phytovirus. L'étude de piégeage en champs montre qu'une faible efficacité vectorielle de certaines espèces pourrait être compensée par une forte population, améliorant globalement la propension vectorielle de ces pucerons (i.e. la « probabilité qu'un vecteur, ayant eu l'opportunité d'acquérir un virus par atterrissage sur une plante infectée, transmette ultérieurement le virus grâce à un atterrissage sur une plante saine ») (Irwin & Ruesink 1986).

2. Influences de pratiques culturales sur les interactions tri-trophiques.

Les deux pratiques culturales que nous avons étudiées, l'association culturale et la fertilisation azotée, semblent être des facteurs explicatifs majeurs dans les régulations des performances des insectes ravageurs et de leurs auxiliaires associés.

La première étude s'appuyait sur certaines caractéristiques culturales de la cameline qui, utilisée en association avec des Fabaceae ou Poaceae, peut rendre différents services à la plante focale (cf. Chapitre 1, partie 2 § 1.1.). Le Chapitre 3 ayant mis en avant que l'espèce polyphage *Aphis fabae*, majoritairement retrouvée sur Fabaceae, était également capable de coloniser la cameline, nous avons étudié les conséquences de l'association (répandue et conseillée par les instituts techniques agricoles) d'une Fabaceae, *Vicia faba*, avec la cameline sur le contrôle biologique exercé par une espèce de parasitoïde (**Fig. 21.**). La littérature, à travers l'« enemies hypothesis » (Root 1973) prédit des populations d'ennemis naturels supérieures dans les agro-écosystèmes diversifiés en raison de la variété des micro-habitats et/ou des ressources alimentaires. Cependant, les études ont plutôt tendance à montrer qu'un grand nombre d'espèces végétales complexifie la localisation des hôtes pour les parasitoïdes (de Rijk, Dicke & Poelman 2013; de Rijk *et al.* 2016a ; b). Dans ce cadre, nous avons testé l'hypothèse « Mother knows best », qui prédit que la préférence des femelles pour un complexe plante-hôte devrait être positivement corrélée avec une meilleure qualité de la plante pour les performances des descendants (Thompson 1988; Mayhew 1997).

Notre étude a montré, **en laboratoire**, que les femelles parasitoïdes *Aphidius matricariae* étaient capables de discriminer les pucerons-hôtes offrant potentiellement les meilleures performances à leur descendance mais qu'elles sélectionnaient cependant le complexe plante-puceron le moins favorable. Les pucerons *A. fabae* ont montré un taux intrinsèque d'accroissement naturel aussi élevé sur cameline que sur féverole, leur plante-hôte. Cependant, nous avons observé que ce taux d'accroissement était maintenu à ce niveau élevé sur la cameline au prix d'importants « trade-off ». Un premier « trade-off »

entre fécondité et longévité a été mis en évidence avec une fécondité des pucerons augmentée aux dépens d'une longévité diminuée de plusieurs jours (Chapitre 3 : Chesnais *et al.* (2015b)). Un second « trade-off » entre taille et taux de développement a entraîné une diminution de la période pré-reproductive des pucerons (le stade adulte étant atteint plus rapidement) aux dépens d'une diminution de leur taille (Chapitre 3 : Chesnais *et al.* (2015b) et Chapitre 4 partie 1 : (Chesnais *et al.* 2015a)). Les effets combinés de ces deux « trade-off » pourraient expliquer les performances nettement diminuées des parasitoïdes sur les pucerons se développant sur la cameline, la qualité de l'hôte pour un parasitoïde étant liée à la taille de celui-ci et la survie diminuée du puceron diminuant la période durant laquelle il peut être parasité par le parasitoïde.



Fig. 21. Association féverole-cameline en champ.

En complément à cette étude de laboratoire, nous avons réalisé une **étude de terrain** (cf. **Annexe n°1**) afin d'évaluer si la culture associée cameline-féverole permettait de faire diminuer la pression en pucerons ravageurs et d'améliorer l'action des auxiliaires en comparaison à celles évaluées pour une monoculture de féverole. Nous avons mis en place deux protocoles distincts sur trois parcelles présentant chacune les deux modalités (monoculture ou association). Une campagne de piégeage nous a permis d'évaluer la pression en pucerons (richesse et abondance) sur chaque modalité. Aucune différence majeure n'a été révélée entre les deux modalités (*M. persicae* étant l'espèce majoritaire de pucerons, suivie d'*A. fabae*). Le second protocole, un comptage d'*A. fabae* et de parasitoïdes au stade momie sur plants de féverole, n'a pas non plus permis de révéler de différence entre les deux modalités. Cependant, en s'intéressant à la modalité « association », nous avons observé que les pucerons *A. fabae* étaient moins nombreux sur cameline que sur féverole, et que le contrôle biologique était aussi très diminué sur

cameline (presqu'aucune momie). L'association cameline-féverole ne permettrait donc pas de diminuer la pression en pucerons *A. fabae* sur la féverole, ni d'augmenter l'action des auxiliaires. De plus, la cameline, bien que moins colonisée par *A. fabae* en comparaison de la féverole, semble également offrir un refuge aux pucerons qui y sont moins parasités. Cette dernière observation apparaît cohérente avec l'étude de laboratoire montrant que les performances, et plus particulièrement les taux de momification et d'émergence, étaient diminués sur cameline par rapport à la féverole. Cette étude de terrain apporte surtout un complément en conditions réelles, dévoilant qu'en association la biomasse que représentent les plants de cameline est nettement plus faible que celle de la féverole et que par conséquent, la population de pucerons relevée sur cameline est assez négligeable en comparaison de celle sur féverole. De plus, dans la stratégie d'association mise en place en champs, le semis et donc la levée de la cameline étant retardés par rapport à la féverole, les pucerons sont donc probablement attirés majoritairement par la féverole en place plus rapidement et ne basculent vers la cameline que plus tard dans la saison. L'impact de l'association est certainement modéré sur les populations de ravageurs et par conséquent, également faible sur les ennemis naturels.

La complexité trophique a été appréhendée au laboratoire à travers un système miniaturisé ne tenant compte que d'un seul herbivore et d'un seul de ses parasitoïdes. Cependant, le piégeage en cuvette jaune en parcelle de féverole associée à la cameline (cf. **Annexe n°1**) a permis d'identifier non seulement de nombreuses espèces de phytophages (plus de 35 espèces de pucerons), mais aussi plusieurs espèces de parasitoïdes (appartenant aux genres *Aphidius* et *Trioxys*) et d'hyper-parasitoïdes (appartenant aux genres *Alloxysta*, *Dendrocerus* et *Asaphes*) après émergence en laboratoire des momies recueillies sur le terrain (données non publiées, FREDON Picardie). Nous avons donc créé les bases d'une étude plus complexe sur l'écologie fonctionnelle au sein du système cameline en identifiant les acteurs du second et troisième niveau trophique.

Cette étude a mis en évidence un élément clé de la perturbation du comportement de sélection de l'hôte par les parasitoïdes, qui pourrait potentiellement être en lien avec la diversification de l'habitat. Ceci suggère que l'hypothèse « Mother knows best » pourrait être contrecarrée par l'augmentation de la complexité des systèmes étudiés. Notons toutefois que notre étude de laboratoire n'a pas pris en compte l'environnement olfactif des parasitoïdes durant leurs stades pré-imaginaux (e.g. Sheehan & Shelton 1989). De nombreuses études ont montré que ces stades précoces sont sensibles aux plantes-hôtes et/ou pucerons-hôtes et stimuli chimiques associés, ces derniers pouvant conditionner/influencer les réponses futures des femelles parasitoïdes aux hôtes rencontrés (pour revue, Giunti *et al.* 2015). Un élevage des parasitoïdes sur féverole, plante majoritairement colonisée par *A. fabae*, aurait pu conduire à des résultats différents et une discrimination plus rapide de la qualité du complexe plante-pucerons hôtes adéquat et donc diminuer l'incidence néfaste de l'association sur le taux de parasitisme.

En termes d'interactions trophiques, l'association culturale féverole-cameline ne semble pas permettre d'améliorer la régulation « bottom-up ». Au contraire, en plus de n'avoir aucun effet en champs sur la

colonisation des pucerons (même effectifs relevés sur féverole en monoculture ou en association avec la cameline), l'espèce de puceron majoritairement identifiée sur féveroles, *A. fabae*, étant capable de se développer (en laboratoire et en champs) sur les deux plantes. La régulation « bottom-up » de l'association semble non seulement nulle sur le puceron ravageur, mais en plus, un impact négatif est observé (sélection de complexe plante-puceron hôte défavorable au regard de la fitness réalisée) sur l'espèce de parasitoïde étudiée en laboratoire. Ceci pourrait avoir pour conséquence des répercussions négatives sur la régulation « top-down » des pucerons par les parasitoïdes en condition d'association et donc de limiter les bénéfices attendus pour la plante focale, ici la féverole. Cependant, notre étude n'a pas pris en compte certains bénéfices directs de l'association de différentes plantes, telle que l'augmentation des ressources florales/nectar pouvant favoriser la présence d'auxiliaires (parasitoïdes mais aussi pollinisateurs) (e.g. Jamont, Crépellière & Jaloux 2013; Araj & Wratten 2015). Les bénéfices retirés de l'association en termes d'attraction d'ennemis naturels et d'amélioration de leurs performances à travers les ressources fournies, sont donc susceptibles de contrebalancer les effets négatifs cités précédemment.

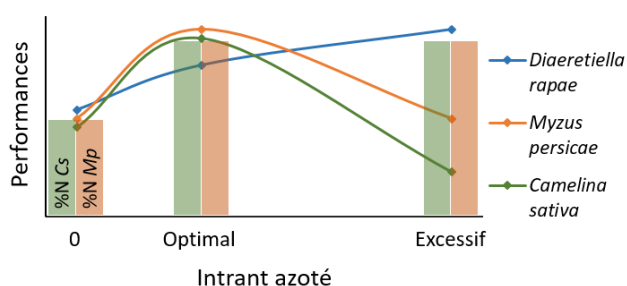
D'un point de vue appliqué, notre étude a mis en évidence que l'association culturale est une pratique agricole qui doit être bien anticipée. Les espèces généralistes d'herbivores, pouvant se développer sur un grand nombre d'espèces de plantes-hôtes, seraient en effet susceptibles d'utiliser les deux plantes associées. Une telle diversité de plantes-hôtes pourrait alors offrir des refuges aux herbivores face à leurs ennemis naturels et donc, par conséquent, limiter le contrôle biologique exercé par ces derniers.

Par la suite, nous avons cherché à caractériser les **effets d'intrants azotés** sur les interactions tri-trophiques, cameline-pucerons-parasitoïdes. D'après la bibliographie, la cameline présente de faibles besoins en intrants azotés. Cependant, des doses modérées d'azote ont montré des effets positifs significatifs sur les rendements en biomasse et la composition des huiles (Solis *et al.* 2013; Jiang & Caldwell 2016). Ainsi, afin d'améliorer sa productivité, la culture pourrait donc recevoir des intrants azotés, ces derniers étant susceptibles de modifier l'équilibre des interactions tri-trophiques (Mattson 1980; White 1993).

Afin d'étudier ces incidences potentielles, nous avons manipulé les concentrations en azote foliaires de plantes de *Camelina sativa* en leur fournissant trois niveaux différents d'azote (une dose contrôle « 0 » c'est-à-dire aucune fertilisation azotée, une dose « optimale » en se référant à la bibliographie, et une dose « excessive » équivalente à trois fois la dose « optimale »). Nous avons étudié comment la modification de la qualité nutritionnelle de la plante-hôte influençait les performances de deux espèces de pucerons, le puceron généraliste, *M. persicae* et le puceron spécialiste des Brassicaceae, *B. brassicae*, et leur parasitoïde commun *Diaeretiella rapae*. D'après les hypothèses d'« interactions tri-trophiques »

(« Tri-trophic Interactions » - « TTI ») proposées par Mooney *et al.* (2012), les herbivores généralistes étant plus sensibles aux variations de qualité de leur plante hôte, nous nous attendions à ce que les performances de *M. persicae* subissent de plus amples variations que celles de *B. brassicae*. L'impact de la variation de qualité de la plante hôte sur le troisième niveau trophique, ici *D. rapae*, devrait également être plus important lorsque le parasitoïde se développe dans le puceron généraliste.

a) *Myzus persicae*



b) *Brevicoryne brassicae*

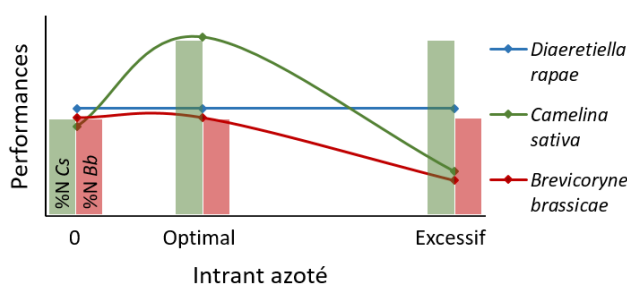


Fig. 22. Bilan des dynamiques des performances (lignes pleines) et des teneurs en azote (histogrammes) des acteurs (vert : plante ; rouge/orange : puceron ; bleu : parasitoïde) des deux différentes chaînes trophiques étudiées selon trois niveaux de fertilisation azotée. (%N Cs : teneur en azote de *Camelina sativa* ; %N Mp : teneur en azote de *Myzus persicae* ; %N Bb : teneur en azote de *Brevicoryne brassicae*).

Les apports azotés ont tous deux conduit à une augmentation des teneurs en azote dans les feuilles des plantes et dans les pucerons *M. persicae* mais n'ont pas modifié la teneur en azote des pucerons *B. brassicae* (**Fig. 22.**). Comme attendu, par rapport au contrôle, la biomasse de la plante a augmenté suite à un traitement optimal en azote mais a diminué suite au traitement excessif. Les performances de *M. persicae* ont été améliorées pour le traitement optimal en comparaison de celles évaluées suite au traitement contrôle et au traitement excessif alors que celles de *B. brassicae* ont diminué uniquement après un traitement excessif. Les prédictions issues de l'hypothèse « TTI » sont donc vérifiées pour un intrant optimal, où seule l'espèce de puceron généraliste voit ses performances augmenter. Cependant, notre modèle met en avant une limite dans cette hypothèse « TTI ». En effet, les deux espèces de pucerons, quel que soit leur degré de spécialisation envers la plante, ont été affectées négativement (par rapport à la condition optimale) par la condition de stress azotée de la plante induite par l'intrant excessif.

Concernant le dernier niveau trophique étudié, en tests de non-choix, les taux d'émergence de *D. rapae* se développant dans *M. persicae* ont été supérieurs pour les deux traitements azotés « optimal » et

« excessif », alors qu'ils sont restés stables quel que soit le traitement quand les parasitoïdes se sont développés dans *B. brassicae*. Le second point de l'hypothèse « TTI » semble donc tout à fait vérifié sur notre modèle. Les variations de qualité du premier niveau trophique ne se répercutent sur le troisième niveau que lorsque le second niveau trophique est un herbivore généraliste.

En termes d'interactions trophiques, les intrants azotés ont des conséquences variables sur la régulation « bottom-up », en fonction de la dose apportée mais aussi des caractéristiques intrinsèques aux pucerons/parasitoïdes. Un intrant modéré, optimal pour la plante, aura globalement des effets neutres à positifs tout au long de la chaîne trophique. Quand l'azote est délivré en dose excessive, la qualité de la plante pour les pucerons est diminuée et par conséquent affecte négativement leurs paramètres de fitness. Étonnamment, ces effets négatifs ont conduit à des conséquences positives ou neutres sur les paramètres de fitness des parasitoïdes, ce qui suggère un effet tamponné au troisième niveau trophique. Le parasitoïde étudié semble donc peu sensible aux baisses de qualité de ses hôtes alors qu'il profite de l'augmentation de leurs performances. L'administration d'un intrant azoté, quelle que soit la dose apportée, ne semble donc pouvoir avoir que des répercussions positives sur la régulation « top-down » subséquente.

L'étude a confirmé les différences de sensibilité aux variations de qualité de plante-hôte des herbivores selon leur spectre de phagie prédite par l'hypothèse « TTI ». Nous avons également retrouvé les effets négatifs qu'un intrant azoté administré en quantité excessive pouvait avoir sur les herbivores, comme cela a été formalisé par Boersma et Elser (2006) puis testé par Zehnder et Hunter (2009). Cependant, sur notre modèle, il ne semble pas que la cause soit un contenu élémentaire de la plante hôte supérieur aux exigences de l'herbivore (« Threshold elemental ratio » - TER), car la teneur en azote dans la plante est identique pour les deux doses étudiées. Pour finir, l'étude a mis en évidence que les répercussions à travers les niveaux trophiques n'étaient pas linéaires et pouvaient perdre en intensité/force pour le troisième niveau trophique.

D'un point de vue appliqué, la dose azotée excessive semble inappropriée quels que soient ses effets sur les niveaux trophiques supérieurs, cette dose étant délétère pour la plante focale. Cependant, les effets étant négatifs ou neutres sur les deux herbivores étudiés mais neutres ou positifs pour le parasitoïde, l'effet tamponné observé sur ce dernier niveau trophique pourrait donc être en faveur d'un contrôle biologique plus important lorsque la dose en azote est excessive. Concernant, la dose optimale, en comparaison du contrôle, l'ensemble des niveaux trophiques réagissant à l'intrant de façon similaire, positivement pour la chaîne trophique avec le puceron généraliste et neutre pour le puceron spécialiste, l'incidence sur le contrôle biologique devrait être modérée.

3. Incidence des phytovirus sur les interactions multi-trophiques.

Le chapitre n°5 vise à caractériser l'effet de phytovirus sur les niveaux trophiques supérieurs, premièrement dans un contexte **d'interactions bi-trophiques** puis **tri-trophiques**.

Dans la **première étude** de ce chapitre, nous avons caractérisé les interactions de différents pathosystèmes impliquant la **cameline**, **deux phytovirus** présentant des modes de transmission distincts et **deux espèces de pucerons-vecteurs** avec des spectres de phagie différents.

Les virus de type « Vector-borne virus » ne pouvant se propager qu'au moyen de vecteurs, ils peuvent induire des changements dans les phénotypes de leurs plantes hôtes, influençant la fréquence et la nature des interactions plante-hôte/vecteur. Ces phytovirus, transmis par les insectes, diffèrent dans leurs modes de transmission, et tirent respectivement avantage d'interactions différentes entre les plantes hôtes et les vecteurs (cf. Chapitre 1, partie 3 § 2.1.). Le comportement des vecteurs envers des plantes infectées facilite en général la propagation du virus et semble converger en fonction du mode de transmission du virus (i.e. persistant, semi-persistant et non-persistant) (Mauck *et al.* 2012) d'où les hypothèses de « manipulation indirecte » adaptative. Cependant, plusieurs points restent à éclaircir. La classification selon la persistance du virus dans le vecteur est discutable puisqu'elle est basée sur des prédictions en regroupant les virus persistants et semi-persistants dans la même catégorie. Ces derniers seraient finalement plus proches des virus non-persistants en considérant le site de rétention (cf. Chapitre 2, partie 1 § 4.1.). Ce point a également été soulevé dans une revue récente et les prédictions redéfinies pour les virus circulants vs. non-circulants (Mauck, De Moraes & Mescher 2016). De plus, certaines études suggèrent que cette manipulation indirecte peut dépendre de plusieurs facteurs relatifs à diverses caractéristiques intrinsèques des vecteurs telles que l'efficacité de la transmission et le degré de spécialisation alimentaire (Hodgson 1981; Tu *et al.* 2013; He *et al.* 2014). Ces effets pouvant avoir des conséquences importantes sur la propagation et l'épidémiologie du virus (Jeger *et al.* 2004; Sisterson 2008), il nous a semblé important d'évaluer les rôles relatifs de ces différents facteurs sur la transmission virale. De plus, les prédictions préalablement établies par McElhany, Real et Power (1995), puis Sisterson (2008) et formalisées récemment par Mauck *et al.* (2012; 2016) ne se sont basées que sur un nombre limité de familles de plantes (majoritairement des Solanaceae, Fabaceae et Poaceae) et n'ont pas été étudiées sur les Brassicaceae, famille de plante modèle.

Nous avons évalué les effets de l'infection de la cameline par le virus semi-persistant non-circulant *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) ou le virus persistant circulant *Turnip yellows virus* (TuYV) sur deux espèces de pucerons: le généraliste *Myzus persicae* et le spécialiste *Brevicoryne brassicae* en étudiant i) la rétention et la dispersion des vecteurs, ii) leur comportement alimentaire monitoré via la technique d'électro-pénétrographie et iii) leurs performances.

L'étude a montré que l'infection virale de la cameline par le CaMV était néfaste pour les deux espèces de pucerons, le comportement alimentaire étant altéré profondément et les performances diminuées. Ces

modifications n'ont cependant pas eu d'incidence sur les taux de rétention/dispersion des pucerons. En revanche, face à une infection par le TuYV, les deux espèces de pucerons ont réagi de manière opposée, le comportement alimentaire et les performances de *M. persicae* étant améliorés alors que ceux de *B. brassicae* étaient diminués. Les taux de rétention/dispersion mesurés ont cette fois-ci confirmé les tendances, pour *M. persicae*, les taux de rétention sur les plantes infectées et dispersion vers les plantes infectées étaient supérieures à ceux pour les plantes saines alors qu'une dynamique inverse a été observée pour *B. brassicae*.

D'un point de vue appliqué, notre étude laisse envisager de lourdes **conséquences épidémiologiques**. En effet, le TuYV semble repousser les pucerons non-vecteurs après installation et retenir les vecteurs, ce qui aurait donc tendance à limiter la concurrence entre pucerons sur les plantes infectées et aurait alors certainement un impact positif sur la propagation du virus. De plus, les performances du puceron vecteur, *M. persicae*, étant favorisées pour le TuYV, le nombre de vecteurs, génération après génération, devrait être de plus en plus important. À l'échelle du paysage, l'ensemble des systèmes cultivés pourrait donc subir une pression accrue de la part de *M. persicae*, vecteur de plus de 100 phytovirus différents. À l'échelle des Brassicaceae, *M. persicae* constituerait également une forte menace pour les plantes d'intérêt agronomique telles que le colza et le navet en accentuant la pression en TuYV.

En mettant nos résultats en relation avec l'efficacité de vection de ces deux pucerons pour les virus, on peut émettre l'hypothèse que la manipulation virale du comportement du vecteur pourrait dépendre non seulement du mode de transmission du virus (Mauck *et al.* 2012, 2016) mais aussi des capacités de transmission du vecteur. En effet, les effets sont identiques pour les deux pucerons étudiés pour le CaMV, alors que ces pucerons sont tous deux de bons vecteurs ; et les effets sont opposés pour le TuYV pour lequel seul *M. persicae* est vecteur. Cette observation rejoint l'idée selon laquelle la manipulation d'un vecteur requiert une co-évolution fine entre la plante hôte, le virus et le vecteur, et donc que la manipulation ne sera effective que dans les cas mettant en œuvre des associations très spécifiques (Mauck *et al.* 2014b). Notre étude apporte donc une précision par rapport aux hypothèses existantes et met en évidence le fait que la manipulation vectorielle semble modulée non seulement par le mode de transmission du virus mais aussi par l'efficacité de vection du vecteur pour le virus considéré.

À la suite de cette étude, nous pouvons proposer des perspectives multiples afin de complexifier et de compléter notre pathosystème. De multiples paramètres négligés dans la littérature restent à prendre en compte concernant les caractéristiques intrinsèques i) des vecteurs (efficacité de transmission, spectre de phagie, morphe, statut virulifère) ; ii) des virus (effet temporel de l'infection et mode de transmission) et iii) des plantes hôtes (sauvages/cultivées/hybrides).

i) Notre étude n'a pas inclus pas de nuance concernant le **degré d'efficacité de transmission vectorielle** (« **transmission efficiency** »), les pucerons étudiés étant vecteurs ou non-vecteurs. Il serait intéressant d'étudier une gamme plus ou moins efficaces de vecteurs pour estimer une influence plus

précise de l'efficacité de vexion sur la manipulation vectorielle. De plus, seules deux espèces de pucerons aux **spectres de phagie** différents ont été étudiées, un spécialiste et un généraliste; il faudrait donc intégrer d'autres pucerons, par exemple, le généraliste *A. fabae* et le spécialiste *R. padi* identifiés comme colonisateurs potentiels de la cameline (Chesnaïs *et al.* 2015b).

Pour compléter notre étude, des tests de choix ont été effectués pour des **pucerons ailés et aptères**. Ces tests ont conforté la tendance (i.e. amélioration de la qualité de la plante suite à l'infection par le TuYV), les deux formes du puceron vecteur sont attirées par la plante infectée par le TuYV vs. la plante saine (données non publiées ; **Fig. 23**). Ces résultats rejoignent ceux documentés pour d'autres *Luteoviridae*, comme le PLRV (Eigenbrode *et al.* 2002) et le BYDV-PAV (Jimenez-Martinez *et al.* 2004). L'ensemble du processus de colonisation sur plante infectée par le TuYV semble donc être modifié de façon à améliorer la propagation du TuYV par *M. persicae*.

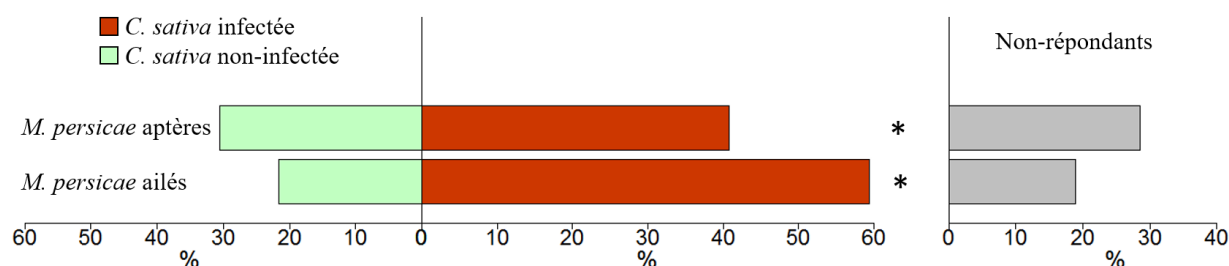


Fig. 23. Pourcentage de *M. persicae* aptères ou ailés s'orientant vers une plante de *Camelina sativa* infectée (orange) ou non-infectée (vert) (pour les individus aptères : test de Wilcoxon pour échantillons appariés ; *, $P < 0,05$; pour les individus ailés : test du Chi-deux ; *, $P < 0,05$). Pourcentage de *M. persicae* aptères ou ailés non répondants (gris) (données non publiées).

Concernant le CaMV, ce virus entraîne une diminution des phases d'alimentation et par conséquent des performances des deux espèces de pucerons étudiées, tous deux vecteurs efficaces. Cet effet médié par la plante peut apparaître à première vue désavantageux pour le virus mais la diminution des phases d'alimentation est au contraire susceptible de favoriser la dissémination du virus. En effet, l'acquisition du virus s'effectue après une simple piqûre dans les tissus superficiels de la plante (Palacios *et al.* 2002) (comportement conservé pour *B. brassicae* et nombre augmenté pour *M. persicae*) et les performances diminuées incitent certainement les pucerons à une dispersion à long terme, bien que rien de tel n'ait été observé après 2 ou 24 heures. Pour compléter l'étude, il serait judicieux de réaliser des tests d'orientation des pucerons face à une plante infectée par le CaMV, tels que ceux réalisés pour le TuYV ; ils permettraient de vérifier si l'effet du CaMV médié par la plante agit également sur les premières phases de colonisation des pucerons. On peut émettre l'hypothèse que les pucerons seront attirés par la cameline infectée par le CaMV, tendance qui semble vérifiée pour l'ensemble des virus quel que soit leur mode de transmission (Mauck *et al.* 2012).

En complément, alors que les effets indirects médiés par la plante sont assez communément détaillés dans la littérature, les **effets directs** (ou **manipulation directe**) du virus sur le comportement (préférence et comportement alimentaire) du **puceron porteur** (syn. **virulifères**) ne sont encore référencés que pour

très peu d'exemples (cf. Chapitre 1, partie 3 § 2.2.). Un travail initié au laboratoire sur la plante modèle phylogénétiquement proche de la cameline, *Arabidopsis thaliana*, tend à confirmer l'existence d'effets directs déjà observés sur quelques modèles. Cependant, ces effets n'étant pas toujours corrélés avec un avantage adaptatif pour le virus (c'est-à-dire que les effets ne semblent pas bénéficier à la transmission vectorielle du virus), l'existence de manipulation est alors remise en question (données non publiées, (Caballero Vidal 2016)). Une étude complémentaire sur la cameline avec le même virus permettrait de discriminer la part imputée à la plante. En effet, *A. thaliana* ne semblant pas émettre d'importantes quantités de VOCs (V. Brault, comm. pers.), cette plante n'est peut-être pas adéquate pour la conduite d'une étude du comportement de choix des vecteurs.

ii) A notre connaissance, dans la littérature, les **effets temporels** de la manipulation du vecteur par un virus sont très mal connus, étudiés seulement sur le virus circulant PLRV (Werner *et al.* 2009; Rajabaskar *et al.* 2013) et le CMV (Shi *et al.* 2016). Il serait intéressant de combler cette lacune en étudiant les interactions au sein d'un pathosystème Brassicaceae en fonction de différents âges de la plante au moment de l'inoculation (par exemple, inoculations de plantules âgées d'une, deux ou trois semaines) et de durées post-infection variables (par exemple, à 14, 21 ou 28 jours après inoculation). En effet, dans la plupart des systèmes étudiés, la sévérité des symptômes est diminuée quand l'inoculation du virus se fait à des stades plus avancés (par exemple, Wilson & Jones 1992; Bosque-Perez, Olojede & Buddenhagen 1998). La tolérance à l'infection liée à la maturité de la plante pourrait donc également avoir un effet sur les facteurs qui influencent le comportement des vecteurs. Nous pouvons émettre les hypothèses que i) plus la plante aura été inoculée tardivement, moins les effets seront importants ; ii) aucun effet ne sera perceptible durant les phases précoces suivant l'inoculation mais des effets convergents avec les hypothèses de manipulation du vecteur seront observés par la suite et des effets délétères seront visibles quand la qualité de la plante diminuera.

L'ensemble des hypothèses de manipulation des vecteurs par les virus décrites par (Mauck *et al.* 2012, 2016) a été construit en laissant de côté la difficulté de la discrimination entre une manipulation adaptative et des sous-produits fortuits de la pathologie (discuté par Blanc & Michalakakis 2016). Afin d'amener quelques bases de réflexion supplémentaires, il serait intéressant de comparer les effets médiés par les plantes sur les vecteurs des virus transmis par des vecteurs (« vector-borne virus ») et ceux des **virus transmis mécaniquement**. Les effets de ce type de virus à transmission non-vectorielle sur le comportement de sélection des pucerons ont déjà été étudiés mais seulement sur l'exemple du *Potato virus X* (PVX – *Potexvirus*). Ces études ont montré que le PVX ne modifiait pas la quantité de volatils émis par la plante de pomme de terre et par conséquent, en comparaison avec le PLRV qui lui augmente la quantité de volatils émis par la plante infectée, les pucerons *M. persicae* s'agrègèrent (à courte distance) préférentiellement sous les feuilles infectées par le PLRV (Eigenbrode *et al.* 2002). Cependant, une autre étude a montré une installation supérieure de *M. persicae* sur les plantes infectées par le PVX et le PVY en comparaison avec des plantes non-infectées, bien qu'inférieure à l'installation sur les

plantes infectées par le PLRV (Castle & Mowry 1998). Pour finir, les performances de *M. persicae* sur les plantes saines ou infectées par le PVX sont identiques (Castle & Berger 1993). L'ensemble de ces résultats sur le PVX semblent indiquer un impact faible ou nul sur les pucerons-vecteurs de ce type de virus. Afin d'augmenter le nombre de modèles étudiés et voir si cette tendance est confirmée, il serait possible de comparer les effets d'un virus à transmission non-vectorielle récemment observé sur la cameline et identifié comme étant le *Watercress white vein virus* (WWVV - *Tymovirus*) (Harju *et al.* 2012) (**Fig. 24.**). Aux vues de la forte décoloration observée sur la plante due à ce virus, il paraît peu probable qu'il n'y ait pas de modifications du comportement de sélection de la plante-hôte par les pucerons. Une étude comme celle-ci permettrait d'aider à la discrimination entre manipulation indirecte adaptative pour un virus à transmission vectorielle et des sous-produits fortuits de la pathologie, probables pour le WWVV.



Fig. 24. Plants de cameline saine (à gauche) et infectée (à droite) par un virus à transmission mécanique proche du WWVV (*Watercress white vein virus*) (photo de Dr.Mark Tepfer INRA-Versailles).

iii) Dans notre étude, nous nous sommes intéressés plus spécialement à deux partenaires du complexe tri-trophique plante-puceron-virus, des virus différant de par leur mode de transmission et des vecteurs possédant différentes caractéristiques intrinsèques. Toutefois, **la variable plante** n'a pas été étudiée alors que des questions importantes émergent dans la littérature concernant le rôle des espèces **sauvages** comme réservoir à virus dans les paysages agricoles (Wisler & Norris 2005; Mauck 2016). Des travaux initiés au sein du laboratoire se sont donc intéressés à la cameline et à son plus proche parent non-cultivé, *Camelina microcarpa* (Andrz) (Bamière 2016). L'intérêt du modèle est que ces deux plantes sont également capables de produire un **hybride viable**, donc en plus des questions épidémiologiques concernant le rôle de la plante sauvage et de l'hybride comme réservoir à pathogènes, ce modèle permet de s'intéresser à l'hérédité à travers la transmission de caractères liés aux sensibilités/résistances.

Suite à l'étude précédente et aux effets positifs mis en avant sur la population de pucerons et la propagation du virus, nous avons ajouté un degré de complexité au pathosystème étudié avec l'introduction d'un **troisième niveau trophique (parasitoïde)**. La seconde étude s'est donc focalisée sur l'incidence de l'infection virale sur la régulation « bottom-up » des deux niveaux trophiques supérieurs, et plus particulièrement les parasitoïdes de pucerons ; les implications sur la régulation « top-down » ont alors été envisagées.

Nous avons testé l'hypothèse qu'un phytovirus puisse modifier le comportement de sélection d'un parasitoïde vers une plante et/ou des pucerons-vecteurs infectés, au sein d'un système d'étude constitué du virus persistant *Turnip yellows virus*, de la plante *Camelina sativa*, du puceron *Myzus persicae* et du parasitoïde *Aphidius colemani*. Nous avons également quantifié l'influence de ce virus sur les traits d'histoire de vie de la plante, de l'espèce de puceron et du parasitoïde.

Les tests de choix réalisés en cage ont montré une attraction similaire des parasitoïdes pour des plantes témoins et virosées, et des taux d'attaque identiques des pucerons virulifères sur plante infectée et des pucerons non-virulifères sur plante non-infectée. Ces résultats indiquent que le virus TuYV n'affecte pas le comportement de sélection (de plante hôte, de puceron-hôte ou de complexe plante-puceron hôtes) des parasitoïdes. Nous avons cependant observé une réduction de la taille, du taux de développement, de la fécondité et de la teneur en lipides des parasitoïdes lorsqu'ils se développent dans des pucerons virulifères sur plante infectée. Cette réduction des traits liés à la fitness pourrait être expliquée par la plus petite taille des pucerons hôtes observée en présence du virus, elle-même corrélée à une activité photosynthétique et une taille réduites des plantes infectées, probablement synonymes d'une plante de moindre qualité pour les herbivores. En effet, la littérature tend à montrer que l'infection virale peut considérablement altérer la chimie de la plante, aussi bien en termes de composés primaires (sucres, acides aminés) que secondaires (composés de défenses internes ou émis tels que les VOCs) (cf. Chapitre 1, partie 3 § 1.). Cette altération des traits de la plante est progressive, des travaux préliminaires sur cameline-TuYV montrent que les profils métabolomiques des plantes saines et infectées se différencient de plus en plus au fur et à mesure de la progression de l'infestation (données non publiées, comm. pers. V. Brault). Nos observations à 21 dpi (jours après infection) ne reflètent pas l'ensemble de la relation plante-puceron-virus-parasitoïde au cours d'une infection. Nos résultats mettent en avant une altération de la chimie de la plante significative qui se répercute sur les traits physiologiques des différents acteurs du pathosystème mais ils ne révèlent aucune altération du comportement. Il est possible que l'altération des profils en volatils soit plus tardive ou alors que les parasitoïdes soient insensibles à cette modification. Afin de compléter ce travail, il serait intéressant de réaliser une étude comportementale des parasitoïdes à différentes dpi, et peut-être d'envisager une espèce de parasitoïde plus spécialisée qu'*A. colemani*, telle que *Diaeretiella rapae*, très sensible aux volatils émis par ses plantes hôtes, les Brassicaceae.

Le virus TuYV modifie donc la régulation « bottom-up » sur l'ensemble de la chaîne trophique étudiée, mais les effets sont divers en fonction des maillons, favorisant les vecteurs et défavorisant plantes-hôtes et ennemis naturels. On peut donc également envisager des effets sur la régulation « top-down » subséquente. Les parasitoïdes plus petits et ayant moins de réserves en lipides auront plus de mal à effectuer leurs recherches d'hôtes (plante et/ou puceron) et réguleront certainement moins efficacement les populations de ravageurs.

Cette étude, à notre connaissance la première à s'intéresser aux répercussions d'un virus sur le comportement et les performances d'un parasitoïde de puceron, ouvre matière à réflexion quant à l'efficacité de cet agent de lutte biologique dans un contexte d'agrosystème infecté par un virus. Notre étude semble montrer que leur efficacité risque d'être réduite et d'autres études récentes montrent que la présence d'un parasitoïde dans l'environnement pourrait favoriser la dissémination d'un virus entre plantes via une augmentation des mouvements des pucerons attaqués par effet « top-down » (Christiansen-Weniger *et al.* 1998; Hodge *et al.* 2011; Jeger *et al.* 2011; Dáder *et al.* 2012). Peut-être serait-il donc préférable de limiter les lâchers de parasitoïdes en présence de plantes infectées pour recourir, à la place, à l'utilisation de prédateurs tels que des coccinelles ; celles-ci seraient peut-être même plus efficaces dans ces conditions car la taille des pucerons étant diminuée, elles peuvent compenser la faible taille de leurs proies en augmentant le nombre d'individus consommés (Couture *et al.* 2010).

D'un point de vue appliqué, la présence du TuYV dans les agro-écosystèmes, en plus d'être néfaste pour la plante en diminuant sa masse et son efficacité photosynthétique, pourrait donc réduire le contrôle biologique des pucerons par les parasitoïdes qui ne semblent pas discriminer un hôte virulifère (s'étant développé sur une plante infectée) réduisant ses performances et d'un puceron sain (s'étant développé sur une plante non-infectée).

Conclusion

L'impact des introductions (ou ré-introduction) d'espèces végétales au sein des paysages agricoles est difficile à anticiper si l'étude approfondie des cortèges de ravageurs et pathogènes associés est négligée. A travers ce travail de thèse, nous avons identifié des bases pour un itinéraire de réintroduction de la cameline au sein des agro-écosystèmes du nord de la France tout en pointant les risques associés à certaines pratiques culturales.

L'étude a permis d'identifier certaines limites des critères de sélection variétale basée essentiellement sur des caractéristiques liées aux rendements et à la qualité nutritionnelle (teneur en huiles et protéines, précocité, poids de mille grains) et non sur des sensibilités aux ravageurs et pathogènes. Cette sélection, bien qu'importante dans un contexte nutritionnel et bioénergétique, néglige la protection des cultures, dimension importante en vue d'une agriculture raisonnée et intégrée.

Au-delà de cette étude, dans le cadre d'une introduction (ou ré-introduction) d'espèce végétale, il ne faut pas réduire le cortège de ravageurs étudiés au plus « évidents ». La plante peut servir de réservoir à des espèces de pucerons, même faiblement, mais suffisamment pour permettre aux espèces de maintenir une population et accélérer leur dynamique reproductive. Ce point est d'autant plus important qu'à plus long terme, le changement global, s'accompagnant d'une augmentation des températures, permettrait aux populations de ravageurs aphidiennes de maintenir des populations parthénogénétiques toute l'année sur des plantes utilisées en inter-cultures comme la cameline.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- Abramovič, H. & Abram, V. (2005) Physico-chemical properties, composition and oxidative stability of camelina sativa oil. *Food Technology and Biotechnology*, **43**, 63–70.
- Abramovič, H., Butinar, B. & Nikolič, V. (2007) Changes occurring in phenolic content, tocopherol composition and oxidative stability of Camelina sativa oil during storage. *Food Chemistry*, **104**, 903–909.
- Agegehu, G., Ghizaw, A. & Sinebo, W. (2008) Yield potential and land-use efficiency of wheat and faba bean mixed intercropping. *Agronomy for Sustainable Development*, **28**, 257–263.
- Agegehu, M. & Honermeier, B. (1997) Effects of seeding rates and nitrogen fertilization on seed yield, seed quality and yield components of false flax (Camelina sativa Crtz.). *Bodenkultur*, **48**, 15–21.
- Agrawal, A.A. & Kurashige, N.S. (2003) A role for isothiocyanates in plant resistance against the specialist herbivore Pieris rapae. *Journal of Chemical Ecology*, **29**, 1403–15.
- Ajayi, O. (1986) The Effect of Barley Yellow Dwarf Virus on the Amino-Acid-Composition of Spring Wheat. *Annals of Applied Biology*, **108**, 145–149.
- Alboresi, A., Gustin, C., Leydecker, M.T., Bedu, M., Meyer, C. & Truong, H.N. (2005) Nitrate, a signal relieving seed dormancy in Arabidopsis. *Plant, Cell and Environment*, **28**, 500–512.
- Allen, S. & Smith, J.A.C. (1986) Ammonium nutrition in Ricinus communis: its effect on plant growth and the chemical composition of the whole plant, xylem and phloem saps. *Journal of Experimental Botany*, **37**, 1599–1610.
- Altieri, M.A., Wilson, R.C. & Schmidt, L.L. (1985) The effects of living mulches and weed cover on the dynamics of foliage- and soil-arthropod communities in three crop systems. *Crop Protection*, **4**, 201–213.
- Alvarez, J.M., Vidal, E.A. & Gutiérrez, R.A. (2012) Integration of local and systemic signaling pathways for plant N responses. *Current Opinion in Plant Biology*, **15**, 185–191.
- Ameline, A., Kerdellant, E., Rombaut, A., Chesnais, Q., Dubois, F., Lasue, P., Coulette, Q., Rambaud, C. & Couty, A. (2015) Status of the bioenergy crop miscanthus as a potential reservoir for aphid pests. *Industrial Crops and Products*, **74**, 103–110.
- Andersen, M.K., Hauggaard-Nielsen, H., Høgh-Jensen, H. & Jensen, E.S. (2007) Competition for and utilisation of sulfur in sole and intercrops of pea and barley. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, **77**, 143–153.
- Anderson, T.R., Hessen, D.O., Elser, J.J. & Urabe, J. (2005) Metabolic Stoichiometry and the Fate of Excess Carbon and Nutrients in Consumers. *The American Naturalist*, **165**, 1–15.
- Andow, D.A. (1991) Vegetational diversity and arthropod population response. *Annual Review of Entomology*, **36**, 561–586.
- Andow, D.A., Nicholson, A.G., Wien, H.C. & Willson, H.R. (1986) Insect Populations on Cabbage Grown with Living Mulches. *Environmental Entomology*, **15**, 293–299.
- Aqueel, M.A., Raza, A.M., Balal, R.M., Shahid, M.A., Mustafa, I., Javaid, M.M. & Leather, S.R. (2015) Tritrophic interactions between parasitoids and cereal aphids are mediated by nitrogen fertilizer. *Insect Science*, **22**, 813–820.
- Aquilino, K.M., Cardinale, B.J. & Ives, A.R. (2005) Reciprocal effects of host plant and natural enemy diversity on herbivore suppression: an empirical study of a model tritrophic system. *Oikos*, **108**,

- Araj, S.-E. & Wratten, S.D. (2015) Comparing existing weeds and commonly used insectary plants as floral resources for a parasitoid. *Biological Control*, **81**, 15–20.
- Assefa, G. & Ledin, I. (2001) Effect of variety, soil type and fertiliser on the establishment, growth, forage yield, quality and voluntary intake by cattle of oats and vetches cultivated in pure stands and mixtures. *Animal Feed Science and Technology*, **92**, 95–111.
- Awmack, C.S. & Leather, S.R. (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, **47**, 817–844.
- Aziza, A.E., Quezada, N. & Cherian, G. (2010) Antioxidative effect of dietary Camelina meal in fresh, stored, or cooked broiler chicken meat. *Poultry Science*, **89**, 2711–2718.
- Azzouz, H., Giordanengo, P., Wäckers, F.L. & Kaiser, L. (2004) Effects of feeding frequency and sugar concentration on behavior and longevity of the adult aphid parasitoid: *Aphidius ervi* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, **31**, 445–452.
- Bamière, A. (2016) Étude des interactions entre les plantes du genre *Camelina* (*Camelina sativa*, *Camelina microcarpa* et leur hybride)/ le phytovirus TuYV/ le puceron vecteur *Myzus persicae*. Master report. EDYSAN - UPJV, 58.
- Banfield-Zanin, J.A., Rossiter, J.T., Wright, D.J., Leather, S.R. & Staley, J.T. (2012) Predator mortality depends on whether its prey feeds on organic or conventionally fertilised plants. *Biological Control*, **63**, 56–61.
- Banks, J.E. & Ekbom, B. (1999) Modelling herbivore movement and colonization: pest management potential of intercropping and trap cropping. *Agricultural and Forest Entomology*, **1**, 165–170.
- Bansal, S. & Durrett, T.P. (2016) *Camelina sativa*: An ideal platform for the metabolic engineering and field production of industrial lipids. *Biochimie*, **120**, 9–16.
- Barber, S. (1995) *Soil Nutrient Bioavailability: A Mechanistic Approach*. Wiley, New York.
- Barbosa, P., Gross, P. & Kemper, J. (1991) Influence of plant allelochemicals on the tobacco hornworm and its parasitoid, *Cotesia congregata*. *Ecology*, **72**, 1567–1575.
- Barneix, A.J. & Causin, H.F. (1996) The central role of amino acids on nitrogen utilization and plant growth. *Journal of Plant Physiology*, **149**, 358–362.
- Barth, C. & Jander, G. (2006) Arabidopsis myrosinases TGG1 and TGG2 have redundant function in glucosinolate breakdown and insect defense. *Plant Journal*, **46**, 549–562.
- Baumann, D.T., Bastiaans, L. & Kropff, M.J. (2002) Intercropping system optimization for yield, quality, and weed suppression combining mechanistic and descriptive models. *Agronomy Journal*, **94**, 734–742.
- Bell, J.G., Pratoomyot, J., Strachan, F., Henderson, R.J., Fontanillas, R., Hebard, A., Guy, D.R., Hunter, D. & Tocher, D.R. (2010) Growth, flesh adiposity and fatty acid composition of Atlantic salmon (*Salmo salar*) families with contrasting flesh adiposity: Effects of replacement of dietary fish oil with vegetable oils. *Aquaculture*, **306**, 225–232.
- Belliure, B., Janssen, A., Maris, P.C., Peters, D. & Sabelis, M.W. (2005) Herbivore arthropods benefit from vectoring plant viruses. *Ecology Letters*, **8**, 70–79.
- Belliure, B., Janssen, A. & Sabelis, M.W. (2008) Herbivore benefits from vectoring plant virus through reduction of period of vulnerability to predation. *Oecologia*, **156**, 797–806.
- Berhow, M.A., Polat, U., Glinski, J.A., Glensk, M., Vaughn, S.F., Isbell, T., Ayala-diaz, I., Marek, L. & Gardner, C. (2013) Optimized analysis and quantification of glucosinolates from *Camelina*

- sativa seeds by reverse-phase liquid chromatography. *Industrial Crops & Products*, **43**, 119–125.
- Bernays, E.A. & Chapman, R.E. (1994) *Host-Plant Selection by Phytophagous Insects*. Springer US, Boston, MA.
- Bezemer, T.M., Harvey, J.A., Kamp, A.F.D., Wagenaar, R., Gols, R., Kostenko, O., Fortuna, T., Engelkes, T., Vet, L.E.M., Van Der Putten, W.H. & Soler, R. (2010) Behaviour of male and female parasitoids in the field: influence of patch size, host density, and habitat complexity. *Ecological Entomology*, **35**, 341–351.
- Birch, L.C. (1948) The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *Journal of Animal Ecology*, **17**, 15–26.
- Björkman, M., Hambäck, P.A., Hopkins, R.J. & Rämert, B. (2010) Evaluating the enemies hypothesis in a clover-cabbage intercrop: Effects of generalist and specialist natural enemies on the turnip root fly (*Delia floralis*). *Agricultural and Forest Entomology*, **12**, 123–132.
- Björkman, M., Hopkins, R.J., Hambäck, P.A. & Rämert, B. (2009) Effects of plant competition and herbivore density on the development of the turnip root fly (*Delia floralis*) in an intercropping system. *Arthropod-Plant Interactions*, **3**, 55–62.
- Blackman, R.L. & Eastop, V.F. (2000) *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide*, John Wiley. Wiley, New York.
- Blanc, S., Michalakakis, Y., Blanc, S. & Michalakakis, Y. (2016) Manipulation of hosts and vectors by plant viruses and impact of the environment. *Current Opinion in Insect Science*, **16**, 36–43.
- Blande, J.D., Pickett, J.A. & Poppy, G.M. (2004) Attack Rate and Success of the Parasitoid *Diaeretiella rapae* on Specialist and Generalist Feeding Aphids. *Journal of Chemical Ecology*, **30**, 1781–1795.
- Blande, J.D., Pickett, J.A. & Poppy, G.M. (2007) A Comparison of Semiochemically Mediated Interactions Involving Specialist and Generalist Brassica-feeding Aphids and the Braconid Parasitoid *Diaeretiella rapae*. *Journal of Chemical Ecology*, **33**, 767–779.
- Boersma, M. & Elser, J.J. (2006) Too Much of a Good Thing: on Stoichiometrically Balanced Diets and Maximal Growth. *Ecology*, **87**, 1325–1330.
- Bones, A.M. & Rossiter, J.T. (2006) The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates. *Phytochemistry*, **67**, 1053–1067.
- Bonjean, A. & Le Goffic, F. (1999) Camelina sativa (L.) Crantz : une opportunité pour l'agriculture et l'industrie européennes. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, **6**, 28–34.
- Bonnier, G. (1985) *Flore Complète Portative de La France, de La Suisse, de La Belgique : Pour Trouver Facilement Les Noms Des Plantes sans Mots Techniques*, Belin.
- Boquel, S., Ameline, A. & Giordanengo, P. (2011) Assessing aphids potato virus Y-transmission efficiency: A new approach. *Journal of Virological Methods*, **178**, 63–67.
- Boquel, S., Delayen, C., Couty, A., Giordanengo, P. & Ameline, A. (2012) Modulation of Aphid Vector Activity by Potato virus Y on In Vitro Potato Plants. *Plant Disease*, **96**, 82–86.
- Bosque-Pérez, N.A. & Eigenbrode, S.D. (2011) The influence of virus-induced changes in plants on aphid vectors: insights from luteovirus pathosystems. *Virus research*, **159**, 201–205.
- Bosque-Pérez, N.A., Olojede, S.O. & Buddenhagen, I.W. (1998) No Title. *Euphytica*, **101**, 307–317.
- BP. (2016) BP Statistical Review of World Energy June 2016. URL <http://www.bp.com/content/dam/bp/pdf/energy-economics/statistical-review-2016/bp-statistical-review-of-world-energy-2016-full-report.pdf> [accessed 24 August 2016]
- Bradburne, R.P. & Mithen, R. (2000) Glucosinolate genetics and the attraction of the aphid parasitoid

- Diaeretiella rapae to Brassica. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, **267**, 89–95.
- Braendle, C., Davis, G.K., Brisson, J.A. & Stern, D.L. (2006) Wing dimorphism in aphids. *Heredity*, **97**, 192–9.
- Brault, V., Uzest, M., Monsion, B., Jacquot, E. & Blanc, S. (2010) Aphids as transport devices for plant viruses. *Comptes Rendus Biologies*, **333**, 524–538.
- Brennan, E.B. (2013) Agronomic aspects of strip intercropping lettuce with alyssum for biological control of aphids. *Biological Control*, **65**, 302–311.
- Bridges, M., Jones, A.M.E., Bones, A.M., Hodgson, C., Cole, R., Bartlet, E., Wallsgrove, R., Karapapa, V.K., Watts, N. & Rossiter, J.T. (2002) Spatial organization of the glucosinolate-myrosinase system in brassica specialist aphids is similar to that of the host plant. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, **269**, 187–191.
- Bringezu, S., Brien, M.O., Howarth, R.W., Weizsäcker, U. Von, Hardy, Y., Bustamante, M., Aksornkoae, S., Bella, A. & Mcglade, J. (2009) *Towards Sustainable Production and Use of Resources: Assessing Biofuels (Report)*. United Nations Environment Programme, Nairobi.
- Broad, S.T., Schellhorn, N.A., Lisson, S.N., Mendham, N.J. & Corkrey, R. (2008) Host location and parasitism of Brevicoryne brassicae in diversified broccoli cropping systems. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **129**, 166–171.
- Broadbent, L. (1957) *Investigation of Virus Diseases of Brassica Crops*. Agricultural Research Council Report, series 14. Cambridge University Press, Cambridge, MA.
- Browne, L.M., Conn, K.L., Ayert, W.A. & Tewari, J.P. (1991) The camalexins: New phytoalexins produced in the leaves of camelina sativa (cruciferae). *Tetrahedron*, **47**, 3909–3914.
- Bruce, T.J.A. (2014) Glucosinolates in oilseed rape: Secondary metabolites that influence interactions with herbivores and their natural enemies. *Annals of Applied Biology*, **164**, 348–353.
- Brunissen, L., Cherqui, A., Pelletier, Y., Vincent, C. & Giordanengo, P. (2009) Host-plant mediated interactions between two aphid species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **132**, 30–38.
- Brunt, A., Crabtree, K., Dallwitz, M., Gibbs, A., Watson, L. & Zurcher, E. (1997) Plant Viruses Online : Descriptions and Lists from the VIDE Database. URL <http://sdb.im.ac.cn/vide/refs.htm> [accessed 7 October 2016]
- Bryant, J.P., Chapin, F.S. & Klein, D.R. (1983) Carbon/Nutrient Balance of Boreal Plants in Relation to Vertebrate Herbivory. *Oikos*, **40**, 357.
- Bukovinszky, T., Gols, R., Hemerik, L., Van Lenteren, J.C. & Vet, L.E.M. (2007) Time allocation of a parasitoid foraging in heterogeneous vegetation: Implications for host-parasitoid interactions. *Journal of Animal Ecology*, **76**, 845–853.
- Bukovinszky, T., Poelman, E.H., Gols, R., Prekatsakis, G., Vet, L.E.M., Harvey, J.A. & Dicke, M. (2009) Consequences of constitutive and induced variation in plant nutritional quality for immune defence of a herbivore against parasitism. *Oecologia*, **160**, 299–308.
- Bukovinszky, T., Tréfás, H., van Lenteren, J.C., Vet, L.E.M. & Fremont, J. (2004) Plant competition in pest-suppressive intercropping systems complicates evaluation of herbivore responses. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **102**, 185–196.
- Bukovinszky, T., van Veen, F.J.F., Jongema, Y. & Dicke, M. (2008) Direct and Indirect Effects of Resource Quality on Food Web Structure. *Science*, **319**, 804–807.
- Caballero Vidal, G.N. (2016) Manipulation directe d'un puceron par un phytovirus persistant: Cas du pathosystème: Arabidopsis thaliana / Virus de la jaunisse du navet (TuYV) / Myzus persicae. *Master report. EDYSAN - UPJV*, 47.

- Calvo, D. & Fereres, A. (2011) The performance of an aphid parasitoid is negatively affected by the presence of a circulative plant virus. *BioControl*, **56**, 747–757.
- Cartwright, B., Roberts, B.W., Hartz, T.K. & Edelson, J. V. (1990) Effects of mulches on the population increase of *Myzus persicae* (Sulzer) on bell peppers. *Southwestern Entomologist*, **15**, 475–479.
- Casteel, C.L. & Falk, B.W. (2016) Plant Virus-Vector Interactions: More Than Just for Virus Transmission. *Current Research Topics in Plant Virology* (eds A. Wang & X. Zhou), pp. 217–240. inbook, Springer International Publishing, Cham.
- Castle, S.J. & Berger, P.H. (1993) Rates of growth and increase of *Myzus persicae* on virus-infected potatoes according to type of virus-vector relationship. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **69**, 51–60.
- Castle, S.J. & Mowry, T.M. (1998) Differential Settling by *Myzus persicae* (Homoptera : Aphididae) on Various Virus Infected Host Plants. *Annals of the Entomological Society of America*, **91**, 661–667.
- Causin, H.F. & Barneix, A.J. (1993) Regulation of net NH_4^+ uptake in wheat plants: Effect of root ammonium concentrations and amino acids. *Plant and Soil*, **151**, 211–218.
- Chau, A. & Mackauer, M. (1997) Dropping of pea aphids from feeding site: A consequence of parasitism by the wasp, *Monoctonus paulensis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **83**, 247–252.
- Chaudhry, Z., Fujimoto, S., Satoh, S., Yoshioka, T., Hase, S. & Ehara, Y. (1999) Stimulated Ethylene Production in Tobacco (*Nicotiana Tabacum* L., Cv. Ky 57) Leaves Infected Systemically with Cucumber Mosaic Virus Yellow Strain. *Biology and Biotechnology of the Plant Hormone Ethylene II*, pp. 285–291. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Chen, C., Bekkerman, A., Afshar, R.K. & Neill, K. (2015) Intensification of dryland cropping systems for bio-feedstock production: Evaluation of agronomic and economic benefits of *Camelina sativa*. *Industrial Crops and Products*, **71**, 114–121.
- Chen, Y., Olson, D.M. & Ruberson, J.R. (2010) Effects of nitrogen fertilization on tritrophic interactions. *Arthropod-Plant Interactions*, **4**, 81–94.
- Chen, Y., Schmelz, E.A., Wäckers, F. & Ruberson, J.R. (2008) Cotton Plant, *Gossypium hirsutum* L., Defense in Response to Nitrogen Fertilization. *Journal of Chemical Ecology*, **34**, 1553–1564.
- Chesnais, Q., Ameline, A., Doury, G., Le Roux, V. & Couty, A. (2015a) Aphid Parasitoid Mothers Don't Always Know Best through the Whole Host Selection Process (ed P Schausberger). *PLOS ONE*, **10**, e0135661.
- Chesnais, Q., Verzeaux, J., Couty, A., Le Roux, V. & Ameline, A. (2015b) Is the Oil Seed Crop *Camelina sativa* a Potential Host for Aphid Pests? *BioEnergy Research*, **8**, 91–99.
- Christiansen-Weniger, P., Powell, G. & Hardie, J. (1998) Plant virus and parasitoid interactions in a shared insect vector/host. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **86**, 205–213.
- Chuche, J., Auricau-Bouvery, N., Danet, J.-L. & Thiéry, D. (2016) Use the insiders: could insect facultative symbionts control vector-borne plant diseases? *Journal of Pest Science*, **(in press)**.
- Cipollini, M.L., Paulk, E. & Cipollini, D.F. (2002) Effect of Nitrogen and Water treatment on leaf chemistry in Horsenettle (*Solanum carolinense*), and relationship to herbivory by flea beetles (*Epitrix* spp.) and tobacco hornworm (*Manduca sexta*). *Journal of Chemical Ecology*, **28**, 2377–2398.
- Clavijo McCormick, A., Unsicker, S.B. & Gershenzon, J. (2012) The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends in Plant Science*, **17**, 303–310.
- Coley, P.D., Bryant, J.P. & Chapin, F.S. (1985) Resource Availability Defense. *Science*, **230**, 895–899.

- Cook, S.M., Khan, Z.R. & Pickett, J.A. (2007) The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annual Review of Entomology*, **52**, 375–400.
- Costello, M. (1994) Broccoli growth, yield and level of aphid infestation in leguminous living mulches. *Biological Agriculture & Horticulture*, **10**, 207–222.
- Costello, M.J. (1995) Spectral reflectance from a broccoli crop with vegetation or soil as background: influence on immigration by *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **75**, 109–118.
- Costello, M.J. & Altieri, M.A. (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.
- Couture, J.J., Servi, J.S. & Lindroth, R.L. (2010) Increased nitrogen availability influences predator–prey interactions by altering host-plant quality. *Chemoecology*, **20**, 277–284.
- Crutsinger, G.M. (2006) Plant Genotypic Diversity Predicts Community Structure and Governs an Ecosystem Process. *Science*, **313**, 966–968.
- Dáder, B., Moreno, A., Viñuela, E. & Fereres, A. (2012) Spatio-temporal dynamics of viruses are differentially affected by parasitoids depending on the mode of transmission. *Viruses*, **4**, 3069–3089.
- Dahlman, D.L. (1990) Evaluation of Teratocyte Functions: An Overview. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **166**, 159–166.
- Denno, R.F. & Fagan, W.F. (2003) Might nitrogen limitation promote omnivory among carnivorous arthropods? *Ecology*, **84**, 2522–2531.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Fauvergue, X., Privet, S. & Kaiser, L. (2004) Oviposition behaviour and patch-time allocation in two aphid parasitoids exposed to deltamethrin residues. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **112**, 227–235.
- Dethier, V.G. (1954) Evolution of Feeding Preferences in Phytophagous Insects. *Evolution*, **8**, 33–54.
- Dicke, M. (2009) Behavioural and community ecology of plants that cry for help. *Plant, cell & environment*, **32**, 654–665.
- Dicke, M. & Hilker, M. (2003) Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. *Basic and Applied Ecology*, **14**, 3–14.
- Dixon, A.F.G. (1998) *Aphid Ecology: An Optimization Approach*. Chapman & Hall, London, UK.
- Döring, T.F. & Röhrig, K. (2016) Behavioural response of winged aphids to visual contrasts in the field. *Annals of Applied Biology*, **168**, 421–434.
- Doutt, R.L. (1959) The Biology of Parasitic Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, **4**, 161–182.
- Du, Y.J., Poppy, G.M., Powell, W., Pickett, J.A., Wadhams, L.J. & Woodcock, C.M. (1998) Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*, **24**, 1355–1368.
- Dudt, J.F. & Shure, D.J. (1994) The Influence of Light and Nutrients on Foliar Phenolics and Insect Herbivory. *Ecology*, **75**, 86–98.
- Duffus, J.E. (1981) Beet Western Yellows Virus-A Major Component of Some Potato Leaf Roll-Affected Plants. *Phytopathology*, **71**, 193–196.
- Eigenbrode, S.D., Ding, H., Shiel, P. & Berger, P.H. (2002) Volatiles from potato plants infected with potato leafroll virus attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, **269**, 455–460.

- El-Swaify, S.A., Lo, A., Joy, R., Shinshiro, L. & Yost, R.S. (1988) Achieving conservation-effectiveness in the tropics using legume intercrops. *Soil Technology*, **1**, 1–12.
- van Emden, H.F. (1966) Studies on the relations of insect and host plant - III. A comparison of the reproduction of *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae*: (Hemiptera: Aphididae) on brussels sprout plants supplied with different rates of nitrogen and potassium. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **9**, 444–460.
- Fagan, W.F., Siemann, E., Mitter, C., Denno, R.F., Huberty, A.F., Woods, H.A. & Elser, J.J. (2002) Nitrogen in insects: implications for trophic complexity and species diversification. *The American naturalist*, **160**, 784–802.
- Fahey, J.W., Zalcmann, A.T. & Talalay, P. (2001) The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, **56**, 5–51.
- FAO. (2008) *The State of Food and Agriculture. BIOFUELS: Prospects, Risks and Opportunities*. Rome, Italy.
- Farnham, M.W., Stephenson, K.K. & Fahey, J.W. (2005) Glucoraphanin level in broccoli seed is largely determined by genotype. *HortScience*, **40**, 50–53.
- Faure, J. & Tepfer, M. (2016) Camelina, a Swiss knife for plant lipid biotechnology. *OCL*, **23**, D503.
- Fereres, A., Araya, J.E. & Housley, T.L. (1990) Carbohydrate composition of wheat infected with barley yellow dwarf virus. *Journal of Plant Disease Protection*, **97**, 600–608.
- Fereres, A. & Moreno, A. (2009) Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. *Virus Research*, **141**, 158–168.
- Fiebig, M., Poehling, H.-M. & Borgemeister, C. (2004) Barley yellow dwarf virus, wheat, and *Sitobion avenae*: a case of trilateral interactions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **110**, 11–21.
- Forkner, R.E. & Hunter, M.D. (2000) What goes up must come down? Nutrient addition and predation pressure on oak herbivores. *Ecology*, **81**, 1588–1600.
- Francis, F., Lognay, G., Wathelet, J. & Haubruge, E. (2001) Effects of Allelochemicals From First (Brassicaceae) and Second (*Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae*) Trophic Levels on *Adalia bipunctata*. *Journal of Chemical Ecology*, **27**, 243–256.
- French, A.N., Hunsaker, D., Thorp, K. & Clarke, T. (2009) Evapotranspiration over a camelina crop at Maricopa, Arizona. *Industrial Crops and Products*, **29**, 289–300.
- Frink, C.R., Waggoner, P.E. & Ausubel, J.H. (1999) Nitrogen fertilizer: Retrospect and prospect. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **96**, 1175–1180.
- Fritzsche-Hoballah, M.E., Tamò, C. & Turlings, T.C.J. (2002) Differential attractiveness of induced odors emitted by eight maize varieties for the parasitoid *Cotesia marginiventris*: is quality or quantity important? *Journal of Chemical Ecology*, **28**, 951–968.
- Fröhlich, A. & Rice, B. (2005) Evaluation of Camelina sativa oil as a feedstock for biodiesel production. *Industrial Crops and Products*, **21**, 25–31.
- Fujita, K., Ofosu-Budu, K.G. & Ogata, S. (1992) Biological nitrogen fixation in mixed legume-cereal cropping systems. *Plant and Soil*, **141**, 155–175.
- Garratt, M.P.D., Leather, S.R. & Wright, D.J. (2010) Tritrophic effects of organic and conventional fertilisers on a cereal-aphid-parasitoid system. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **134**, 211–219.
- Giordanengo, P. (2012) DEMP 1.5.4: Programme php pour calculer les paramètres démographiques.
- Giordanengo, P. (2014) EPG-Calc: a PHP-based script to calculate electrical penetration graph (EPG)

- parameters. *Arthropod-Plant Interactions*, **8**, 163–169.
- Girling, R.D., Hassall, M., Turner, J.G. & Poppy, G.M. (2006) Behavioural responses of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to volatiles from *Arabidopsis thaliana* induced by *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **120**, 1–9.
- Giron, D., Rivero, A., Mandon, N., Darrouzet, E. & Casas, J. (2002) The physiology of host feeding in parasitic wasps: Implications for survival. *Functional Ecology*, **16**, 750–757.
- Giunti, G., Canale, A., Messing, R.H., Donati, E., Stefanini, C., Michaud, J.P. & Benelli, G. (2015) Parasitoid learning: Current knowledge and implications for biological control. *Biological Control*, **90**, 208–219.
- Glazebrook, J. (2005) Contrasting Mechanisms of Defense Against Biotrophic and Necrotrophic Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, **43**, 205–227.
- Godfray, H.C.J. (1994) *Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology*, Princeton. Princeton, New Jersey.
- Gols, R., Bukovinszky, T., van Dam, N.M., Dicke, M., Bullock, J.M. & Harvey, J.A. (2008) Performance of generalist and specialist herbivores and their endoparasitoids differs on cultivated and wild Brassica populations. *Journal of Chemical Ecology*, **34**, 132–143.
- Gols, R., Bukovinszky, T., Hemerik, L., Harvey, J.A., van Lenteren, J.C. & Vet, L.E.M. (2005) Reduced foraging efficiency of a parasitoid under habitat complexity : implications for population stability and species coexistence. *Journal of Animal Ecology*, **74**, 1059–1068.
- Gols, R., van Dam, N.M., Raaijmakers, C.E., Dicke, M. & Harvey, J.A. (2009) Are population differences in plant quality reflected in the preference and performance of two endoparasitoid wasps? *Oikos*, **118**, 733–742.
- Gols, R. & Harvey, J.A. (2009) Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. *Phytochemistry Reviews*, **8**, 187–206.
- Gouinguené, S.P. & Turlings, T.C.J. (2002) The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. *Plant Physiology*, **129**, 1296–307.
- Gratton, C. & Denno, R.F. (2003) Seasonal shift from bottom-up to top-down impact in phytophagous insect populations. *Oecologia*, **134**, 487–495.
- Gray, S.M. & Banerjee, N. (1999) Mechanisms of arthropod transmission of plant and animal viruses. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*, **63**, 128–148.
- Grubb, C.D. & Abel, S. (2006) Glucosinolate metabolism and its control. *Trends in Plant Science*, **11**, 89–100.
- Le Guigo, P., Qu, Y. & Le Corff, J. (2011) Plant-mediated effects on a toxin-sequestering aphid and its endoparasitoid. *Basic and Applied Ecology*, **12**, 72–79.
- Gutierrez, R.A. (2012) Systems Biology for Enhanced Plant Nitrogen Nutrition. *Science*, **336**, 1673–1675.
- Haan, R.L. De, Wyse, D.L., Ehlke, N.J., Maxwell, B.D. & Daniel, H. (1994) Simulation of Spring-Seeded Smother Plants for Weed Control in Corn (*Zea mays*). *Weed Science Society of America*, **42**, 35–43.
- Halaj, J. & Wise, D.H. (2001) Terrestrial Trophic Cascades: How Much Do They Trickle? *The American Naturalist*, **157**, 262–281.
- Halkier, B.A. & Gershenzon, J. (2006) Biology and Biochemistry of glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology*, **57**, 303–333.

- Hamilton, J.G., Zangerl, A.R., DeLucia, E.H. & Berenbaum, M.R. (2001) The carbon-nutrient balance hypothesis: Its rise and fall. *Ecology Letters*, **4**, 86–95.
- Hardie, J. (1989) Spectral specificity for targeted flight in the Black bean Aphid, *Aphis fabae*. *Journal of Insect Physiology*, **35**, 619–626.
- Harju, V., Skelton, A., Forde, S., Bennett, S., Glover, R., Monger, W., Adams, I., Boonham, N. & Fox, A. (2012) New virus detected on *Nasturtium officinale* (watercress). *New Disease Reports*, **25**, 1.
- Harris, K.F. (1977) An ingestion-egestion hypothesis of non-circulative virus transmission. *Aphids as virus vectors* (eds K.F. Harris & K. Maramorosch), pp. 166–208. Academic Press, New York.
- Harris, K.F., Pesic-Van Esbroeck, Z. & Duffus, J.E. (1996) Morphology of the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera, Aleyrodidae) relative to virus transmission. *Zoomorphology*, **116**, 143–156.
- Hassanali, A., Herren, H., Khan, Z.R., Pickett, J.A. & Woodcock, C.M. (2008) Integrated pest management: the push-pull approach for controlling insect pests and weeds of cereals, and its potential for other agricultural systems including animal husbandry. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **363**, 611–621.
- He, X., Xu, H., Gao, G., Zhou, X., Zheng, X., Sun, Y., Yang, Y., Tian, J. & Lu, Z. (2014) Virus-Mediated Chemical Changes in Rice Plants Impact the Relationship between Non-Vector Planthopper *Nilaparvata lugens* Stål and Its Egg Parasitoid *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang (ed Y Zhang). *PLoS ONE*, **9**, e105373.
- Heil, M. (2008) Indirect defence via tritrophic interactions. *New Phytologist*, **178**, 41–61.
- Hemming, J.D.C. & Lindroth, R.L. (1999) Effects of light and nutrient availability on aspen: growth, phytochemistry, and insect performance. *Journal of Chemical Ecology*, **25**, 1687–1714.
- Henderson, A.E., Hallett, R.H. & Soroka, J.J. (2004) Prefeeding Behavior of the Crucifer Flea Beetle, *Phyllotreta cruciferae*, on Host and Nonhost Crucifers. *Journal of Insect Behavior*, **17**, 17–39.
- Henry, L.M., Gillespie, D.R. & Roitberg, B.D. (2005) Does mother really know best? Oviposition preference reduces reproductive performance in the generalist parasitoid *Aphidius ervi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **116**, 167–174.
- Hermans, C., Hammond, J.P., White, P.J. & Verbruggen, N. (2006) How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in Plant Science*, **11**, 610–617.
- Herms, D.A. & Mattson, W.J. (1992) The Dilemma of Plants: To Grow or Defend. *The Quarterly Review of Biology*, **67**, 283.
- Herrbach, E. (1994) Serological Detection of Beet Western Yellows Luteovirus in the Non-vector, *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae). *Journal of Phytopathology*, **142**, 43–50.
- Hirel, B., Le Gouis, J., Ney, B. & Gallais, A. (2007) The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: Towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany*, **58**, 2369–2387.
- Hirel, B., Tétu, T., Lea, P.J. & Dubois, F. (2011) Improving Nitrogen Use Efficiency in Crops for Sustainable Agriculture. *Sustainability*, **3**, 1452–1485.
- Hodge, S., Hardie, J. & Powell, G. (2011) Parasitoids aid dispersal of a nonpersistently transmitted plant virus by disturbing the aphid vector. *Agricultural and Forest Entomology*, **13**, 83–88.
- Hodge, S. & Powell, G. (2008) Complex interactions between a plant pathogen and insect parasitoid via the shared vector-host: consequences for host plant infection. *Oecologia*, **157**, 387–97.
- Hodgson, C.J. (1981) Effects of infection with the cabbage black ringspot strain of turnip mosaic virus

- on turnip as a host to *Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae*. *Annals Applied Biology*, **98**, 1–14.
- Hogenhout, S.A., Ammar, E.-D., Whitfield, A.E. & Redinbaugh, M.G. (2008) Insect Vector Interactions with Persistently Transmitted Viruses. *Annual Review of Phytopathology*, **46**, 327–359.
- Hogg, B.N., Nelson, E.H., Mills, N.J. & Daane, K.M. (2011) Floral resources enhance aphid suppression by a hoverfly. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **141**, 138–144.
- Holton, M.K., Lindroth, R.L. & Nordheim, E. V. (2003) Foliar quality influences tree-herbivore-parasitoid interactions: Effects of elevated CO₂, O₃, and plant genotype. *Oecologia*, **137**, 233–244.
- Hopkins, R.J., van Dam, N.M. & van Loon, J.J.A. (2009) Role of Glucosinolates in Insect-Plant Relationships and Multitrophic Interactions. *Annual Review of Entomology*, **54**, 57–83.
- Huang, C.H., Sun, R., Hu, Y., Zeng, L., Zhang, N., Cai, L., Zhang, Q., Koch, M.A., Al-Shehbaz, I., Edger, P.P., Pires, J.C., Tan, D.Y., Zhong, Y. & Ma, H. (2016) Resolution of brassicaceae phylogeny using nuclear genes uncovers nested radiations and supports convergent morphological evolution. *Molecular Biology and Evolution*, **33**, 394–412.
- Huberty, A.F. & Denno, R.F. (2006) Consequences of nitrogen and phosphorus limitation for the performance of two planthoppers with divergent life-history strategies. *Oecologia*, **149**, 444–455.
- Hunter, M.D. & Price, P.W. (1992) Playing Chutes and Ladders : Heterogeneity and the Relative Roles of Bottom-Up and Top- Down Forces in Natural Communities. *Ecology*, **73**, 724–732.
- Hurd, H. (2003) Manipulation of Medically Important Insect Vectors by Their Parasites. *Annual Review of Entomology*, **48**, 141–161.
- Ingwell, L.L., Eigenbrode, S.D. & Bosque-Pérez, N.A. (2012) Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. *Scientific Reports*, **2**, 1–6.
- Irwin, M.E. & Ruesink, W.G. (1986) Vector intensity: a product of propensity and activity. *Plant virus epidemics: monitoring, modelling and predicting outbreaks* (eds G.D. McLean & R.G. Garrett), pp. 13–33. Academic Press, Sidney, Australia.
- Ismaeil, I., Doury, G., Desouhant, E., Dubois, F., Prevost, G. & Couty, A. (2013) Trans-Generational Effects of Mild Heat Stress on the Life History Traits of an Aphid Parasitoid (ed ACC Wilson). *PLoS ONE*, **8**, e54306.
- Jamont, M., Crépellière, S. & Jaloux, B. (2013) Effect of extrafloral nectar provisioning on the performance of the adult parasitoid *Diaeretiella rapae*. *Biological Control*, **65**, 271–277.
- Jeffries, M.J. & Lawton, J.H. (1984) Enemy free space and the structure of ecological communities. *Biological Journal of the Linnean Society*, **23**, 269–286.
- Jeger, M.J., Chen, Z., Powell, G., Hodge, S. & van den Bosch, F. (2011) Interactions in a host plant-virus-vector-parasitoid system: modelling the consequences for virus transmission and disease dynamics. *Virus research*, **159**, 183–93.
- Jeger, M.J., Holt, J., Van Den Bosch, F., Madden, V. & Madden, L. V. (2004) Epidemiology of insect-transmitted plant viruses, modeling disease dynamics and control interventions. *Physiological Entomology*, **29**, 291–304.
- Jenkinson, J.G. (1955) The incidence and control of Cauliflower mosaic in Broccoli in south-west England. *Annals of Applied Biology*, **43**, 409–422.
- Jensen, S.G. (1968) Photosynthesis respiration and other physiological relationships in barley infected with barley yellow dwarf virus. *Phytopathology*, **58**, 204–208.

- Jensen, S.G. & van Sambeek, J.W. (1972) Differential Effects of Barley Yellow Dwarf Virus on the Physiology of Tissues of Hard Red Spring Wheat. *Phytopathology*, **62**, 290–293.
- Jervis, M.A., Heimpel, G.E., Ferns, P.N., Harvey, J.A. & Kidd, N.A.C. (2001) Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of “ovigeny.” *Journal of Animal Ecology*, **70**, 442–458.
- Jiang, Y. & Caldwell, C.D. (2016) Effect of nitrogen fertilization on camelina seed yield, yield components, and downy mildew infection. *Canadian Journal of Plant Science*, **96**, 17–26.
- Jimenez-Martinez, E.S., Bosque-Pérez, N.A., Berger, P.H., Zemetra, R.S., Ding, H. & Eigenbrode, S.D. (2004) Volatile Cues Influence the Response of Rhopalosiphum padi (Homoptera: Aphididae) to Barley Yellow Dwarf Virus-Infected Transgenic and Untransformed Wheat. *Environmental Entomology*, **33**, 1207–1216.
- Johnson, M.T.J. (2008) Bottom-Up Effects of Plant Genotype on Aphids, Ants, and Predators. *Ecology*, **89**, 145–154.
- Johnson, M.T.J., Lajeunesse, M.J. & Agrawal, A.A. (2006) Additive and interactive effects of plant genotypic diversity on arthropod communities and plant fitness. *Ecology Letters*, **9**, 24–34.
- Jonsson, M., Wratten, S.D., Landis, D.A. & Gurr, G.M. (2008) Recent advances in conservation biological control of arthropods by arthropods. *Biological Control*, **45**, 172–175.
- Kagata, H., Nakamura, M. & Ohgushi, T. (2005) Bottom-up cascade in a tri-trophic system : different impacts of host-plant regeneration on performance of a willow leaf beetle and its natural enemy. *Ecological Entomology*, **30**, 58–62.
- Kagata, H. & Ohgushi, T. (2006) Bottom-up trophic cascades and material transfer in terrestrial food webs. *Ecological Research*, **21**, 26–34.
- Kaneshiro, L.N. & Johnson, M.W. (1996) Tritrophic Effects of Leaf Nitrogen on Liriomyza trifolii (Burgess) and an Associated Parasitoid Chrysocharis oscinidis (Ashmead) on Bean. *Biological Control*, **6**, 186–192.
- Kareiva, P. (1982) Experimental and mathematical analysis of herbivore movement: quantifying the influence of plant spacing and quality on foraging discrimination. *Ecological Monographs*, **52**, 261–282.
- Kassanis, B. & Govier, D.A. (1971) The Role of the Helper Virus in Aphid Transmission of Potato Aucuba Mosaic Virus and Potato Virus C. *Journal of General Virology*, **13**, 221–228.
- Kazana, E., Pope, T.W., Tibbles, L., Bridges, M., Pickett, J.A., Bones, A.M., Powell, G. & Rossiter, J.T. (2007) The cabbage aphid: a walking mustard oil bomb. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, **274**, 2271–2277.
- Keddy, P.A. (2007) *Plants and Vegetation: Origins, Processes, Consequences*. Cambridge University Press, UK.
- Kennedy, J.S., Day, M.F. & Eastop, V.F. (1962) *A Conspectus of Aphids as Vectors of Plant Viruses*. Commonwealth Institute of Entomology, London, United Kingdom.
- Keshavarz-Afshar, R., Mohammed, Y.A. & Chen, C. (2015) Energy balance and greenhouse gas emissions of dryland camelina as influenced by tillage and nitrogen. *Energy*, **91**, 1057–1063.
- Kessler, A. & Baldwin, I.T. (2001) Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science*, **291**, 2141–4.
- Kettles, G.J., Drurey, C., Schoonbeek, H., Maule, A.J. & Hogenhout, S.A. (2013) Resistance of Arabidopsis thaliana to the green peach aphid, Myzus persicae, involves camalexin and is regulated by microRNAs. *The New phytologist*, **198**, 1178–90.

- Khan, Z.R., Ampong-Nyarko, K., Chiliswa, P., Hassanali, A., Kimani, S., Lwande, W., Overholt, W.A., Pickett, J.A., Smart, L.E., Wadhams, L.J. & Woodcock, C.M. (1997) Intercropping increases parasitism of pests. *Nature*, **388**, 631–632.
- Khan, Z.R., James, D.G., Midega, C.A.O. & Pickett, J.A. (2008) Chemical ecology and conservation biological control. *Biological Control*, **45**, 210–224.
- Khan, Z., Midega, C.A.O., Hooper, A. & Pickett, J. (2016) Push-Pull: Chemical Ecology-Based Integrated Pest Management Technology. *Journal of Chemical Ecology*.
- Khan, M. & Port, G. (2008) Performance of clones and morphs of two cereal aphids on wheat plants with high and low nitrogen content. *Entomological Science*, **11**, 159–165.
- Kim, S.H., Palukaitis, P. & Park, Y.I. (2002) Phosphorylation of *Cucumber mosaic virus* RNA polymerase 2a protein inhibits formation of replicase complex. *European Molecular Biology Organization*, **21**, 2292–2300.
- Knight, T.M., McCoy, M.W., Chase, J.M., McCoy, K.A. & Holt, R.D. (2005) Trophic cascades across ecosystems. *Nature*, **437**, 880–883.
- Knops, J.M.H., Tilman, D., Haddad, N.M., Naeem, S., Mitchell, C.E., Haarstad, J., Ritchie, M.E., Howe, K.M., Reich, P.B., Siemann, E. & Groth, J. (1999) Effects of plant species richness on invasion dynamics, disease outbreaks, insect abundances and diversity. *Ecology Letters*, **2**, 286–293.
- Kos, M., Houshyani, B., Achhami, B.B., Wietsma, R., Gols, R., Weldegergis, B.T., Kabouw, P., Bouwmeester, H.J., Vet, L.E.M., Dicke, M. & van Loon, J.J.A. (2012) Herbivore-Mediated Effects of Glucosinolates on Different Natural Enemies of a Specialist Aphid. *Journal of Chemical Ecology*, **38**, 100–115.
- Kostenko, O., Lammers, M., Grootemaat, S., Kroon, T., Harvey, J.A., van Geem, M. & Bezemer, T.M. (2015) Effects of plant diversity and structural complexity on parasitoid behaviour in a field experiment. *Ecological Entomology*, **40**, 748–758.
- Krauss, J., Härrä, S.A., Bush, L., Husi, R., Bigler, L., Power, S.A. & Müller, C.B. (2007) Effects of fertilizer, fungal endophytes and plant cultivar on the performance of insect herbivores and their natural enemies. *Functional Ecology*, **21**, 107–116.
- Krouk, G., Crawford, N.M., Coruzzi, G.M. & Tsay, Y.F. (2010) Nitrate signaling: Adaptation to fluctuating environments. *Current Opinion in Plant Biology*, **13**, 266–273.
- Kummert, J. & Lepoivre, P. (2003) Les virus et viroïdes phytopathogènes. *Phytopathologie: Bases moléculaires et iologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte.*, De Boeck & (ed J. Kummert), pp. 41–48. Bruxelles.
- Kusano, M., Fukushima, A., Redestig, H. & Saito, K. (2011) Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. *Journal of Experimental Botany*, **62**, 1439–1453.
- Kuśnierczyk, A., Winge, P., Jørstad, T.S., Troczyńska, J., Rossiter, J.T. & Bones, A.M. (2008) Towards global understanding of plant defence against aphids - Timing and dynamics of early Arabidopsis defence responses to cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) attack. *Plant, Cell and Environment*, **31**, 1097–1115.
- Kyto, M., Niemela, P. & Larsson, S. (1996) Insects on trees: Population and individual response to fertilization. *Oikos*, **75**, 148–159.
- Lacroix, R., Mukabana, W.R., Gouagna, L.C. & Koella, J.C. (2005) Malaria infection increases attractiveness of humans to mosquitoes. *PLoS Biology*, **3**, 1590–1593.
- Landis, D.A. & van der Werf, W. (1997) Early-season predation impacts the establishment of aphids and spread of beet yellows virus in sugar beet. *Entomophaga*, **42**, 499–516.

- Landis, D.A., Wratten, S.D. & Gurr, G.M. (2000) Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests. *Annual Review of Entomology*, **45**, 175–201.
- Launay, M., Brisson, N., Satger, S., Hauggaard-Nielsen, H., Corre-Hellou, G., Kasynova, E., Ruske, R., Jensen, E.S. & Gooding, M.J. (2009) Exploring options for managing strategies for pea-barley intercropping using a modeling approach. *European Journal of Agronomy*, **31**, 85–98.
- Lavola, A. & Julkunen-Tiitto, R. (1994) The effect of elevated carbon dioxide and fertilization on primary and secondary metabolites in birch, *Betula pendula* (Roth). *Oecologia*, **99**, 315–321.
- Lefèvre, T., Koella, J.C., Renaud, F., Hurd, H., Biron, D.G. & Thomas, F. (2006) New prospects for research on manipulation of insect vectors by pathogens. *PLoS Pathogens*, **2**, 633–635.
- Lefèvre, T. & Thomas, F. (2008) Behind the scene, something else is pulling the strings: Emphasizing parasitic manipulation in vector-borne diseases. *Infection, Genetics and Evolution*, **8**, 504–519.
- Lei, W., Li, P., Han, Y., Gong, S., Yang, L. & Hou, M. (2016) EPG Recordings Reveal Differential Feeding Behaviors in *Sogatella furcifera* in Response to Plant Virus Infection and Transmission Success. *Scientific Reports*, **6**, 30240.
- Leiser, R.M., Ziegler-Graff, V., Reutenauer, A., Herrbach, E., Lemaire, O., Guilley, H., Richards, K. & Jonard, G. (1992) Agroinfection as an alternative to insects for infecting plants with beet western yellows luteovirus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **89**, 9136–40.
- Leith, I.D., Hicks, W.K., Fowler, D. & Woodin, S.J. (1999) Differential responses of UK upland plants to nitrogen deposition. *New Phytologist*, **141**, 277–289.
- Lerdau, M. & Coley, P.D. (2002) Benefits of the Carbon-Nutrient Balance Hypothesis. *Oikos*, **98**, 534–536.
- Letourneau, D.K. (1987) The Enemies Hypothesis: Tritrophic Interactions and Vegetational Diversity in Tropical Agroecosystems. *Ecology*, **68**, 1616–1622.
- Levy, M., Wang, Q., Kaspi, R., Parrella, M.P. & Abel, S. (2005) Arabidopsis IQD1, a novel calmodulin-binding nuclear protein, stimulates glucosinolate accumulation and plant defense. *Plant Journal*, **43**, 79–96.
- Lewsey, M.G., Murphy, A.M., Maclean, D., Dalchau, N., Westwood, J.H., Macaulay, K., Bennett, M.H., Moulin, M., Hanke, D.E., Powell, G., Smith, A.G. & Carr, J.P. (2010) Disruption of two defensive signaling pathways by a viral RNA silencing suppressor. *Molecular plant-microbe interactions : MPMI*, **23**, 835–45.
- Liang, C., Liu, X., Yiu, S.-M. & Lim, B.L. (2013) De novo assembly and characterization of *Camelina sativa* transcriptome by paired-end sequencing. *BMC genomics*, **14**, 146.
- Lithourgidis, A.S., Dordas, C.A., Damalas, C.A. & Vlachostergios, D.N. (2011) Review article Annual intercrops : an alternative pathway for sustainable agriculture. *Australian Journal of Crop Science*, **5**, 396–410.
- 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.
- Lou, Y. & Baldwin, I.T. (2004) Nitrogen Supply Influences Herbivore-Induced Direct and Indirect Defenses and Transcriptional Responses in *Nicotiana attenuata*. *Plant Physiology*, **135**, 496–506.
- Louis, J., Singh, V. & Shah, J. (2012) Arabidopsis thaliana — Aphid Interaction. *The Arabidopsis Book*, 1–19.
- Loxdale, H.D. & Harvey, J.A. (2016) The “generalism” debate: misinterpreting the term in the empirical literature focusing on dietary breadth in insects. *Biological Journal of the Linnean Society*, **119**,

- Loxdale, H.D., Lushai, G. & Harvey, J.A. (2011) The evolutionary improbability of “generalism” in nature, with special reference to insects. *Biological Journal of the Linnean Society*, **103**, 1–18.
- Lüdeke-Freund, F., Walmsley, D., Plath, M., Wreesmann, J. & Klein, A.-M. (2012) Sustainable plant oil production for aviation fuels: Assessment challenges and consequences for new feedstock concepts. *Sustainability Accounting, Management and Policy Journal*, **3**, 186–217.
- Lung, M.C.Y. & Pirone, T.P. (1974) Acquisition Factor Required for Aphid Transmission of Purified Cauliflower Mosaic Virus. *Virology*, **60**, 260–264.
- Lwoff, A. (1957) The Concept of Virus. *Journal of General Microbiology*, **17**, 239–253.
- MacGillivray, M.E. & Andersen, G.B. (1957) Three useful insect cages. *The Canadian Entomologist*, **89**, 43–46.
- Mackauer, M., Michaud, J.P. & Volkl, W. (1996) Host choice by aphidiid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae): Host recognition, host quality, and host value. *The Canadian Entomologist*, **128**, 959–980.
- Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., Rapidel, B., de Tourdonnet, S., Valantin-Morisson, M., Malezieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., Rapidel, B., de Tourdonnet, S. & Valantin-Morison, M. (2009) Mixing plant species in cropping systems : concepts, tools and models. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, **29**, 43–62.
- Marín, I.C., Loef, I., Bartetzko, L., Searle, I., Coupland, G., Stitt, M. & Osuna, D. (2011) Nitrate regulates floral induction in Arabidopsis, acting independently of light, gibberellin and autonomous pathways. *Planta*, **233**, 539–552.
- Martin, B., Collar, J.L., Tjallingii, W.F. & Fereres, A. (1997) Intracellular ingestion and salivation by aphids may cause the acquisition and inoculation of non-persistently transmitted plant viruses. *Journal of General Virology*, **78**, 2701–2705.
- Martini, X., Hoffmann, M., Coy, M.R., Stelinski, L.L. & Pelz-Stelinski, K.S. (2015) Infection of an Insect Vector with a Bacterial Plant Pathogen Increases Its Propensity for Dispersal. *Plos One*, **10**, e0129373.
- Matthäus, B., Zubr, J., Matthäus, B. & Zubr, J. (2000) Variability of specific components in Camelina sativa oilseed cakes. *Industrial Crops and Products*, **12**, 9–18.
- Mattson, W.J. (1980) Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **11**, 119–161.
- Mauck, K.E. (2016) Variation in virus effects on host plant phenotypes and insect vector behavior: what can it teach us about virus evolution? *Current Opinion in Virology*, **21**, 114–123.
- Mauck, K.E., Bosque-Pérez, N.A., Eigenbrode, S.D., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2012) Transmission mechanisms shape pathogen effects on host-vector interactions: evidence from plant viruses (ed C Fox). *Functional Ecology*, **26**, 1162–1175.
- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2010) Deceptive chemical signals induced by a plant virus attract insect vectors to inferior hosts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 3600–3605.
- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2014a) Biochemical and physiological mechanisms underlying effects of Cucumber mosaic virus on host-plant traits that mediate transmission by aphid vectors. *Plant, Cell & Environment*, **37**, 1427–1439.
- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2014b) Evidence of Local Adaptation in Plant Virus

- Effects on Host-Vector Interactions. *Integrative and Comparative Biology*, **54**, 193–209.
- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2015a) Infection of host plants by Cucumber mosaic virus increases the susceptibility of *Myzus persicae* aphids to the parasitoid *Aphidius colemani*. *Scientific Reports*, **5**, 10963.
- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2016) Effects of pathogens on sensory-mediated interactions between plants and insect vectors. *Current Opinion in Plant Biology*, **32**, 53–61.
- Mauck, K.E., Smyers, E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2015b) Virus infection influences host plant interactions with non-vector herbivores and predators (ed KL Pum). *Functional Ecology*, **29**, 662–673.
- Mayhew, P.J. (1997) Adaptive Patterns of Host-Plant Selection by Phytophagous Insects. *Oikos*, **79**, 417–428.
- McElhany, P., Real, L.A. & Power, A.G. (1995) Vector Preference and Disease Dynamics : A Study of Barley Yellow Dwarf Virus. *Ecology*, **76**, 444–457.
- McLaren, J.S. & Sun, X.S. (2015) Can camelina compete as a feedstock for biobased products ? *INFORM*, **26**, 632–634.
- Mcvay, K.A. & Lamb, P.F. (2008) *Camelina Production in Montana (Report)*. Bull. MT200701AG, Montana State University.
- Mewis, I., Tokuhisa, J.G., Schultz, J.C., Appel, H.M., Ulrichs, C. & Gershenzon, J. (2006) Gene expression and glucosinolate accumulation in *Arabidopsis thaliana* in response to generalist and specialist herbivores of different feeding guilds and the role of defense signaling pathways. *Phytochemistry*, **67**, 2450–2462.
- Midmore, D.J. (1993) Agronomic modification of resource use and intercrop productivity. *Field Crops Research*, **34**, 357–380.
- Miller, J.R. & Cowles, R.S. (1990) Stimulo-deterrent diversion: A concept and its possible application to onion maggot control. *Journal of Chemical Ecology*, **16**, 3197–3212.
- Miller, A.J., Fan, X., Orsel, M., Smith, S.J. & Wells, D.M. (2007) Nitrate transport and signalling. *Journal of Experimental Botany*, **58**, 2297–2306.
- Mink, G.I. (1993) Pollen-transmitted and seed-transmitted viruses and viroids. *Annual Review of Phytopathology*, **31**, 375–402.
- Moe, S.J., Stelzer, R.S., Forman, M.R., Harploe, W.S., Daufresne, T. & Yoshida, T. (2005) Recent advances in ecological stoichiometry: Insights for population and community ecology. *Oikos*, **109**, 29–39.
- Moiroux, J., Lann, C. Le, Seyahoei, M.A., Vernon, P., Pierre, J.S., Van Baaren, J. & Van Alphen, J.J.M. (2010) Local adaptations of life-history traits of a *Drosophila* parasitoid, *Leptopilina boulardi*: Does climate drive evolution? *Ecological Entomology*, **35**, 727–736.
- Moloney, A.P., Woods, V.B. & Crowley, J.G. (1998) A note on the nutritive value of Camelina meal for beef cattle. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, **37**, 243–247.
- Mondal, S., Wenninger, E.J., Hutchinson, P.J.S., Weibe, M.A., Eigenbrode, S.D. & Bosque-Pérez, N.A. (2016) Contribution of Noncolonizing Aphids to *Potato Virus Y* Prevalence in Potato in Idaho. *Environmental Entomology*, nww131.
- Montllor, C.B. & Gildow, F.E. (1986) Feeding responses of two grain aphids to barley yellow dwarf virus-infected oats. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **42**, 63–69.
- Mooney, K.A., Pratt, R.T. & Singer, M.S. (2012) The Tri-Trophic Interactions Hypothesis: Interactive

- Effects of Host Plant Quality, Diet Breadth and Natural Enemies on Herbivores (ed J Moen). *PLoS ONE*, **7**, e34403.
- De Moraes, C.M., Lewis, W.J., Paré, P.W., Alborn, H.T., Tumlinson, J.H. & Pare, P.W. (1998) Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids. *Nature*, **393**, 570–573.
- Moreno, A., Palacios, I., Blanc, S. & Fereres, A. (2005) Intracellular Salivation Is the Mechanism Involved in the Inoculation of Cauliflower Mosaic Virus by Its Major Vectors *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae*. *Annals of the Entomological Society of America*, **98**, 763–769.
- Moreno-Delafuente, A., Garzo, E., Moreno, A. & Fereres, A. (2013) A Plant Virus Manipulates the Behavior of Its Whitefly Vector to Enhance Its Transmission Efficiency and Spread (ed M Ghanim). *PLoS ONE*, **8**, e61543.
- Moser, B.R. & Vaughn, S.F. (2010) Evaluation of alkyl esters from *Camelina sativa* oil as biodiesel and as blend components in ultra low-sulfur diesel fuel. *Bioresource Technology*, **101**, 646–653.
- Mucheru-Muna, M., Pypers, P., Mugendi, D., Kung'u, J., Mugwe, J., Merckx, R. & Vanlauwe, B. (2010) A staggered maize-legume intercrop arrangement robustly increases crop yields and economic returns in the highlands of Central Kenya. *Field Crops Research*, **115**, 132–139.
- Müller, C.B., Fellowes, M.D.E. & Godfray, H.C.J. (2005) Relative importance of fertiliser addition to plants and exclusion of predators for aphid growth in the field. *Oecologia*, **143**, 419–427.
- Müller, C.B., Williams, I.S. & Hardie, J. (2001) The role of nutrition, crowding and interspecific interactions in the development of winged aphids. *Ecological Entomology*, **26**, 330–340.
- Mulligan, G.A. (2002) Weedy introduced mustards (Brassicaceae) of Canada. *Canadian Field-Naturalist*, **116**, 623–631.
- Mutikainen, P., Walls, M., Ovaska, J., Keinänen, M., Julkunen-Tiitto, R. & Vapaavuori, E. (2000) Herbivore resistance in *Betula pendula*: Effect of fertilization, defoliation, and plant genotype. *Ecology*, **81**, 49–65.
- Muzika, R.M. (1993) Terpenes and phenolics in response to nitrogen fertilization: A test of the carbon/nutrient balance hypothesis. *Chemoecology*, **4**, 3–7.
- Nafisi, M., Goregaoker, S., Botanga, C.J., Glawischnig, E., Olsen, C.E., Halkier, B.A. & Glazebrook, J. (2007) Arabidopsis cytochrome P450 monooxygenase 71A13 catalyzes the conversion of indole-3-acetaldoxime in camalexin synthesis. *Plant Cell*, **19**, 2039–2052.
- Napier, J.A., Haslam, R.P., Beaudoin, F. & Cahoon, E.B. (2014) Understanding and manipulating plant lipid composition: Metabolic engineering leads the way. *Current Opinion in Plant Biology*, **19**, 68–75.
- Naranjo, S.E. & Stefanek, M.A. (2012) Feeding behavior of a potential insect pest, *Lygus hesperus*, on four new industrial crops for the arid southwestern USA. *Industrial Crops and Products*, **37**, 358–361.
- Nault, L.R. (1997) Arthropod Transmission of Plant Viruses: A New Synthesis. *Annals of the Entomological Society of America*, **90**, 521–541.
- Nault, L. & Ammar, E.-D. (1989) Leafhopper And Planthopper Transmission Of Plant Viruses. *Annual Review of Entomology*, **34**, 503–529.
- Newton, E.L., Bullock, J.M. & Hodgson, D.J. (2009a) Glucosinolate polymorphism in wild cabbage (*Brassica oleracea*) influences the structure of herbivore communities. *Oecologia*, **160**, 63–76.
- Newton, E.L., Bullock, J.M. & Hodgson, D.J. (2009b) Bottom-up effects of glucosinolate variation on aphid colony dynamics in wild cabbage populations. *Ecological Entomology*, **34**, 614–623.

- Ng, J.C.K. & Falk, B.W. (2006) Virus-Vector Interactions Mediating Nonpersistent and Semipersistent Transmission of Plant Viruses. *Annual Review of Phytopathology*, **44**, 183–212.
- Ng, J.C.K. & Perry, K.L. (2004) Transmission of plant viruses by aphid vectors. *Molecular Plant Pathology*, **5**, 505–511.
- Niemeyer, H.M. (1990) The role of secondary plant compounds in aphid-host interactions. *Aphid-Plant Genotype Interactions* (eds R.K. Campbell & R.D. Eikenbary), pp. 187–205. Elsevier, Amsterdam.
- Nottingham, S.F., Hardie, J., Dawson, G.W., Hick, A.J., Pickett, J.A., Wadhams, L.J. & Woodcock, C.M. (1991) Behavioral and electrophysiological responses of Aphids to host and nonhost plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, **17**, 1231–42.
- O'Brien, J.A., Vega, A., Bouguyon, E., Krouk, G., Gojon, A., Coruzzi, G. & Gutiérrez, R.A. (2016) Nitrate Transport, Sensing, and Responses in Plants. *Molecular Plant*, **9**, 837–856.
- Obermaier, E., Heisswolf, A., Poethke, J., Randlkofer, B. & Meiners, T. (2008) Plant architecture and vegetation structure: Two ways for insect herbivores to escape parasitism. *European Journal of Entomology*, **105**, 233–240.
- Ode, P.J. (2006) Plant Chemistry and Natural Enemy Fitness: Effects on Herbivore and Natural Enemy Interactions (ed D Gibson). *Annual Review of Entomology*, **51**, 163–185.
- OECD.Stat. (2016) BIOFUEL - OECD-FAO Agricultural Outlook 2011-2020. URL <http://stats.oecd.org/index.aspx?queryid=30104> [accessed 24 August 2016]
- Ofori, F. & Stern, W.R. (1987) Cereal–Legume Intercropping Systems. *Advances in Agronomy*, **41**, 41–90.
- Onyilagha, J.C., Bala, A., Hallett, R.H., Gruber, M., Soroka, J. & Westcott, N. (2003) Leaf flavonoids of the cruciferous species, *Camelina sativa*, *Crambe* spp., *Thlaspi arvense* and several other genera of the family Brassicaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, **31**, 1309–1322.
- Onyilagha, J.C., Gruber, M.Y., Hallett, R.H., Holowachuk, J., Buckner, A. & Soroka, J.J. (2012) Constitutive flavonoids deter flea beetle insect feeding in *Camelina sativa* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, **42**, 128–133.
- Osler, R., Loi, N., Loschi, A., Ermacora, P., Fabro, R. & Refatti, E. (1999) Experimental transmission of Barley yellow dwarf virus by using the vector *Rhopalosiphum padi* parasitized by *Aphidius rhopalosiphii* (Hymenoptera : Braconidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, **106**, 291–296.
- Pace, M.L., Cole, J.J., Carpenter, S.R. & Kitchell, J.F. (1999) Trophic cascades revealed in diverse ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution*, **14**, 483–488.
- Palacios, I., Drucker, M., Blanc, S., Leite, S., Moreno, A. & Fereres, A. (2002) Cauliflower mosaic virus is preferentially acquired from the phloem by its aphid vectors. *Journal of General Virology*, **83**, 3163–3171.
- Pallas, V. & Garc1, J.A. (2011) How do plant viruses induce disease ? Interactions and interference with host components. *Journal of General Virology*, **92**, 2691–2705.
- Pallett, D.W., Thurston, M.I., Cortina-Borja, M., Edwards, M.-L., Alexander, M., Mitchell, E., Raybould, A.F. & Cooper, J.I. (2002) The incidence of viruses in wild *Brassica rapa* ssp. *sylvestris* in southern. *Annals of Applied Biology*, **141**, 163–170.
- Panda, N. & Khush, G.S.H. (1995) *Host Plant Resistance to Insects*. CABI, Wallingford - UK.
- Parolin, P., Bresch, C., Desneux, N., Brun, R., Bout, A., Boll, R. & Poncet, C. (2012) Secondary plants used in biological control: A review. *International Journal of Pest Management*, **58**, 91–100.

- Pavlista, A.D., Isbell, T.A., Baltensperger, D.D. & Hergert, G.W. (2011) Planting date and development of spring-seeded irrigated canola, brown mustard and camelina. *Industrial Crops and Products*, **33**, 451–456.
- Pennacchio, F., Fanti, P., Falabella, P., Digilio, M.C., Bisaccia, F. & Tremblay, E. (1999) Development and nutrition of the braconid wasp, *Aphidius ervi* in aposymbiotic host aphids. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **40**, 53–63.
- Perry, T., Batterham, P. & Daborn, P.J. (2011) The biology of insecticidal activity and resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **41**, 411–422.
- Pettersson, J., Tjallingii, W.F. & Hardie, J. (2007) Host-plant selection and feeding. *Aphid as crop pests* (eds H.F. van Emden & R. Harrington), pp. 87–113. CABI, Wallington.
- Pike, K.S., Stary, P., Miller, T., Allison, D., Graf, G., Boydston, L., Miller, R. & Gillespie, R. (1999) Host range and habitats of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae) in Washington state. *Environmental Entomology*, **28**, 61–71.
- Pilgeram, A.L., Sands, D.C., Boss, D., Dale, N., Wichman, D., Lamb, P., Lu, C., Barrows, R., Kirkpatrick, M., Thompson, B. & Johnson, D.L. (2007) Camelina sativa, A Montana Omega-3 and Fuel Crop. *Proceedings of the sixth National Symposium, Creating Markets for Economic Development of New Crops and New Uses*, pp. 139–131.
- Pirone, T.P. & Blanc, S. (1996) Helper-dependant vector transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology*, **34**, 227–247.
- Van Poecke, R.M.P., Roosjen, M., Pumarino, L. & Dicke, M. (2003) Attraction of the specialist parasitoid *Cotesia rubecula* to *Arabidopsis thaliana* infested by host or non-host herbivore species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **107**, 229–236.
- Poelman, E.H., Van Dam, N.M., Van Loon, J.J.A., Vet, L.E.M. & Dicke, M. (2009a) Chemical diversity in Brassica oleracea affects biodiversity of insect herbivores. *Ecology*, **90**, 1863–77.
- Poelman, E.H., Oduor, A.M.O., Broekgaarden, C., Hordijk, C.A., Jansen, J.J., Loon, J.J.A. Van, Dam, N.M. Van, Vet, L.E.M. & Dicke, M. (2009b) Field parasitism rates of caterpillars on Brassica oleracea plants are reliably predicted by differential attraction of *Cotesia* parasitoids. *Functional Ecology*, **23**, 951–962.
- Polis, G.A., Sears, A.L.W., Huxel, G.R., Strong, D.R. & Maron, J. (2000) When is a trophic cascade a trophic cascade? *Trends in Ecology & Evolution*, **15**, 473–475.
- Pope, T.W., Girling, R.D., Staley, J.T., Trigodet, B., Wright, D.J., Leather, S.R. & Van Emden, H.F. (2012) Effects of organic and conventional fertilizer treatments on host selection by the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae*. *Journal of Applied Entomology*, **136**, 445–456.
- Pope, T.W., Kissen, R., Grant, M., Pickett, J.A., Rossiter, J.T. & Powell, G. (2008) Comparative innate responses of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to alkenyl glucosinolate derived isothiocyanates, nitriles, and epithionitriles. *Journal of Chemical Ecology*, **34**, 1302–10.
- Poulin, R. (2010) Parasite manipulation of host behavior, an update and frequently asked questions. *Advances in the study of behavior*, Vol. 41. (ed H.J. Brockmann), pp. 151–186. Academic Press, Burlington.
- Powell, G., Tosh, C.R. & Hardie, J. (2006) Host plant selection by aphids: Behavioral, Evolutionary, and Applied Perspectives. *Annual Review of Entomology*, **51**, 309–330.
- Pratt, C., Pope, T.W., Powell, G. & Rossiter, J.T. (2008) Accumulation of glucosinolates by the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* as a defense against two coccinellid species. *Journal of Chemical Ecology*, **34**, 323–329.
- Putnam, D.H., Budin, J.T., Field, L.A. & Breene, W.M. (1993) Camelina: A Promising Low-Input

- Oilseed. *New Crops* (eds J. Janick & J.E. Simon), pp. 314–322. Wiley, New York.
- Quiroz, A. & Niemeyer, H.M. (1998) Activity of enantiomers of sulcatol on apterae of *Rhopalosiphum padi*. *Journal of Chemical Ecology*, **24**, 361–370.
- Radwan, D.E.M., Fayez, K.A., Younis Mahmoud, S., Hamad, A. & Lu, G. (2007) Physiological and metabolic changes of *Cucurbita pepo* leaves in response to zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) infection and salicylic acid treatments. *Plant Physiology and Biochemistry*, **45**, 480–489.
- Rahayu, Y.S., Walch-Liu, P., Neumann, G., Römheld, V., von Wirén, N. & Bangerth, F. (2005) Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO₃--induced stimulation of leaf growth. *Journal of experimental botany*, **56**, 1143–52.
- Rajabaskar, D., Bosque-Pérez, N.A. & Eigenbrode, S.D. (2014) Preference by a virus vector for infected plants is reversed after virus acquisition. *Virus research*, **186**, 32–37.
- Rajabaskar, D., Wu, Y., Bosque-Pérez, N.A. & Eigenbrode, S.D. (2013) Dynamics of *Myzus persicae* arrestment by volatiles from Potato leafroll virus-infected potato plants during disease progression. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **148**, 172–181.
- Randlkofer, B., Obermaier, E., Hilker, M. & Meiners, T. (2010) Vegetation complexity-The influence of plant species diversity and plant structures on plant chemical complexity and arthropods. *Basic and Applied Ecology*, **11**, 383–395.
- Randlkofer, B., Obermaier, E. & Meiners, T. (2007) Mother's choice of the oviposition site: balancing risk of egg parasitism and need of food supply for the progeny with an infochemical shelter? *Chemoecology*, **17**, 177–186.
- Rantala, M.J., Kortet, R., Kotiaho, J.S., Vainikka, A. & Suhonen, J. (2003) Condition dependence of pheromones and immune function in the grain beetle *Tenebrio molitor*. *Functional Ecology*, **17**, 534–540.
- Raubenheimer, D., Lee, K.P. & Simpson, S.J. (2005) Does Bertrand's rule apply to macronutrients? *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, **272**, 2429–2434.
- Raybould, A.F., Maskell, L.C., Edwards, M.L., Cooper, J.I. & Gray, A.J. (1999) The prevalence and spatial distribution of viruses in natural populations of *Brassica oleracea*. *New Phytologist*, **141**, 265–275.
- Read, D.P., Feeny, P.P. & Root, R.B. (1970) Habitat selection by the aphid parasite *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) and hyperparasite *Charips brassicae* (Hymenoptera: Cynipidae). *The Canadian Entomologist*, **102**, 1567–1578.
- Reed, H.C., Tan, S.H., Haapanen, K., Killmon, M., Reed, D.K. & Elliott, N.C. (1995) Olfactory responses of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae) to odor of plants, aphids, and plant-aphid complexes. *Journal of Chemical Ecology*, **21**, 407–418.
- Rehman, A. & Powell, W. (2010) Host selection behaviour of aphid parasitoids (Aphidiidae: Hymenoptera). *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, **2**, 299–311.
- Rhoades, D.F. (1979) Evolution of plant chemical defense against herbivores. *Their Interactions with Plant Secondary Metabolites*. (eds G.A. Rosenthal & D.H. Jansen), pp. 3–54. Academic Press, New York.
- de Rijk, M., Dicke, M. & Poelman, E.H. (2013) Foraging behaviour by parasitoids in multiherbivore communities. *Animal Behaviour*, **85**, 1517–1528.
- de Rijk, M., Yang, D., Engel, B., Dicke, M. & Poelman, E.H. (2016a) Feeding guild of non-host community members affects host-foraging efficiency of a parasitic wasp. *Ecology*, **97**, 1388–1399.
- de Rijk, M., Zhang, X., Van der Loo, J.A.H., Engel, B., Dicke, M. & Poelman, E.H. (2016b) Density-

- mediated indirect interactions alter host foraging behaviour of parasitoids without altering foraging efficiency. *Ecological Entomology*, **41**, 562–571.
- Roe, M.A., Faulks, R.M. & Belsten, J.L. (1990) Role of reducing sugars and amino acids in fry colour of chips from potatoes grown under different nitrogen regimes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **52**, 207–214.
- Roosien, B.K., Gomulkiewicz, R., Ingwell, L.L., Bosque-Pérez, N.A., Rajabaskar, D. & Eigenbrode, S.D. (2013) Conditional Vector Preference Aids the Spread of Plant Pathogens: Results From a Model. *Environmental Entomology*, **42**, 1299–1308.
- Roossinck, M.J. (2002) Evolutionary History of Cucumber Mosaic Virus Deduced by Phylogenetic Analyses. *Journal of Virology*, **76**, 3382–3387.
- Root, R.B. (1973) Organization of a Plant-Arthropod Association in Simple and Diverse Habitats: The Fauna of Collards (*Brassica oleracea*). *Ecological Monographs*, **43**, 95–124.
- Röse, U.S.R., Lewis, W.J. & Tumlinson, J.H. (1998) Specificity of systemically released cotton volatiles as attractants for specialist and generalist parasitic wasps. *Journal of Chemical Ecology*, **24**, 303–319.
- Russell, E.P. (1989) Enemies Hypothesis: A Review of the Effect of Vegetational Diversity on Predatory Insects and Parasitoids. *Environmental Entomology*, **18**, 590–599.
- Ruther, J. & Kleier, S. (2005) Plant-plant signaling: Ethylene synergizes volatile emission in *Zea mays* induced by exposure to (Z)-3-hexen-1-ol. *Journal of Chemical Ecology*, **31**, 2217–2222.
- Sasaki, T. & Ishikawa, H. (1995) Production of essential amino acids from glutamate by mycetocyte symbionts of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of Insect Physiology*, **41**, 41–46.
- Saucke, H. & Ackermann, K. (2006) Weed suppression in mixed cropped grain peas and false flax (*Camelina sativa*). *Weed Research*, **46**, 453–461.
- Schädler, M., Brandl, R. & Kempel, A. (2010) Host plant genotype determines bottom-up effects in an aphid-parasitoid-predator system. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **135**, 162–169.
- Schillinger, W.F., Wysocki, D.J., Chastain, T.G., Guy, S.O. & Karow, R.S. (2012) Camelina: Planting date and method effects on stand establishment and seed yield. *Field Crops Research*, **130**, 138–144.
- Schliephake, E., Graichen, K. & Rabenstein, F. (2000) Investigations on the vector transmission of the Beet mild yellowing virus (BMV) and the Turnip yellows virus (TuYV). *Journal of Plant Diseases and Protection*, **107**, 81–87.
- Schlenger, E.I. & Mackauer, M.J.P. (1963) Identity, Distribution, and Hosts of *Aphidius matricariae* Haliday, an Important Parasite of the Green Peach Aphid, *Myzus persicae* (Hymenoptera: Aphidiidae - Homoptera: Aphidoidea). *Annals of the Entomological Society of America*, **56**, 648–653.
- Schmelz, E.A. (2003) Nitrogen Deficiency Increases Volicitin-Induced Volatile Emission, Jasmonic Acid Accumulation, and Ethylene Sensitivity in Maize. *Plant Physiology*, **133**, 295–306.
- Schmidt, M.H., Lauer, A., Purtauf, T., Thies, C., Schaefer, M. & Tscharnke, T. (2003) Relative importance of predators and parasitoids for cereal aphid control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **270**, 1905–1909.
- Schmitz, O.J., Hambäck, P.A. & Beckerman, A.P. (2000) Trophic Cascades in Terrestrial Systems: A Review of the Effects of Carnivore Removals on Plants. *The American Naturalist*, **155**, 141–153.
- Schroder, T.W. & Basedow, T. (1999) Aphid attack, predators, infections by beet yellowing viruses and yields in fields of sugar beets with different insecticidal soil and seed treatments. *Zeitschrift Fur*

- Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, **106**, 638–646.
- Schuman, M.C., Barthel, K. & Baldwin, I.T. (2012) Herbivory-induced volatiles function as defenses increasing fitness of the native plant *Nicotiana attenuata* in nature. *eLife*, **2012**, 1–29.
- Schuster, A. & Friedt, W. (1998) Glucosinolate content and composition as parameters of quality of *Camelina* seed. *Industrial Crops and Products*, **7**, 297–302.
- Schwartz, H., Ollilainen, V., Piironen, V. & Lampi, A.M. (2008) Tocopherol, tocotrienol and plant sterol contents of vegetable oils and industrial fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21**, 152–161.
- Shapiro, L., De Moraes, C.M., Stephenson, A.G. & Mescher, M.C. (2012) Pathogen effects on vegetative and floral odours mediate vector attraction and host exposure in a complex pathosystem. *Ecology Letters*, **15**, 1430–1438.
- Sheehan, W. & Shelton, A.M.I. (1989) The Role of Experience in Plant Foraging by the Aphid Parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera : Aphidiidae). *Journal of Insect Behavior*, **2**, 743–759.
- Shi, X., Gao, Y., Yan, S., Tang, X., Zhou, X., Zhang, D. & Liu, Y. (2016) Aphid performance changes with plant defense mediated by Cucumber mosaic virus titer. *Virology Journal*, **13**, 70.
- Shonnard, D.R., Williams, L. & Kalnes, T.N. (2010) *Camelina*-derived jet fuel and diesel: Sustainable advanced biofuels. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, **29**, 382–392.
- Shudong, D., Guiling, Y., Qingwen, Z., HuanLi, X. & Qingnian, C. (2004) Effect of false flax (*Camelina sativa*) on larval feeding and adult behavioral response of the diamondback moth (*Plutella xylostella*). *Kun chong xue bao. Acta Entomologica Sinica*, **47**, 474–478.
- Shukla, V.K.S., Dutta, P.C. & Artz, W.E. (2002) *Camelina* oil and its unusual cholesterol content. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **79**, 965–969.
- Simmonds, M.S.J. (2001) Importance of avonoids in insect- plant interactions : feeding and oviposition. *Phytochemistry*, **56**, 245–252.
- Simpson, S.J., Sibly, R.M., Lee, K.P., Behmer, S.T. & Raubenheimer, D. (2004) Optimal foraging when regulating intake of multiple nutrients. *Animal Behaviour*, **68**, 1299–1311.
- Sisterson, M.S. (2008) Effects of Insect-Vector Preference for Healthy or Infected Plants on Pathogen Spread: Insights from a Model. *Journal of Economic Entomology*, **101**, 1–8.
- Smith, J.G. (1976) Influence of crop background on natural enemies of aphids on Brussels sprouts. *Annals of Applied Biology*, **83**, 15–29.
- Smith, H.A. & McSorely, R. (2000) Intercropping and pest management: a review of major concepts. *American Entomologist*, **46**, 156–161.
- Smyrnioudis, I.N., Harrington, R., Clark, S.J. & Katis, N. (2001) The effect of natural enemies on the spread of barley yellow dwarf virus (BYDV) by *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*, **91**, 301–306.
- Solis, A., Vidal, I., Paulino, L., Johnson, B.L. & Berti, M.T. (2013) *Camelina* seed yield response to nitrogen, sulfur, and phosphorus fertilizer in South Central Chile. *Industrial Crops and Products*, **44**, 132–138.
- Soroka, J., Olivier, C., Grenkow, L. & Séguin-Swartz, G. (2015) Interactions between *Camelina sativa* (Brassicaceae) and insect pests of canola. *The Canadian Entomologist*, **147**, 193–214.
- Stafford, C.A., Walker, G.P. & Ullman, D.E. (2011) Infection with a plant virus modifies vector feeding behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 9350–9355.

- Staley, J.T., Girling, R.D., Stewart-Jones, A., Poppy, G.M., Leather, S.R. & Wright, D.J. (2011) Organic and conventional fertilizer effects on a tritrophic interaction: parasitism, performance and preference of *Cotesia vestalis*. *Journal of Applied Entomology*, **135**, 658–665.
- Stary, P. (1975) *Aphidius colemani* Viereck: Its taxonomy, distribution and host range (Hymenoptera, Aphidiidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, **72**, 156–163.
- Sterner, R.W. & Elser, J.J. (2002) *Ecological Stoichiometry: The Biology of Elements from Molecules to the Biosphere*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Stevens, M., Mcgrann, G. & Clark, B. (2008) Turnip yellows virus (syn Beet western yellows virus): an emerging threat to European oilseed rape production? *Hgca : Research Reviews. (Report)*, **69**, 0–36.
- Stevens, M., Smith, H.G. & Hallsworth, P.B. (1994) The host range of beet yellowing viruses among common arable weed species. *Plant Pathology*, **43**, 579–588.
- Stevens, M., Smith, H.G. & Hallsworth, P.B. (1995) Detection of the luteoviruses, beet mild yellowing virus and beet western yellows virus, in aphids caught in sugar-beet and oilseed rape crops, 1990–1993. *Annals of Applied Biology*, **127**, 309–320.
- Stiling, P. & Moon, D.C. (2005) Quality or quantity: The direct and indirect effects of host plants on herbivores and their natural enemies. *Oecologia*, **142**, 413–420.
- Sugio, A., Kingdom, H.N., MacLean, A.M., Grieve, V.M. & Hogenhout, S.A. (2011) Phytoplasma protein effector SAP11 enhances insect vector reproduction by manipulating plant development and defense hormone biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, E1254–63.
- Syller, J. (2012) Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections. *Molecular Plant Pathology*, **13**, 204–216.
- Sylvester, E.S. (1956) Beet yellows virus transmission by the green peach aphid. *Journal of Economic Entomology*, **49**, 789–800.
- Szczepiot, M. (2002) Effect of mineral fertilization on yielding of spring false flax and crambe. *Rosliny Oleiste*, **23**, 141–150.
- Szumigalski, A.R. & Van Acker, R.C. (2006) Nitrogen yield and land use efficiency in annual sole crops and intercrops. *Agronomy Journal*, **98**, 1030–1040.
- Thomas, F., Adamo, S. & Moore, J. (2005) Parasitic manipulation: Where are we and where should we go? *Behavioural Processes*, **68**, 185–199.
- Thompson, J.N. (1988) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **47**, 3–14.
- Throop, H.L. (2005) Nitrogen deposition and herbivory affect biomass production and allocation in an annual plant. *Oikos*, **111**, 91–100.
- Throop, H.L. & Lerdau, M.T. (2004) Effects of nitrogen deposition on insect herbivory: implications for community and ecosystem processes. *Ecosystems*, **7**, 109–133.
- Tjallingii, W.F. (1978) Electronic recording of penetration behaviour by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **24**, 521–530.
- Tjallingii, W.F. (1985) Electrical nature of recorded signals during stylet penetration by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **38**, 177–186.
- Tjallingii, W.F. (1988) Electrical recording of stylet penetration activities. *Aphids: Their Biology*,

- Natural Enemies and Control. World Crop Pests.*, Elsevier, pp. 95–108. Amsterdam, The Netherlands.
- Toulemonde, F. (2010) *Camelina sativa*, l'or végétal du Bronze et du Fer. *Anthropobotanica*, **1.1**, 3–14.
- Tsubo, M., Walker, S. & Mukhala, E. (2001) Comparisons of radiation use efficiency of mono- / intercropping systems with different row orientations. *Field Crops Research*, **71**, 17–29.
- Tu, Z., Ling, B., Xu, D., Zhang, M. & Zhou, G. (2013) Effects of southern rice black-streaked dwarf virus on the development and fecundity of its vector, *Sogatella furcifera*. *Virology Journal*, **10**, 145.
- Urbaniak, S.D., Caldwell, C.D., Zheljaskov, V.D., Lada, R. & Luan, L. (2008) The effect of seeding rate, seeding date and seeder type on the performance of *Camelina sativa* L. in the Maritime Provinces of Canada. *Canadian Journal of Plant Science*, **88**, 501–508.
- Uzest, M., Gargani, D., Drucker, M., Hebrard, E., Garzo, E., Candresse, T., Fereres, A. & Blanc, S. (2007) A protein key to plant virus transmission at the tip of the insect vector stylet. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104**, 17959–17964.
- Veromann, E., Toome, M., Kännaste, A., Kaasik, R., Copolovici, L., Flink, J., Kovács, G., Narits, L., Luik, A. & Niinemets, Ü. (2013) Effects of nitrogen fertilization on insect pests, their parasitoids, plant diseases and volatile organic compounds in *Brassica napus*. *Crop Protection*, **43**, 79–88.
- Vet, L.E.M. & Godfray, H.C.J. (2007) Multitrophic interactions and parasitoid behavioural ecology. *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids* (eds E. Wajnberg, C. Bernstein & J.J.M. van Alphen), pp. 51–70. Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Vidal, E.A., Moyano, T.C., Canales, J. & Gutierrez, R.A. (2014) Nitrogen control of developmental phase transitions in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, **65**, 5611–5618.
- Vitousek, P.M. & Howarth, R.W. (1991) Nitrogen Limitation on Land and in the Sea: How Can It Occur? *Biogeochemistry*, **13**, 87–115.
- Vollmann, J. & Eynck, C. (2015) *Camelina* as a sustainable oilseed crop: contributions of plant breeding and genetic engineering. *Biotechnology journal*, **10**, 525–35.
- Vollmann, J., Moritz, T., Kargl, C., Baumgartner, S. & Wagentristl, H. (2007) Agronomic evaluation of *camelina* genotypes selected for seed quality characteristics. *Industrial Crops and Products*, **26**, 270–277.
- Vos, M., Verschoor, A.M., Kooi, B.W., Wackers, F.L., DeAngelis, D.L. & Mooij, W.M. (2004) Inducible defences and trophic structure. *Ecology*, **85**, 2783–2794.
- Walker, M., Hartley, S.E. & Jones, T.H. (2008) The relative importance of resources and natural enemies in determining herbivore abundance: Thistles, tephritids and parasitoids. *Journal of Animal Ecology*, **77**, 1063–1071.
- Wang, G., Cui, L., Dong, J., Francis, F., Liu, Y. & Tooker, J. (2011) Combining intercropping with semiochemical releases : optimization of alternative control of *Sitobion avenae* in wheat crops in China. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **140**, 189–195.
- Wang, R.Y. & Ghabrial, S.A. (2002) Effect of aphid behavior on efficiency of transmission of Soybean mosaic virus by the soybean-colonizing aphid, *Aphis glycines*. *Plant Disease*, **86**, 1260–1264.
- Wang, Y.Y., Hsu, P.K. & Tsay, Y.F. (2012) Uptake, allocation and signaling of nitrate. *Trends in Plant Science*, **17**, 458–467.
- Waraich, E.A., Ahmed, Z., Ahmad, R., Ashraf, M.Y., Naeem, M.S. & Rengel, Z. (2013) *Camelina sativa*, a climate proof crop, has high nutritive value and multiple-uses : a review. *Australian Journal of Crop Science*, **7**, 1551–1559.

- Wäschke, N., Hardge, K., Hancock, C., Hilker, M., Obermaier, E. & Meiners, T. (2014) Habitats as Complex Odour Environments: How Does Plant Diversity Affect Herbivore and Parasitoid Orientation? (ed C Rodriguez-Saona). *PLoS ONE*, **9**, e85152.
- Watson, M.A. & Roberts, F.M. (1939) A comparative study of the transmission of hyocymus virus 3, potato virus Y and cucumber virus by the vector *Myzus persicae* (Sulz), *M. circumflexus* (Buckton) and *Macrosiphum gei* (Koch). *Proceedings of the Royal Society B*, **127**, 543–576.
- Werner, B.J., Mowry, T.M., Bosque-Pérez, N.A., Ding, H. & Eigenbrode, S.D. (2009) Changes in green peach aphid responses to potato leafroll virus-induced volatiles emitted during disease progression. *Environmental entomology*, **38**, 1429–1438.
- White, T.C.R. (1993) *The Inadequate Environment: Nitrogen and the Abundance of Animals*. Springer-Verlag, New York.
- Whitham, S.A. & Wang, Y. (2004) Roles for host factors in plant viral pathogenicity. *Current Opinion in Plant Biology*, **7**, 365–371.
- Whitham, S.A., Yang, C. & Goodin, M.M. (2006) Global impact: elucidating plant responses to viral infection. *Molecular plant-microbe interactions : MPMI*, **19**, 1207–1215.
- Whitham, T.G., Young, W.P., Martinsen, G.D., Gehring, C.A., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., Wimp, G.M., Fischer, D.G., Bailey, J.K., Lindroth, R.L., Woolbright, S. & Kuske, C.R. (2003) Community and ecosystem genetics: A consequence of the extended phenotype. *Ecology*, **84**, 559–573.
- Williams, I.S. & Dixon, A.F.G. (2007) Life cycles and polymorphism. *Aphid as crop pests* (eds H.F. van Emden & R. Harrington), pp. 69–85. CABI, Wallington.
- Wilson, C.R. & Jones, R.A.C. (1992) Resistance to phloem transport of potato leafroll virus in potato plants. *Journal of General Virology*, **73**, 3219–3224.
- Winter, T.R. & Rostás, M. (2010) Nitrogen deficiency affects bottom-up cascade without disrupting indirect plant defense. *Journal of Chemical Ecology*, **36**, 642–51.
- Wisler, G.C. & Norris, R.F. (2005) Interactions between weeds and cultivated plants as related to management of plant pathogens. *Weed Science*, **53**, 914–917.
- Xiao, Y., Wang, Q., Erb, M., Turlings, T.C.J., Ge, L., Hu, L., Li, J., Han, X., Zhang, T., Lu, J., Zhang, G. & Lou, Y. (2012) Specific herbivore-induced volatiles defend plants and determine insect community composition in the field. *Ecology Letters*, **15**, 1130–1139.
- Xu, P., Chen, F., Mannas, J.P., Feldman, T., Sumner, L.W. & Roossinck, M.J. (2008) Virus infection improves drought tolerance. *New Phytologist*, **180**, 911–921.
- Zaitlin, M. & Hull, R. (1987) Plant Virus-Host Interactions. *Annual Review of Plant Physiology*, **38**, 291–315.
- Zehnder, C.B. & Hunter, M.D. (2008) Effects of nitrogen deposition on the interaction between an aphid and its host plant. *Ecological Entomology*, **33**, 24–30.
- Zehnder, C.B. & Hunter, M.D. (2009) More is not necessarily better : the impact of limiting and excessive nutrients on herbivore population. *Ecological Entomology*, **34**, 535–543.
- Zubr, J. (1997) Oil-seed crop: *Camelina sativa*. *Industrial Crops and Products*, **6**, 113–119.
- Zvereva, E.L. & Rank, N.E. (2003) Host plant effects on parasitoid attack on the leaf beetle *Chrysomela lapponica*. *Oecologia*, **135**, 258–267.

ANNEXES

Annexe 1 : Poster Bogaert *et al.* (2016)

Effet des cultures en association sur la pression parasitaire et la régulation par les ennemis naturels

F. BOGAERT¹, P. LEBECQUE^{2*}, Q. CHESNAIS¹, P. MENU³, G. DOURY¹, V. LE ROUX¹, A. AMELINE^{1*}, A. COUTY^{1*}.



Picardie Innovations Végétal
Enseignements et
Recherches Technologiques

1 : Ecologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés, FRE 3498 CNRS - Université de Picardie Jules Verne, 33 rue St Leu 80039 AMIENS - France
2 : Clinique du Végétal, FREDON de Picardie, 19 bis rue Alexandre Dumas 80096 AMIENS Cedex 3 - France
3 : Chambre Départementale d'Agriculture de la Somme, 19 bis rue Alexandre Dumas 80096 AMIENS Cedex 3 - France
* : Auteurs correspondants

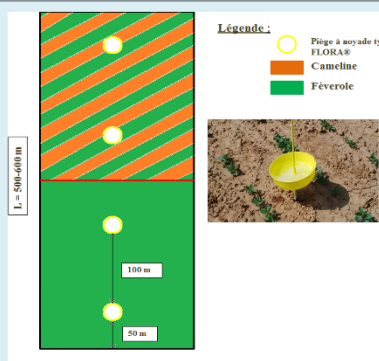
Introduction

L'utilisation de cultures en association est une pratique agricole impliquant la culture de deux ou plusieurs espèces de plantes dans un même espace et sur une même période de temps (Lithougidis *et al.*, 2011). L'introduction de plantes compagnes ou « de services » (PdS) en association avec des cultures à protéger, présente une alternative prometteuse pour la lutte contre les ravageurs (Cunningham, 2000). En effet, la cameline (*Camelina sativa*) étudiée en association à des cultures de pois ou de maïs a montré un effet sur l'amélioration des rendements de la culture d'intérêt (Haan *et al.*, 1994). La cameline présente certaines caractéristiques d'une « PdS » telles qu'un nombre restreint de ravageurs associés ainsi qu'un effet allélopathique sur les adventices (Saucke et Ackemann, 2006). L'utilisation de plante de service en association de culture peut avoir soit des effets directs sur les interactions plantes-ravageurs-auxiliaires en diminuant la pression en ravageurs (stratégie « Push-Pull », plantes répulsives ou pièges); soit des effets indirects qui engendrent une pression plus forte en auxiliaires (en favorisant l'attraction et le développement d'auxiliaires) (Malézieux *et al.*, 2009).

La culture associée Cameline – Féverole permettrait-elle, en comparaison à une monoculture de féverole, de faire diminuer la pression en pucerons ravageurs et d'améliorer l'action des auxiliaires ?

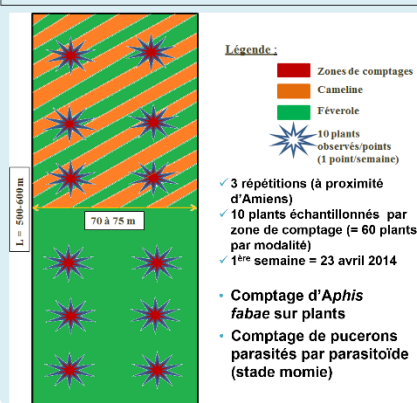
Matériels et Méthodes

1. Estimation de la pression potentielle en pucerons



L'association a le même potentiel attractif pour les pucerons que la culture seule. Sur 3078 pucerons piégés au total, on retrouve la même densité et la même diversité en espèces capturées. Les espèces *Aphis fabae* et *Myzus persicae* sont majoritaires dans les pièges.

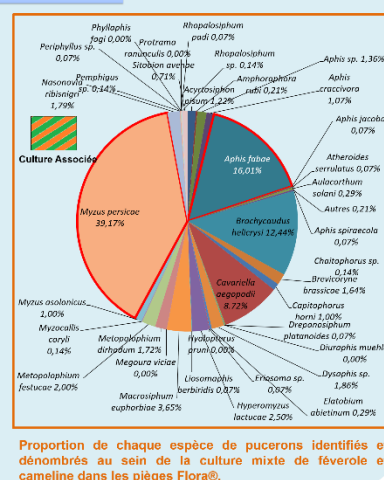
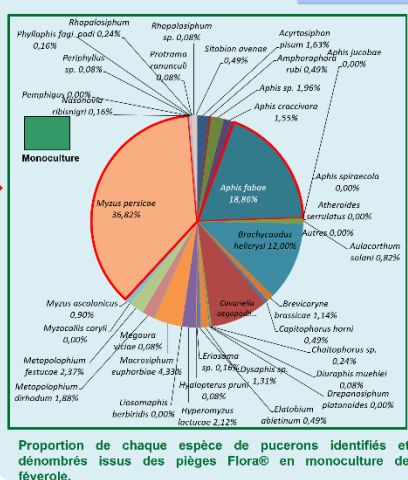
2. Comparaison de la pression en ravageurs et de l'efficacité des parasitoïdes entre la monoculture et la culture associée.



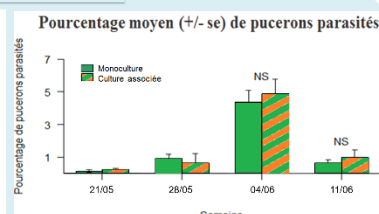
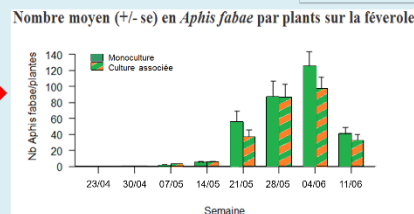
Conclusion

La culture associée cameline – féverole ne permet pas, en comparaison à une monoculture de féverole, de faire diminuer la pression en pucerons ravageurs ni d'améliorer le contrôle par les auxiliaires.

Résultats

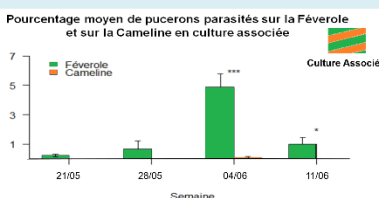
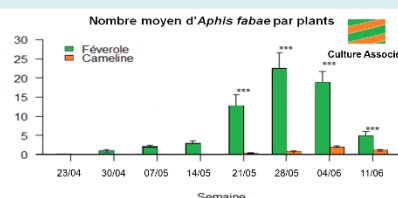


Résultats



Par rapport à la monoculture de féverole, la culture associée (camelina – féverole) ne permet pas de diminuer la pression en pucerons noirs de la fève ni d'améliorer leur régulation par les auxiliaires parasitoïdes. Cela concorde avec l'étude de Matthäus et Zubr (2000), démontrant que la camelina émet peu de Composés Organiques Volatils.

3. Comparaison de la pression en ravageurs et de l'efficacité des parasitoïdes entre *Vicia faba* et *Camelina sativa* quand elles sont en culture associée.



Au sein de la culture associée, la pression en pucerons est plus forte sur la plante d'intérêt (féverole) que sur la plante de service (cameline). Cela découle notamment d'un décalage dans la levée des plantes. La cameline n'a pas le statut de plante piège même si elle est adéquate pour le développement d'*A. fabae* (Chesnais *et al.*, 2015). Le taux de parasitisme des pucerons sur cameline étant quasi-nul, celle-ci ne peut être considérée comme une plante refuge ou réservoir pour les parasitoïdes.

ithourgidis A.S. et al. (2011) *Crop Science* 51:4396-410.

ithourgidis A.S. *et al.*, (2011) Crop Science 5-4:396-410.
 :unningham S. (2000) p.288
 laan R. *et al.*, (1994) Weed Science Society of America 42-1: 35-4
 aucke H. *et* Ackemann K. (2006) Weed Research 46-6: 453-461

Malézieux E. *et al.* (2009). *Agronomy of Sustainable Development* 29:1: 43-62

Matthäus, B. et Zubr, J. (2000) *Industrial Crops and Products* 12-1: 9-18

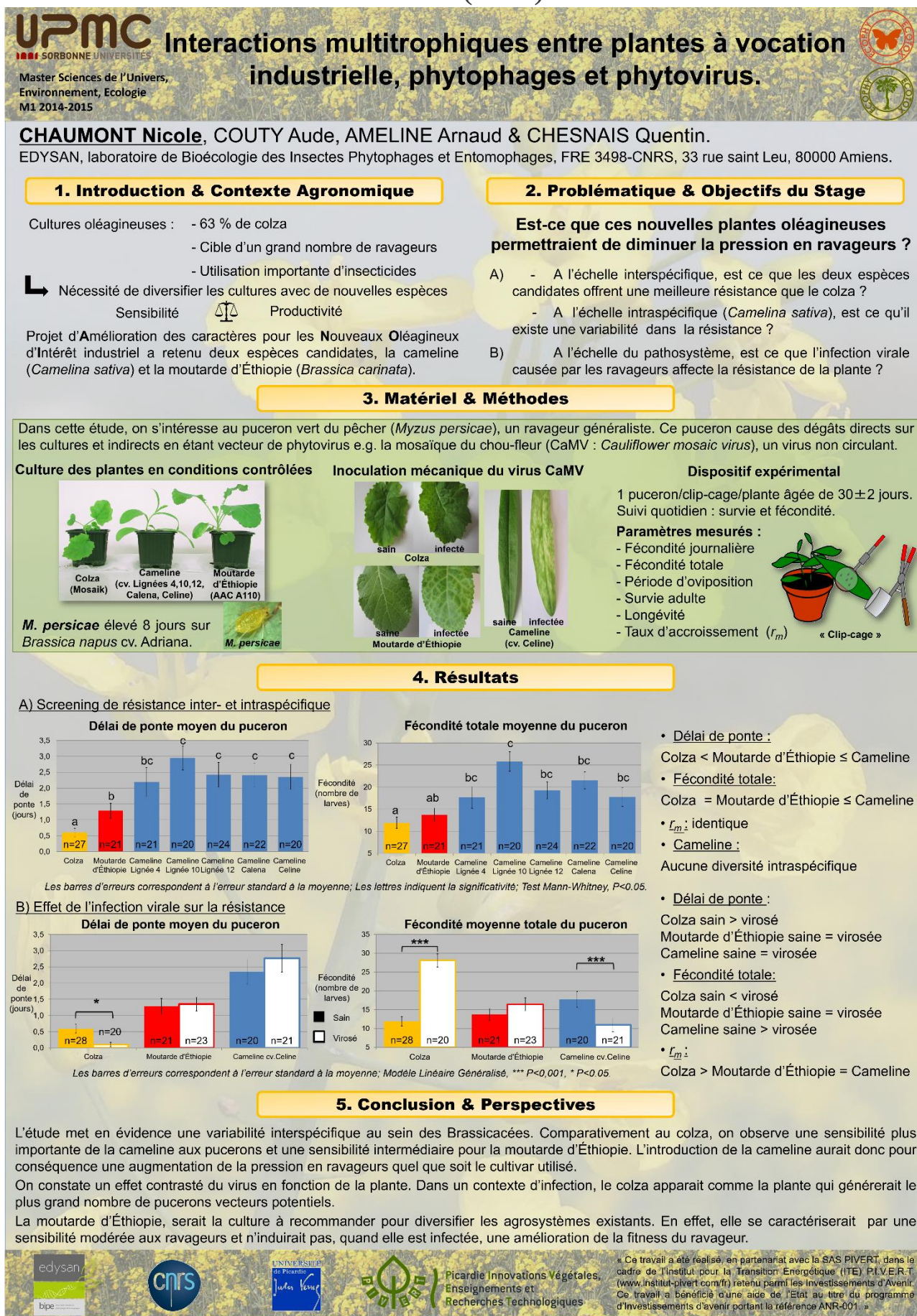
Chesnaix Q. *et al.*: (2015) *Bioenergy Research* 8-1: 91-99



Picardie Innovations Végétales
Enseignements et
Recherches Technologiques

« Ce travail a été réalisé, en partenariat avec la SAS PIVERT, dans le cadre de l'Institut pour la Transition Énergétique (ITE) P.I.V.E.R.T. (www.institut-pivert.com/fr) retenu parmi les Investissements d'Avenir. Ce travail a bénéficié d'une aide de l'État au titre du programme d'Investissements d'avenir portant la référence ANR-001-01. »

Annexe 2 : Poster Chaumont *et al.* (2015)



Annexe 3 : Contributions scientifiques issues de la thèse

Publications scientifiques dans une revue internationale à comité de lecture

Moiroux J., **Chesnais Q.**, Spicher F., Verrier E., Brault V., Ameline A. & A. Couty. Plant virus influences bottom-up regulations in a plant-aphid-parasitoid system. (soumis dans *Oecologia*).

Chesnais Q., Couty A., Uzest M., Brault V. & A. Ameline. Indirect vector manipulation by viruses, vector transmission efficiency and virus mode of transmission play their part. (en revue dans *Journal of Virology*).

Chesnais Q., Couty A., Catterou M. & A. Ameline (2016) Cascading effects of N input on Tri-Trophic (Plant - Aphid - Parasitoid) Interactions. *Ecology and Evolution*. DOI: 10.1002/ece3.2404.

Chesnais Q., Ameline A., Doury G., Le Roux V. & A. Couty (2015). Aphid Parasitoid Mothers Don't Always Know Best through the Whole Host Selection Process. *PLoS ONE* **10**(8): e0135661.

Chesnais Q., Verzeaux J., Couty A., Le Roux V. & A. Ameline (2015). Is the Oil Seed Crop *Camelina sativa* a Potential Host for Aphid Pests? *BioEnergy Research* **8**(1):91-99.

Communications orales dans un colloque international

Chesnais Q., Couty A., Uzest M., Brault V. & A. Ameline. (2016). Vector manipulation by viruses: The pathosystem Brassicaceae-aphids-phytoviruses, a study case. *International Congress of Entomology (ICE 2016)*. Orlando – États-Unis.

Chesnais Q., Couty A., Catterou M. & A. Ameline. (2015). Impact and transfer of nitrogen along a tritrophic chain: Plant – Aphid – Parasitoid wasp. *The forth International Entomophagous Insects Conference (IEIC4)*. Torre Del Mar – Espagne.

Chesnais Q., Ameline A., Le Roux V., Doury G., Bogaert F. & A. Couty (2014). Do Mothers really know best? The case of host selection by parasitoids in intercrop. *Annual Meeting of the British Ecological Society and Société Française d'Écologie*. Lille – France.

Communications orales dans un colloque national

Moiroux J., **Chesnais Q.**, Spicher, F., Verrier E., Ameline A. & A. Couty. (2016) Cascading effects of a plant virus on a tri-trophic system: physiological and behavioural approaches. *Colloque de Biologie de l'Insecte*. Tours – France.

Chesnais Q., Couty A., Uzest M., Brault V. & A. Ameline. (2015). Convergence of aphid manipulation by phytoviruses according to their mode of transmission: is it always the case? *UK – French joint meeting on Aphids*. Paris – France.

Chesnais Q., Ameline A., Le Roux V., Doury G., Bogaert F. & A. Couty (2014). Certains comportements échappent à l'hypothèse du "Mother knows best": le cas d'un parasitoïde de puceron en culture associée. 7^{ème} réunion du Réseau “*Biologie Adaptative des Pucerons et Organismes Associés*”. INRA – Avignon – France.

Communications sous forme de poster dans un colloque national

Chesnais Q., Couty A., Uzest M., Brault V. & A. Ameline. (2016). L'infection d'une plante par un phytovirus n'affecte-t-elle que les vecteurs efficaces ? *Colloque de Biologie de l'Insecte*. Tours – France.

Bogaert F., Lebecque P., **Chesnais Q.**, Menu P., Doury G. Le Roux V., Ameline A. & A. Couty. (2016). Effet des cultures en association sur la pression parasitaire et la régulation par les ennemis naturels. *Colloque de Biologie de l'Insecte*. Tours – France.

Moiroux J., **Chesnais Q.**, Verrier E., Ameline A. & A. Couty. (2015). A plant virus affects fitness of an aphid parasitoid, *Aphidius ervi*, but not its foraging behaviour. *UK – French joint meeting on Aphids*. Paris – France.

Annexe 4 : Autres contributions scientifiques

Publications scientifiques dans une revue internationale à comité de lecture

Bogaert F., **Chesnais Q.**, Catterou M., Rambaud C., Doury G. & A. Ameline (2016). How the use of nitrogen fertiliser may switch plant resistance to aphids: the case of 3 *Miscanthus*, a promising biomass crop and the aphid pest *Rhopalosiphum maidis*. (Under review dans ***Pest Management Science***).

Ameline A., Kerdellant E., Rombaut A., **Chesnais Q.**, Dubois F., Lasue P., Coulette Q., Rambaud C. & A. Couty (2015). Status of the bioenergy crop miscanthus as a potential reservoir for aphid pests. ***Industrial Crops and Products* 74**:103-110. doi: 10.1016/j.indcrop.2015.04.055.

Communications orales dans un colloque international

Halter D., **Chesnais Q.**, Fouché Q., Claudel P., Baltenweck R., Cherqui A., Couty A., Boissinot S., Bochet N., Hugueney P., Ameline A., Brault V. & V. Ziegler-Graff. (2016). Metabolic modifications in two host plants induced by a polerovirus and their outcome on aphid behaviour. *Taming Plant Viruses - Fundamental Biology to Bionanotechnology*. Pitlochry – Scotland.

Ameline A., **Chesnais Q.**, Halter D., Fouché Q., Claudel P., Cherqui A., Couty A., Hugueney P., Ziegler-Graff V. & V. Brault. (2016). Chemical Ecology of virus-infected Brassicaceae and impact on aphid vector colonization. *International Congress of Entomology (ICE 2016)*. Orlando – États-Unis.

Halter D., **Chesnais Q.**, Fouché Q., Claudel P., Baltenweck R., Cherqui A., Couty A., Boissinot S., Bochet N., Hugueney P., Ameline A., Ziegler-Graff V. & V. Brault (2016). Metabolic modifications in two host plants induced by a polerovirus and outcome on aphid behavior. *13th International Plant Virus Epidemiology Symposium*. Avignon – France.

Bogaert F., Doury G., Catterou M., **Chesnais Q.**, Rambaud C., Couty A., Dubois F. & A. Ameline. (2015). Impact of nitrogen fertilization on the interaction between the bioenergy crop miscanthus and the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Hemiptera: Aphididae). *Entomological Society of Canada and the Société d'Entomologie du Québec Joint Annual Meeting*. Montréal – Québec.

Communications sous forme de poster dans un colloque international

Nivelle E., Verzeaux J., Chabot A., Roger D., **Chesnais Q.**, Ameline A., Dubois F., Spicher F., Lacoux J., Nava-Saucedo E., Catterou M. & T. Tétu. (2016). Nitrogen and glyphosate applications affect soil microbiota and physiological parameters of common bean. *14th Congress of the European Society of Agronomy*. Edinburgh – Scotland.

Halter D., Fouché Q., Claudel P., **Chesnais Q.**, Baltenweck R., Cherqui A., Erdinger M., Boissinot S., Bochet N., Herrbach E., Hugueney P., Ameline A., Ziegler-Graff V. & V. Brault. (2015). Metabolic modifications in *Arabidopsis* plants induced by *Turnip yellows virus* and consequences on aphid

behavior. *Insects, pathogens, and plant reprogramming: from effector molecules to ecology*. Tours – France.

Communications sous forme de poster dans un colloque national

Bogaert F., Doury G., Catterou M., **Chesnais Q.**, Rambaud C., Couty A., Dubois F. & A. Ameline. (2015). How nitrogen may influence crop resistance to aphids: the case of *Miscanthus*, a promising biomass crop. *UK – French joint meeting on Aphids*. Paris – France.

Fouché Q., Cherqui A., **Chesnais Q.** & A. Ameline (2015). Étude du comportement du puceron face à une plante infectée par un phytovirus (pathosystème *Arabidopsis* / TuYV / *Myzus persicae* & *Brevicoryne brassicae*). *Colloque de la Société Française de Phytopathologie (SFP)*. Colmar – France.

Mathieu A., **Chesnais Q.**, Dumont Y., Dourdaine A., Moussady A., Flores O., Reynaud B. & S. Quilici (2013). Interactions entre une ronce envahissante, *Rubus alceifolius*, et son agent de contrôle biologique, *Cibdela janthina*, à l'île de La Réunion. *Congrès de Biologie de l'Insecte*. INRA – Montpellier – France.

Integration of Camelina in agro-ecosystems: complex multi-trophic relationships.

Quentin CHESNAIS, 2016

Camelina (*Camelina sativa*, Brassicaceae) has recently received great attention as an alternative oil-seed crop presenting various (bioenergetic, industrial, alimentary) advantages, requiring low agronomic inputs and exhibiting few attacks by phytophagous insects.

In this thesis, three objectives have been defined to understand the complexity of the multi-trophic interactions involving camelina. The first one was to determine the role of camelina as a reservoir of aphid pests. The other two were based on the study of the effects of cultural practices (nitrogen fertilization, mixed crops) and plant viruses on the tritrophic interactions involving camelina, aphids and parasitoids.

Results have shown that camelina could be considered as a plant reservoir for various aphid pest species occurring in the agricultural landscape of northern France, among which were found not only species usually restricted to Brassicaceae (*Brevicoryne brassicae*), but also polyphagous species (*Myzus persicae*, *Aphis fabae*) and specialists of Poaceae (*Rhopalosiphum padi*). Regarding the two studied agricultural practices, the association of camelina with faba bean induced deleterious effects on the biological control of the aphid *Aphis fabae* by the parasitoid *Aphidius matricariae*. The behavior of parasitoid females did not seem in line with the “optimal foraging” theory. In addition, several effects of nitrogen fertilization have been observed on the three trophic levels depending on both the dose given to the plant and the degree of specialization of the aphid. Thus, our study has shown that cultural practices could have significant “bottom-up” impacts on higher trophic levels. Finally, we have shown the two studied plant viruses had an impact which not only varied depending on the virus mode of transmission by the vector but also according to its transmission efficiency. This work also revealed the existence of “bottom-up” effects of a virus on the host selection behavior by an aphid parasitoid as well as on the physiology of the partners belonging to three trophic levels. Indeed, the performance of the aphid vector was improved on the infected plant whereas that of the parasitoid was impaired, which could lead to a better spread of the virus.

This work highlights not only the importance of taking into account the associated multi-trophic relations before the (re-) introduction of a plant species within agro-ecosystems but also the importance of identifying the risks in terms of pests and pathogens pressure.

Key-words: *Camelina sativa*, Aphids, Parasitoids, Multi-trophic interactions, Viruses, Cultural practices, Electro-penetrography, Behaviour, Life history traits.

Intégration de la Cameline au sein des agro-écosystèmes : des relations multi-trophiques complexes.

Quentin CHESNAIS, 2016

La cameline, *Camelina sativa* (Brassicaceae), fait aujourd'hui l'objet d'un regain intérêt. Il s'agit d'une plante aux vocations multiples (bioénergétique, industrielle, alimentaire), aux exigences agronomiques faibles et qui semble peu sujette aux attaques de ravageurs phytophages.

Trois objectifs visant à appréhender la complexité des interactions multitrophiques autour de la cameline ont été définis au cours de ce travail de thèse. Le premier visait à déterminer le rôle de la cameline en tant que réservoir à pucerons ravageurs. Les deux autres reposaient sur les études des impacts des pratiques culturales (fertilisation azotée, culture en association) et des virus de plantes, sur les interactions tritrophiques cameline/pucerons/parasitoïdes.

Les premiers résultats ont permis de montrer que la cameline pouvait être considérée comme plante réservoir pour différentes espèces de pucerons ravageurs présents dans les paysages agricoles du nord de la France, qu'il s'agisse d'espèces inféodées aux Brassicaceae (*Brevicoryne brassicae*), d'espèces polyphages (*Myzus persicae*, *Aphis fabae*) ou encore d'espèces spécialistes des Poaceae (*Rhopalosiphum padi*). En ce qui concerne les deux pratiques culturales étudiées, l'association de la cameline avec la fèverole a engendré des effets délétères sur le contrôle biologique du puceron *Aphis fabae* par le parasitoïde *Aphidius matricariae*. Le comportement des femelles *A. matricariae* ne semble pas satisfaire à la théorie de « *l'optimal foraging* ». En parallèle, des effets de la fertilisation azotée ont été observés sur les trois niveaux trophiques et ont varié en fonction de la dose apportée à la plante et du degré de spécialisation du puceron. Ainsi, notre étude montre que les pratiques culturales peuvent avoir des répercussions importantes de type « *bottom-up* » sur les niveaux trophiques supérieurs. Enfin, nous avons montré un impact des deux virus de plantes étudiés qui s'est révélé variable non seulement en fonction du mode mais aussi de l'efficacité de la transmission par le puceron-vecteur. Ce dernier travail a également permis de mettre en évidence des effets « *bottom-up* » d'un virus sur le comportement de sélection de l'hôte par un parasitoïde de puceron mais aussi sur la physiologie des partenaires appartenant aux trois niveaux trophiques. En effet, les performances du puceron-vecteur sur la plante infectée semblent améliorées alors que celles du parasitoïde sont altérées, ce qui pourrait se traduire par une meilleure propagation du virus.

Ces travaux soulignent l'importance de la prise en compte des relations multitrophiques avant la (ré-) introduction d'une espèce de plante dans les agro-écosystèmes, et en particulier l'intérêt d'identifier les risques associés en termes de pression de ravageurs et de pathogènes.

Mots-clés: *Camelina sativa*, Pucerons, Parasitoïdes, Interactions multi-trophiques, Virus, Pratiques culturales, Électro-pénétrographie, Comportement, Traits d'histoire de vie.