



Caractérisation des relations trophiques des communautés de parasitoïdes et de syrphes avec les plantes et les insectes ravageurs en vergers de pommiers

Ludivine Laffon

► To cite this version:

Ludivine Laffon. Caractérisation des relations trophiques des communautés de parasitoïdes et de syrphes avec les plantes et les insectes ravageurs en vergers de pommiers. Sciences agricoles. Université d'Avignon, 2024. Français. NNT : 2024AVIG0620 . tel-04565965

HAL Id: tel-04565965

<https://theses.hal.science/tel-04565965>

Submitted on 2 May 2024

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.



THÈSE DE DOCTORAT D'AVIGNON UNIVERSITÉ

École Doctorale N° 536
Agrosciences et Sciences

Spécialité de doctorat :
Sciences Agronomiques

INRAE - Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement
Unité PSH - Plantes et Systèmes de culture Horticoles

IMBE – Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale

Présentée par
Ludivine Laffon

Caractérisation des relations trophiques des communautés de parasitoïdes et de syrphes avec les plantes et les insectes ravageurs en vergers de pommiers.

Soutenue publiquement le 27/02/2024 devant le jury composé de :

Joan van Baaren, Professeure, ECOBIO CNRS, Université de Rennes 1, **Rapporteure**
Aude Vialatte, Directrice de recherche, INRAE Dynafor, **Rapporteure**
Bruno Jaloux, Maître de conférences, INRAE IGEPP, Agrocampus Ouest, **Examineur**
Elsa Canard, Chargée de recherche, INRAE IGEPP, Agrocampus Ouest, **Examinatrice**
Armin Bischoff, Professeur, IMBE, Université d'Avignon, **Directeur de thèse**
Françoise Lescourret, Directrice de recherche, INRAE PSH, **Directrice de thèse**
Pierre Franck, Chargé de recherche, INRAE PSH, **Co-encadrant de thèse**



Avant-propos

Cette thèse s'est déroulée au sein de l'unité INRAE Plantes et Systèmes de culture Horticoles (PSH), en partenariat avec l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et terrestre (IMBE). Elle a été financée par la région Sud-PACA et le département INRAE SPE. Les expérimentations ont également été financées grâce au projet européen FRAMEwork et à la SFR Tersys.

Ce travail de thèse a été valorisé sous différentes formes :

Articles publiés dans des journaux à comité de lecture

Laffon, L., Bischoff, A., Gautier, H., Gilles, F., Gomez, L., Lescourret, F. & Franck, P. (2022). Conservation Biological Control of Codling Moth (*Cydia pomonella*) : Effects of Two Aromatic Plants, Basil (*Ocimum basilicum*) and French Marigolds (*Tagetes patula*). *Insects*, Oct 6,13(10) :908. doi : 10.3390/insects13100908

Laffon, L., Bischoff, A., Blaya, R., Lescourret, F. & Franck, P. (2024). Spontaneous flowering vegetation favours hoverflies and parasitoid wasps in apple orchards but has low cascading effects on biological pest control. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 359, 108766. doi : 10.1016/j.agee.2023.108766

Communications orales

Laffon, L., Bischoff, A., Lescourret, F. & Franck, P. Effet des plantes aromatiques sur le parasitisme du carpocapse. *Journées carpocapse*, Avignon, février 2022.

Laffon, L., Bischoff, A., Lescourret, F. & Franck, P. Effets de la flore spontanée sur les syrphes et parasitoïdes et implications pour le contrôle biologique. *Séminaire du réseau EMBA*, Avignon, novembre 2023.

Laffon, L., Bischoff, A., Lescourret, F. & Franck, P. Relations trophiques des syrphes et des parasitoïdes avec la végétation et les bio-agresseurs en verger de pommiers. *Journées des doctorants IMBE*, Marseille, juillet 2022.

Laffon, L., Bischoff, A., Lescourret, F. & Franck, P. Effets de la flore spontanée sur les syrphes et les parasitoïdes et implications pour le service de contrôle biologique. *Journées carpocapse*, Avignon, février 2023.

Laffon, L., Bischoff, A., Romane, B., Lescourret, F. & Franck, P. Implication des communautés végétales dans le service de contrôle biologique en vergers de pommiers. *Colloque Ecoveg16*, Marseille, avril 2023. [poster]

Laffon, L., Bischoff, A., Lescourret, F. & Franck, P. Spontaneous vegetation in apple orchards and cascading effects on natural enemies and apple pests. *Journées des doctorants SPE*, Avignon, mai 2023.

Laffon, L., Bischoff, A., Lescourret, F. & Franck, P. Effet des plantes à fleurs sur les communautés de parasitoïdes et implications pour le contrôle biologique du puceron cendré en verger de pommiers. *43ème journées des Entomophagistes*, Gif-sur-Yvette, juillet 2023.

Remerciements

Merci à mes encadrants, Pierre, Armin et Françoise, pour avoir pensé et proposé ce sujet de thèse qui m'aura questionné pendant trois ans et trois mois. Merci de m'avoir fait confiance pour mener à bien ce projet et pour votre accompagnement et tous vos conseils qui m'ont fait progresser. Merci aussi à Armin de m'avoir permis de m'essayer à l'enseignement. C'était une belle expérience !

Merci aux membres du jury, Aude Vialatte, Joan van Baaren, Bruno Jaloux et Elsa Canard pour le temps consacré à l'évaluation de mon travail.

Je remercie aussi les membres de mon comité de thèse, Olivier Blight, Astrid Cruaud et Maxime Jacquot. Tous vos conseils et suggestions m'ont à chaque fois beaucoup aidée et permis d'avancer. Merci pour votre bienveillance.

Un immense merci à Jérôme ! Depuis la conception des amorces jusqu'à l'envoi des colis, tu as vraiment été sur tous les fronts. Je pense qu'une grande partie de ma thèse n'aurait pas vu le jour sans ton aide. Merci pour tes nombreuses explications pendant les manips de biologie moléculaire, et ta grande patience.

Je remercie toute l'équipe CBC, pour l'aide apportée sur le terrain et pour les échanges divers et variés. Merci particulièrement à Pauline, pour avoir coordonné les différents projets de terrain en 2021, et pour avoir assuré le lien avec les arboriculteurs et à Bruno, pour toute l'aide dans l'identification des parasitoïdes. Merci aussi à Mathieu, pour l'aide dans la mise en place des placettes de fleurs dans les vergers expérimentaux.

Merci aux membres de l'unité PSH pour leur accueil, et particulièrement aux stagiaires et non-permanent.e.s, ainsi qu'à Léa, Louna, Yan et Raphaël, les doctorants et doctorantes qui prennent la relève. Un merci spécial également à Pauline Laffont. C'était un plaisir d'échanger avec vous tous.tes.

Je remercie aussi les membres de l'équipe IRPNC, à l'IMBE. Si nos échanges étaient plus rares, c'était toujours agréable. Merci notamment à Romane et Olivier pour leur aide en statistiques, et à Quentin et Emile pour leur aide dans la préparation des cours et des TP.

Merci aussi à Nicolas Borowieck, pour nous avoir initiées à l'identification des parasitoïdes Dominga et moi. Merci à Jean-Yves Rasplus, pour nous avoir permis de démêler l'identification des *Aphidius*.

Merci aux arboriculteurs et arboricultrices de nous avoir donné accès à leurs vergers, et à La Durette pour m'avoir permis de tester mes méthodes d'échantillonnage dans leur verger-maraîcher.

Merci aux enseignantes des écoles maternelles de Malaucène et de Venasque, pour m'avoir ouvert les portes de leurs classes. Les animations et les discussions avec vos élèves ont été une très belle expérience !

Et puis, comme on peut le lire sur certains sachets de thé : *work but do not forget to live*. Alors merci à celles et ceux qui ont rendu ce message concret !

Tout d'abord, Clémence et Fausta. J'ai adoré notre trio pendant le début de la thèse, et Clémence notre duo ensuite. Merci d'avoir fait de notre bureau un endroit où l'on se sent bien :)

Merci à Dominga. C'était un vrai plaisir de travailler avec toi pendant ton stage de master. Ta bonne humeur rendait le terrain beaucoup plus facile, même sous la chaleur d'Avignon !

Un grand merci à la fine équipe : Louise, Mathilda, Lucas, Perrine, Noé, Quentin et Julie. Sans vous, ces trois années à Avignon auraient été bien différentes. Merci pour tous ces bons moments qui sont désormais de beaux souvenirs !

Merci à Elodie, Chloé, Vaiana, Angé, Béné et Agathe :) Que l'on se soit rencontrées pendant nos années vézinoises, ruthénoises, albigeoises ou parisiennes, je suis vraiment contente qu'on réussisse toujours à se retrouver régulièrement, malgré la (très) grande distance !

Merci, bien sûr, à ma grande famille et surtout à ma Maman et à Auré. Merci de savoir me rappeler ce qui compte vraiment. Merci aussi à Auré, de me montrer des facettes bien plus concrètes du monde agricole.

Enfin, merci à Thomas, le meilleur compagnon de thèse qui puisse être. A la suite ! ☀

Table des matières

Avant-propos	iii
Remerciements	iv
Table des matières	vi
Liste des figures	ix
Liste des tableaux	xi
Introduction	2
1 Le contrôle biologique par conservation : un levier pour une gestion durable des insectes ravageurs	2
1.1 Principe du contrôle biologique	2
1.2 Fleurs et contrôle biologique par conservation : principales hypothèses	3
2 Evaluer l'implication des fleurs dans le service de contrôle biologique	6
2.1 Qui sont les insectes visitant les fleurs des parcelles agricoles ?	6
2.2 Effets de cascade sur les insectes ravageurs et leurs dégâts	8
3 Gérer les ressources florales dans les agroécosystèmes	11
3.1 (Ré)introduction de fleurs dans les parcelles agricoles	11
3.2 Rôle de la flore spontanée	12
3.3 Choix des espèces végétales	13
4 Cas d'étude en vergers de pommiers	15
4.1 La pomiculture	15
4.2 Principaux ravageurs du pommier : le carpocapse et le puceron cendré	15
4.3 Une culture très traitée	20
4.4 Les hyménoptères parasitoïdes et les syrphes aphidiphages	20
4.5 Gestion de la flore du rang et de l'inter-rang des vergers	24
5 Questions de recherche et hypothèses	25
1 Méthodologie générale	28
1 Les sites d'étude	28
1.1 Le site atelier « Basse Vallée de la Durance »	28
1.2 Les vergers expérimentaux	30
2 Acquisition de données	30
2.1 Relevés floristiques et constitution de bases de références	30
2.2 Relevés entomologiques	31
3 <i>Barcoding</i> et <i>metabarcoding</i>	32
3.1 Principe général et application dans les agroécosystèmes	32
3.2 En pratique	34
4 Outils statistiques	36
4.1 Modèles mixtes	36
4.2 Modèles à équations structurelles	36
4.3 Analyses multivariées et réseaux d'interactions	37
2 Effets de la flore spontanée sur les syrphes et les hyménoptères parasitoïdes et implications pour la régulation des ravageurs du pommier	39
1 Introduction	41

2	Material and methods	43
2.1	Study sites	43
2.2	Botanical and entomological surveys	44
2.3	Statistical analyses	46
3	Results	48
3.1	Flower cover and diversity	48
3.2	Effects of spontaneous flowering vegetation on hoverflies, parasitoid wasps and bees	50
3.3	Effects of hoverflies and parasitoid wasps on pest regulation	52
3.4	Effects of spontaneous flowering vegetation on insect pests and on associated damage	53
4	Discussion	53
3	Des plantes "communes" pour améliorer le parasitisme du puceron cendré	71
1	Introduction	73
2	Material and methods	75
2.1	Experimental apple orchards	75
2.2	Selection of the flowering plant species	75
2.3	Experimental design	76
2.4	Field surveys	77
2.5	Parasitoid identification	78
2.6	Statistical analysis	78
3	Results	80
3.1	Flower and arthropod abundances on flower plots	80
3.2	Parasitoid wasp communities	80
3.3	RAA, parasitism, predators and ants in apple trees	85
4	Discussion	87
4	Des plantes aromatiques pour améliorer le parasitisme du carpocapse	101
1	Introduction	103
2	Material & methods	105
2.1	Study site and experimental setup	105
2.2	Field surveys	106
2.3	Adult emergence monitoring	107
2.4	Statistical analyses	107
3	Results	108
3.1	Codling moth larvae and damages	108
3.2	Codling moth parasitoids	108
3.3	Arthropod predators	110
4	Discussion	110
5	Relations trophiques des syrphes avec les plantes à fleurs et les pucerons	117
1	Introduction	118
2	Elaboration de la méthode	120
2.1	Objectifs et matériel biologique utilisé	120
2.2	Evaluation <i>in silico</i> de la capacité des marqueurs à discriminer les espèces de syrphes, de plantes et de pucerons	121
2.3	Evaluation empirique	126

2.4	Résultats des pré-tests	129
2.5	Apports pour l'analyse globale	133
3	Application : explorer les relations entre les syrphes aphidiphages, les plantes et les pucerons	134
3.1	Collecte des syrphes adultes et des larves	134
3.2	Extraction, amplification et séquençage	134
3.3	Traitement et analyse des données	135
3.4	Résultats	137
4	Discussion	144
4.1	Les syrphes visitant les espèces végétales des vergers de pommier sont-ils impliqués dans la régulation des pucerons du pommier, notamment de <i>D. plantaginea</i> ?	144
4.2	Les plantes consommées diffèrent-elles selon le taxon de syrphe considéré ?	145
4.3	Apports méthodologiques et voies d'amélioration	147
5	Conclusion	150
6	Discussion générale	162
1	Quelle est la contribution des espèces végétales au service de régulation fourni par les syrphes aphidiphages et les hyménoptères parasitoïdes en vergers de pommiers ?	164
1.1	Structuration des communautés de syrphes et d'hyménoptères parasitoïdes autour des espèces végétales en vergers de pommiers	164
1.2	Effets de cascade sur la régulation des insectes ravageurs et la réduction des dégâts associés	167
2	Utiliser des outils moléculaires pour caractériser les relations trophiques entre ennemis naturels, plantes et insectes ravageurs : apports, limites et perspectives	170
2.1	Apports du <i>barcoding</i> et du <i>metabarcoding</i>	170
2.2	Principales difficultés rencontrées	170
2.3	Élargir et complexifier les réseaux	172
2.4	Inverser les rôles : analyser l'ADN environnemental sur les fleurs	173
3	Perspectives de gestion et de recherche	175
3.1	Comment gérer la flore des vergers dans une stratégie de protection intégrée ?	175
3.2	Futures questions de recherche	179
4	Conclusion générale	185
	Références	187
	A Annexes	213

Liste des figures

I.1	Principaux indicateurs utilisés pour évaluer l'effet de la diversification végétale sur le service de contrôle biologique.	10
I.2	Photographies du carpocapse (<i>Cydia pomonella</i>) au stade adulte et larvaire et de dégâts sur fruits.	16
I.3	Photographies du puceron cendré (<i>Dysaphis plantaginea</i>) et de dégâts sur fruits.	18
I.4	Cycle de vie du carpocapse et du puceron cendré.	19
I.5	Organisation générale des chapitres.	26
1.1	Cartographie du site atelier « Basse Vallée de la Durance » en 2022.	29
1.2	Vergers du site atelier « Basse Vallée de la Durance ».	29
1.3	Relations entre les différents chapitres de la thèse pour l'acquisition des données caractérisant la flore des vergers de pommiers.	31
2.1	Location of the 18 apple orchards in south-eastern France within the long-term study zone “Basse Vallée de la Durance”.	44
2.2	Comparison of flower cover and species diversity between organic and conventional orchards and between transect locations within the orchard.	49
2.3	Effect sizes of flower cover and diversity, location within the orchard, and orchard management on beneficial insect abundance.	51
2.4	Effect sizes of natural enemies, location within the orchard, and orchard management on pest infestations and damages.	52
2.S1	Final piecewise structural equation models (pSEM).	58
2.S2	Initial pSEMs and associated hypotheses.	68
2.S3	Temporal dynamics from Mars to June of the percentage of flower cover, specific plant richness and Shannon plant diversity.	69
3.1	Experimental design - Local plants.	76
3.2	Dynamic of variables recorded on flower plots.	81
3.3	Comparison of parasitoid communities between three companion plant treatments.	83
3.4	<i>Aphidius</i> species and parasitoid wasps involved in RAA regulation.	84
3.5	Dynamic of variables recorded on apple trees.	86
3.S1	Spearman's rho correlation matrix of all measured variables.	90
3.S2	Model-averaged predictions of the effect of plant treatments on the number of arthropods observed per plot per session and on the number of parasitoid wasps collected per plot per session.	91
3.S3	Model-averaged predictions of the effect of plant treatments on the number of RAA per tree, the number of generalist predators per tree and the number of mummies per tree.	92
4.1	Experimental design - Aromatic plants.	106

4.2	Comparison of (A) the mean number of codling moth larvae per apple tree and week, (B) the mean proportion of apples with codling moth damage per tree, (C) the mean proportion of small codling moth larvae (<30 mg) per apple tree and week, and (D) the mean ratio of adult parasitoids to adult codling moths in <i>Ocimum basilicum</i> , <i>Tagetes patula</i> , and <i>Lolium perenne</i> inter-cropping plots.	109
5.1	Évaluation du <i>barcode gap</i> pour les amorces <i>COI-Syrphes</i> et <i>COI-Pucerons</i>	123
5.2	Évaluation du <i>barcode gap</i> pour les amorces <i>rbcL</i>	124
5.3	Évaluation du <i>barcode gap</i> pour les amorces <i>ITS2</i>	125
5.4	Diagramme de Venn des espèces identifiées avec les quatre bases de données employées pour l'assignation des OTU obtenus avec les marqueurs <i>rbcL</i> ou <i>ITS2</i>	131
5.5	Application de différents filtres pour éliminer les OTU faux-positifs.	132
5.6	Nombre de syrphes adultes collectés sur la végétation des vergers et nombre de larves collectées dans les colonies de <i>D. plantaginea</i>	137
5.7	Réseaux d'interactions bipartite entre les syrphes et les pucerons construits sur la base des signaux positifs détectés avec le marqueur <i>COI-pucerons</i>	139
5.8	Réseau construit à partir des OTU détectés sur les syrphes adultes (n=114) avec les marqueurs <i>rbcL</i> et <i>ITS2</i>	140
5.9	Composition des communautés de syrphes visitant la flore des vergers et des communautés végétales associées aux syrphes.	141
5.10	Positionnement non-métrique multidimensionnel de la divergence des communautés végétales entre les cinq taxons de syrphes majoritaires.	143
5.S1	Arbre phylogénétique obtenu avec les amorces <i>COI-syrphes</i>	154
5.S2	Arbre phylogénétique obtenu avec les amorces <i>COI-pucerons</i>	155
5.S3	Interactions détectées avec le marqueur <i>ITS2</i> selon les deux méthodes de construction du filtre A.	156
5.S4	Réseau construit à partir des OTU détectés sur les syrphes adultes avec les marqueurs <i>rbcL</i> et <i>ITS2</i> dans chaque verger.	157
5.1	Proportion de syrphes adultes présentant un signal positif pour chaque taxon de plantes, parmi les cinq principaux taxons de syrphes.	158
6.1	Synthèse des principaux résultats issus des différents chapitres de la thèse.	163
6.2	Représentations théoriques de différents types de réseaux pour étudier les relations entre ennemis naturels, plantes et insectes ravageurs.	174
6.3	Représentation schématique de la dynamique du puceron cendré et du carpocapse dans les pommiers sur une année.	181
6.4	Principales perspectives de gestion et de recherche.	184

Liste des tableaux

1.1	Principales méthodes pour la mise en oeuvre du <i>barcoding</i> et du <i>metabarcoding</i> .	34
2.1	Results of the linear mixed models (LMM) analysing the effects of location and orchard management on cover and diversity of spontaneous vegetation.	48
2.2	Number of recorded beneficial insects.	50
2.S1	Variance inflation factor (VIF).	57
2.S2	Combined Pearson and Spearman correlation matrix.	59
2.S3	Averaged estimated effects (GLMM) of spontaneous flowering vegetation on beneficial insect abundance.	60
2.S4	Averaged estimated effects (GLMM) of hoverfly and parasitoid abundances, location and orchard management on pest numbers (RAA infestation and CM larvae) and their damages.	61
2.S5	Summary statistics for all measured variables related to spontaneous vegetation.	62
2.S6	Summary statistics for all measured variables related to beneficial insects.	64
2.S7	Summary statistics for all measured variables (insect pests and damages)	65
2.S8	Summary statistics of the piecewise structural equation model (pSEM) explaining the effects of spontaneous flowering vegetation on beneficial insect abundance.	66
2.S9	Summary statistics of the piecewise structural equation model (pSEM) explaining the effects of spontaneous flowering vegetation on natural enemies and cascading effects on pest infestation and associated damage.	67
3.1	Results of the generalised linear mixed models (GLMM) analysing the effects of companion plants.	82
3.S1	Results of multilevel analysis.	93
3.S2	List of parasitoid wasp taxa collected on each treatment.	94
4.S1	Abundance of emerging adults of codling moth and parasitoids.	113
4.S2	Effects of companion plants on codling moth and natural enemies' abundances and on small larvae and damaged apple proportions.	114
4.S3	Cumulative number of arthropods collected per tree along the sampling period in <i>O. basilicum</i> , <i>T. patula</i> , and <i>L. perenne</i> inter-cropping plots.	115
5.1	Marqueurs et amorces utilisés et tailles attendues des amplicons.	122
5.2	Niveau de discrimination des espèces pour chaque méthode utilisée.	123
5.3	Détection d'ADN de puceron à partir des syrphes d'élevage ou sauvages.	130
5.4	Proportion (%) d'OTU assignés à une seule espèce, à plusieurs espèces d'un même genre ou d'une même famille.	131
5.5	Généralité des syrphes vis-à-vis des plantes.	142
5.S1	Résumé comparatif d'études portant sur les relations entre syrphes et plantes, établies par <i>metabarcoding</i> .	151
5.1	Abondance de syrphes recensés selon le verger, la session et le stade.	159
5.2	Régime alimentaire des taxons de syrphe.	160
A.1	Characteristics of the 18 apple orchards.	214
A.2	Liste des 112 espèces végétales recensées dans le Chapitre 2 et traits floraux associés.	215



Introduction

1. Le contrôle biologique par conservation : un levier pour une gestion durable des insectes ravageurs

1.1. Principe du contrôle biologique

La gestion des insectes ravageurs est une problématique centrale en agriculture. Depuis plusieurs décennies, les méthodes de lutte reposent essentiellement sur l'utilisation de produits phytosanitaires. Leur usage est toutefois remis en question à cause des effets non-intentionnels qu'ils provoquent. La présence de résidus de pesticides sur les aliments constitue un risque pour la santé humaine, et les risques sont également importants pour les agriculteurs qui manipulent ces substances (Kim, Kabir & Jahan, 2017 ; Nicolopoulou-Stamati et al., 2016). L'utilisation massive de pesticides est aussi l'une des causes avancées pour expliquer la crise de la biodiversité actuelle (Köhler & Triebkorn, 2013). Les pesticides sont ainsi l'un des principaux facteurs du déclin des insectes observé dans plusieurs régions du monde (Brühl et al., 2021 ; Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019 ; Serrão et al., 2022 ; Tooker & Pearsons, 2021). De plus, l'usage intensif de certains pesticides entraîne l'apparition de résistances chez les insectes ravageurs ciblés (Bass et al., 2014 ; Ju et al., 2021 ; Siegwart et al., 2017). Ces produits deviennent alors moins efficaces, ce qui conduit à une augmentation du nombre de traitements et entretient leur utilisation massive. Des alternatives sont donc recherchées pour gérer les insectes ravageurs de manière durable.

Parmi les alternatives possibles, une stratégie consiste à favoriser la régulation des insectes ravageurs¹ par leurs ennemis naturels. Il s'agit du contrôle biologique, qui peut être défini comme *«l'utilisation d'organismes vivants pour réduire la densité ou l'impact d'un organisme nuisible spécifique, le rendant ainsi moins abondant ou moins dommageable qu'il ne le serait autrement»* (Eilenberg, Hajek & Lomer, 2001). Le contrôle biologique repose donc sur une interaction biotique entre un organisme cible, le ravageur, et un organisme auxiliaire, l'ennemi naturel.

Les ennemis naturels des insectes ravageurs sont nombreux, allant des micro-organismes aux vertébrés (Díaz-Sieffer et al., 2022 ; Elnahal et al., 2022 ; Maslo et al., 2022). Les arthropodes constituent un groupe important d'ennemis naturels. Ils peuvent être divisés en deux grands groupes fonctionnels : les prédateurs et les parasitoïdes. Les prédateurs consomment directement les insectes ravageurs. Ce sont le plus souvent les larves qui sont prédatrices et l'adulte peut avoir des régimes alimentaires variés (e.g. identique à la larve,

1. Tout au long du manuscrit, le terme "ravageur" renvoie aux insectes ravageurs.

polliniphage, nectariphage ou omnivore ; Symondson, Sunderland et Greenstone, 2002). Les parasitoïdes se développent quant à eux au dépend d'un autre organisme hôte. Ils bénéficient ainsi de ressources nutritives et finissent par provoquer la mort de leur hôte. Les parasitoïdes sont principalement des hyménoptères, des diptères ou des strepsitères (K. Miller, Polaszek & Evans, 2021). Ils peuvent attaquer les ravageurs à différents stades de développement, de l'œuf à l'adulte².

Trois grandes stratégies existent pour favoriser la présence d'ennemis naturels dans les parcelles agricoles. Le contrôle biologique par introduction, ou par acclimatation, consiste à introduire un ennemi naturel dans un milieu où il n'était pas présent initialement (Boivin, 2001). Le contrôle biologique par inondation vise à augmenter l'abondance d'ennemis naturels déjà présents dans l'agroécosystème, souvent par des lâchers massifs (Bale, van Lenteren & Bigler, 2008). Enfin, le contrôle biologique par conservation implique une modification des pratiques agricoles et de l'aménagement des habitats pour favoriser et préserver les populations locales d'ennemis naturels (Ehler, 1998 ; Landis, Wratten & Gurr, 2000). Cette approche vise à fournir les ressources nécessaires aux ennemis naturels (refuges, proies alternatives, ressources alimentaires) pour accroître leur abondance et leur efficacité (González-Chang et al., 2019). C'est à cette dernière forme de contrôle biologique que nous nous intéresserons tout au long de cette thèse.

1.2. Fleurs et contrôle biologique par conservation : principales hypothèses

Le contrôle biologique par conservation (CBC) est une stratégie relativement ancienne pour lutter contre les insectes ravageurs. Certaines approches recensées remontent à plus de 2000 ans (González-Chang et al., 2019 ; Shields et al., 2019). Les recherches sur le CBC se sont plus largement développées et formalisées à partir des années 1970, questionnant notamment le rôle de la diversification végétale dans les agroécosystèmes (Altieri & Letourneau, 1982). Deux hypothèses principales se sont longtemps opposées (Shields et al., 2019). La *resources concentration hypothesis* suppose que les insectes ravageurs des cultures soient négativement impactés par des communautés végétales diversifiées, en raison de ressources insuffisantes, d'un accès restreint à la plante hôte ou d'effets répulsifs (Root, 1973). L'*enemies hypothesis* prédit quant à elle une relation positive entre la diversité végétale et l'abondance des ennemis naturels, conduisant ainsi à une meilleure régulation des ravageurs (E. P. Russell, 1989).

2. On distingue différentes stratégies de vie. Chez les parasitoïdes koinobiontes, les femelles pondent alors que l'hôte n'est qu'au stade embryonnaire ou au début de son cycle larvaire. Ces parasitoïdes ne s'attaquent véritablement à l'hôte qu'une fois le stade pré-nymphal atteint. Il s'agit le plus souvent d'endo-parasitoïdes, spécialistes. Chez les parasitoïdes idiobiontes, les femelles attaquent l'hôte quand il termine son développement larvaire. Les parasitoïdes se développent immédiatement. Ce sont souvent des ectoparasitoïdes, avec un comportement généraliste. Les endo-parasitoïdes se développent à l'intérieur de leur hôte et les ecto-parasitoïdes se développent sur leur hôte (K. Miller, Polaszek & Evans, 2021)

Aujourd'hui, il est admis que la diversification végétale affecte tous les niveaux trophiques, des ravageurs aux ennemis naturels et que les deux mécanismes peuvent être concomitants et employés pour améliorer la gestion des insectes ravageurs (Barnes et al., 2020 ; Ebeling et al., 2018). L'*ennemies hypothesis* implique notamment que la diversification végétale dans les parcelles agricoles augmente les ressources alimentaires disponibles pour les ennemis naturels. Les fleurs occupent une place importante dans la fourniture de ces ressources (Encadré 1). En effet, près d'un tiers des espèces d'insectes décrites visitent des fleurs (Wardhaugh, 2015) et les ressources florales (nectar floral, nectar extra-floral et pollen) constituent l'alimentation principale de plusieurs groupes d'ennemis naturels, prédateurs comme parasitoïdes, au stade adulte.

De nombreuses études ont été menées en laboratoire, pour évaluer les effets du nectar et du pollen sur les ennemis naturels. Dans une méta-analyse, M. Russell, 2015 a ainsi recensé 126 espèces végétales dont les effets ont été testés sur la longévité des hyménoptères parasitoïdes. L'étude montre un effet général positif, avec une intensité variable selon l'espèce testée. L'effet positif des fleurs sur la longévité des parasitoïdes est principalement lié à la consommation de nectar, floral comme extra-floral (Jado et al., 2019 ; Jamont, Dubois-Pot & Jaloux, 2014). La plupart des parasitoïdes ne consomment en effet pas de pollen, leurs pièces buccales étant trop petites. Seules certaines espèces en sont capables (Lu et al., 2014). La consommation de nectar affecte également la fécondité des parasitoïdes, notamment le nombre d'œufs pondus et leur maturation. Un régime pauvre en glucides conduit souvent à la production d'œufs plus petits, contenant peu de nutriments, à une réduction du temps de maturation, voire à une résorption des œufs (Benelli et al., 2017). Toutefois, ces observations ne sont valables que pour les parasitoïdes synovigéniques, qui mûrissent leurs œufs après l'émergence. Chez les parasitoïdes proovigéniques, les femelles adultes émergent avec des œufs déjà matures. Dans ce cas, le régime alimentaire des adultes n'a que peu d'effet sur la ponte (Benelli et al., 2017). La production d'œufs nécessite aussi des lipides et des protéines, qui peuvent être apportés par le régime alimentaire du parasitoïde adulte ou bien provenir de réserves constituées au cours de son développement dans l'hôte (Benelli et al., 2017).

Concernant les prédateurs, He et Sigsgaard, 2019 ont montré dans une méta-analyse que l'accès aux ressources florales, en particulier à des fleurs entières ou à du nectar, influençait positivement leur longévité. Le pollen avait aussi un effet globalement positif, mais plus faible. Toutefois, l'effet des ressources florales varie selon le groupe de prédateurs considéré, en raison de stratégies alimentaires diverses. Des prédateurs tels que les syrphes ou les chrysopes dépendent essentiellement de ressources florales au stade adulte, et seront de fait les plus fortement impactés (Devetak & Klokočovník, 2016 ; Rodríguez-Gasol et

al., 2020). D'autres prédateurs, comme les coccinelles ou certaines araignées, sont omnivores au stade adulte et exploitent des ressources florales surtout lorsque l'accès à d'autres ressources est limité (Lundgren, 2009; Nyffeler, Olson & Symondson, 2016; Taylor & Pfannenstiel, 2008). De nombreux prédateurs omnivores peuvent se reproduire et pondre leurs œufs en s'alimentant seulement de ressources florales, mais en quantité plus faible qu'avec un régime alimentaire incluant des proies (He & Sigsgaard, 2019). Par exemple, la seule consommation de nectar allonge la durée de vie des coccinelles *Adalia bipunctata*, mais ne favorise pas leur mue ou leur reproduction (He & Sigsgaard, 2019). La reproduction des prédateurs omnivores requiert un taux de protéines élevé, et diverses sources alimentaires sont donc nécessaires.

Encadré 1 - Fleurs et ressources florales

Les termes **fleurs** ou **unités florales** sont ici utilisés pour désigner les organes reproducteurs sexués des **plantes à fleurs** (i.e. des Angiospermes). Cela peut correspondre à une fleur solitaire ou à une inflorescence.

Les **ressources florales** désignent le nectar et le pollen produits par les plantes à fleurs. Nous incluons également le nectar extra-floral, bien qu'il ne soit pas à proprement parler produit par les unités florales.

Le **nectar** est une solution aqueuse contenant principalement des sucres ainsi que des acides aminés, des protéines, des vitamines, des phénols, des lipides ou encore des composés organiques volatils, en plus faible quantité (Roy et al., 2017). Le nectar floral est produit par les nectaires des fleurs, glandes situées à la base des pétales, des étamines ou du pistil. D'autres nectaires peuvent être présents à l'extérieur des fleurs, sur la tige, les feuilles, les stipules, voire sur les fruits. Dans ce cas, il s'agit de nectaires extra-floraux (Nepi, Grasso & Mancuso, 2018). La principale fonction attribuée au nectar floral est l'attraction des animaux pollinisateurs. Le nectar extra-floral a lui une fonction plutôt défensive. Il attire des arthropodes, généralement des fourmis mais aussi des parasitoïdes, qui régulent les insectes phytophages attaquant la plante (Koptur, 2005).

Le **pollen** est le gamétophyte mâle permettant la reproduction sexuée des plantes à fleurs. Il constitue une source importante de protéines et de lipides, avec des variations de composition entre espèces. Le pollen est aussi riche en micronutriments (vitamines, minéraux) et contient divers composés phytochimiques (e.g. caroténoïdes, alcaloïdes, phénols) qui peuvent avoir des effets antioxydants et/ou antimicrobiens (Vaudo et al., 2015).

Au-delà du nectar et du pollen, les plantes à fleurs peuvent fournir d'autres ressources, telles que des huiles végétales ou des exsudats foliaires (Lu et al., 2014), voire même des lieux de repos (Barahona-Segovia, Durán-Sanzana & Murúa, 2022).

Les ressources florales affectent donc positivement la longévité et la fécondité des parasitoïdes et des prédateurs. De fait, il est attendu que la présence de fleurs dans les parcelles agricoles favorise les populations d'ennemis naturels. Dans la suite, nous questionnerons les effets des fleurs sur les ennemis naturels et en cascade sur la régulation des insectes ravageurs. Nous nous intéresserons également à la manière de gérer les ressources florales dans les parcelles agricoles pour promouvoir le service de contrôle biologique.

2. Evaluer l'implication des fleurs dans le service de contrôle biologique

2.1. Qui sont les insectes visitant les fleurs des parcelles agricoles ?

De manière générale, la présence de fleurs dans les parcelles agricoles affecte positivement l'abondance et la diversité spécifique et fonctionnelle des insectes (Boetzl et al., 2021 ; Haaland, Naisbit & Bersier, 2011). Ces effets positifs ont été mis en évidence en vergers (e.g. Aparicio et al., 2021 ; Campbell et al., 2017), en grandes cultures (e.g. Mei et al., 2021 ; Schmied et al., 2022) ainsi qu'en cultures maraîchères (e.g. Ambrosino et al., 2006 ; Balzan & Moonen, 2014). Toutefois, les effets positifs des fleurs sur l'entomofaune ne conduisent pas forcément à une amélioration du contrôle biologique des insectes ravageurs. Pour cela, il faut notamment s'assurer que les fleurs attirent les ennemis naturels ciblés.

Les relations que les ennemis naturels entretiennent avec les fleurs sont le plus souvent évaluées grâce à des observations de visites de fleurs sur le terrain (e.g. Hatt et al., 2017 ; Hogg, 2011 ; Retallack, Thomson & Keller, 2019) ou des tests de choix en laboratoire (e.g. Amorós-Jiménez et al., 2014 ; Gonzalez et al., 2016 ; Resende et al., 2017). Une autre approche consiste à identifier les grains de pollen présents dans leur contenu stomacal ou sur leur corps (Bertrand et al., 2019 ; Vialatte et al., 2017 ; Villa et al., 2021). Néanmoins, l'identification du pollen par microscopie se révèle parfois fastidieuse et toutes les espèces végétales visitées et/ou consommées ne sont pas identifiables (Smart et al., 2017).

Concernant les hyménoptères parasitoïdes plus spécifiquement, beaucoup d'études consistent à évaluer et comparer en laboratoire l'attraction d'espèces végétales pour un petit nombre d'espèces de parasitoïdes, souvent une seule (M. Russell, 2015). Sur le terrain, les études caractérisant précisément les communautés de parasitoïdes visitant les fleurs sont rares. Il est difficile d'établir des liens précis entre espèces de parasitoïdes et de fleurs. Les hyménoptères parasitoïdes constituent un groupe très diversifié (Forbes et al., 2018 ; Polaszek & Vilhensen, 2023) et, contrairement à d'autres taxons, il est quasiment impossible de les identifier directement sur le terrain. Pour reconstituer des liens entre espèces de parasitoïdes et espèces de fleurs, il faut donc collecter les parasitoïdes sur les fleurs et les

identifier *a posteriori* en laboratoire. Mais les compétences taxonomiques manquent et l'identification, même en laboratoire, reste délicate et chronophage. De plus, les parasitoïdes ne consomment que peu, voire pas du tout, de pollen (Lu et al., 2014). La méthode d'identification du pollen présentée plus haut est donc difficilement applicable. En conséquence, les parasitoïdes visitant les fleurs sont parfois considérés comme un seul groupe (e.g. Campbell et al., 2012; Mateos-Fierro et al., 2021). Cela constitue une première indication de l'effet des fleurs sur les parasitoïdes, mais ne permet pas de déterminer si les fleurs attirent des espèces de parasitoïdes effectivement impliquées dans la régulation des insectes ravageurs, ou d'évaluer le caractère généraliste ou spécialiste des parasitoïdes vis-à-vis des fleurs.

Certaines études ont identifié les parasitoïdes visitant les fleurs au niveau de la famille ou de la sous-famille (e.g. Denis et al., 2021; Dib, Libourel & Warlop, 2012; Sivinski et al., 2011) et suggèrent des préférences distinctes entre familles vis-à-vis des fleurs. Zemenick et al., 2019 ont conduit l'une des rares analyses de réseaux d'interactions entre espèces de parasitoïdes et espèces végétales, grâce à des observations réalisées par Robertson, 1929. Les résultats montrent que certaines espèces de parasitoïdes ont un comportement plutôt spécialiste. Il s'agit le plus souvent d'espèces trop grandes pour se loger dans les nectaires des fleurs et aux pièces buccales trop courtes pour atteindre le nectar situé dans des corolles profondes, principalement des Ichneumonidés. Les parasitoïdes de plus petite taille auraient un comportement plus généraliste (Zemenick et al., 2019). Toutefois, cette étude se base sur des données relativement anciennes et ne questionne pas l'implication des parasitoïdes dans la régulation d'insectes ravageurs. Or, les parasitoïdes collectés sur les fleurs ne sont pas toujours des taxons impliqués dans la régulation des ravageurs d'intérêt (Dib, Libourel & Warlop, 2012). Des études supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces observations, préciser les interactions entre plantes et parasitoïdes, et les conséquences pour le contrôle biologique.

Une meilleure caractérisation des relations que les arthropodes prédateurs et les parasitoïdes entretiennent avec les plantes est donc nécessaire, et pourrait être facilitée grâce à des outils de biologie moléculaire. Le *metabarcoding*³ offre de nouvelles possibilités pour reconstituer de manière plus fine les relations entre les plantes et les insectes visiteurs sur la base du pollen consommé (Arstingstall et al., 2021; Lowe, Jones, Witter et al., 2022). L'identification de parasitoïdes collectés sur fleurs pourrait aussi être facilitée par le *barcoding*. Mais cette méthode est, pour l'instant, principalement employée pour décrire les interactions entre parasitoïdes et hôtes (K. Miller, Polaszek & Evans, 2021), et rarement entre parasitoïdes et plantes (mais voir par exemple González et al., 2022).

3. Les méthodes de *barcoding* et de *metabarcoding* sont présentées dans le chapitre 1.

2.2. Effets de cascade sur les insectes ravageurs et leurs dégâts

Dans une méta-analyse, Albrecht, Kleijn et al., 2021 ont montré que la présence de bandes fleuries dans les parcelles agricoles augmentait le service de contrôle biologique de 16%. Ce résultat soutient donc l'*exporter hypothesis*, selon laquelle la présence de fleurs favorise les ennemis naturels qui, en cascade, contribuent à la régulation des insectes ravageurs. Les études utilisées dans cette méta-analyse se basent principalement sur des indicateurs de l'activité des ennemis naturels (i.e. taux de parasitisme et potentiel de prédation, Albrecht, Kleijn et al., 2021).

L'action des parasitoïdes est souvent évaluée en mesurant la proportion d'insectes ravageurs parasités sur le terrain. Un effet positif de la présence de fleurs sur le taux de parasitisme des insectes ravageurs a été montré à plusieurs reprises (e.g. Balmer et al., 2013; Balzan & Moonen, 2014; Serée et al., 2023). Toutefois, la précision de cet indicateur est variable, et doit être couplée à d'autres méthodes de suivi, notamment l'échantillonnage de parasitoïdes (Wardhaugh, 2015).

L'utilisation de proies sentinelles ou de cartes de prédation est une méthode courante pour mesurer l'activité des ennemis naturels prédateurs (Boetzl, Konle & Krauss, 2020). Mateos-Fierro et al., 2021 ont ainsi montré que l'installation de bandes fleuries augmentait de 25% le potentiel de prédation en vergers de cerisiers. De même, Campbell et al., 2017 ont montré que la présence de fleurs était associée à une augmentation du potentiel de prédation en vergers de pommiers (+ 55%). D'autres études ne révèlent toutefois pas d'effets de l'ajout de fleurs sur le potentiel de prédation mesuré avec des proies sentinelles (Cahenzli et al., 2019; McKerchar et al., 2020). Cette méthode est parfois discutée (Boetzl, Konle & Krauss, 2020; Lövei & Ferrante, 2017). Il s'agit d'un indicateur simple et rapide à mettre en œuvre, mais dont la précision est limitée. Par exemple, les prédateurs consommant les proies sentinelles ne sont pas forcément impliqués dans la régulation des insectes ravageurs affectant la culture d'intérêt (Cahenzli et al., 2019).

Une autre manière d'étudier l'activité de prédation est d'analyser le contenu stomacal de prédateurs par biologie moléculaire. Cette méthode permet de reconstituer leur régime alimentaire en identifiant d'éventuelles traces ADN d'insectes ravageurs. Elle est le plus souvent appliquée à des prédateurs carnivores ou omnivores au stade adulte. Unruh et al., 2016 ont par exemple mis en évidence la consommation de larves de carpocapse par plusieurs espèces d'araignées, de carabes et de forficules. Cet outil est toutefois plus difficile à utiliser pour des prédateurs dont le régime alimentaire change au stade adulte, comme les syrphes ou les chrysopes. Ainsi, il est possible de détecter de l'ADN de pucerons chez des larves de syrphes (Hodgkiss et al., 2022) mais la la détection d'ADN de pucerons sur

des syrphes adultes, après métamorphose, n'a pas encore été documentée.

Au-delà de l'activité des ennemis naturels, l'implication des plantes à fleurs dans le service de contrôle biologique peut être évaluée en mesurant la densité d'insectes ravageurs dans les parcelles agricoles. Par exemple, Tschumi et al., 2015 ont observé une réduction de 40 à 53% des populations d'*Oulema melanopus* dans des parcelles de blé intégrant des bandes fleuries par rapport à des parcelles témoins. D'autres études, en revanche, ne montrent pas d'effet significatif de l'ajout de fleurs sur le niveau d'infestation par les ravageurs (e.g. Campbell et al., 2017; Markó et al., 2012). Des effets négatifs sont même parfois notés. Par exemple, Bone et al., 2009 ont observé une augmentation des populations de ravageurs associée à la présence de plantes de couverture en vergers de pommiers. De manière plus globale, Johnson et al., 2021 ont montré que, sur près de 150 études, 37% des essais de diversification végétale menaient à une réduction significative de la densité de ravageurs.

Les effets de cascade de la flore sur les insectes ravageurs sont donc contrastés. Plusieurs éléments peuvent expliquer que la présence de fleurs ne conduise pas toujours à une réduction des populations d'insectes ravageurs (Tscharntke et al., 2016). C'est notamment le cas lorsque les mesures de diversification végétale profitent davantage aux insectes ravageurs qu'aux ennemis naturels ou lorsque la culture principale fournit des ressources plus importantes ou adéquates pour les ennemis naturels que les habitats adjacents (Tscharntke et al., 2016). De plus, les pratiques agricoles peuvent parfois limiter l'effet positif attendu de l'ajout de fleurs (McKerchar et al., 2020).

Enfin, la méta-analyse d'Albrecht, Kleijn et al., 2021 n'inclut qu'un petit nombre d'études ayant quantifié les effets de cascade sur les dégâts occasionnés par les insectes ravageurs (3 études sur 18). De manière générale, peu d'études quantifient les effets de cascade des fleurs sur les dégâts. Parmi les études recensées par Johnson et al., 2021, 121 études questionnent les effets associés de la diversification végétale médiés par les ennemis naturels, et seulement 26 études ont évalué les effets sur les dégâts. La plupart de ces études sont relativement récentes : plus de 50% ont été réalisées entre 2016 et 2020 (Fig. I.1). Et, lorsque les effets sur les dégâts sont effectivement évalués, les résultats sont contrastés (Bone et al., 2009; Tschumi et al., 2015). Or, réduire significativement les dégâts associés aux insectes ravageurs est l'un des principaux objectifs du contrôle biologique. Intégrer cet indicateur est donc nécessaire pour pleinement évaluer l'effet des fleurs sur la régulation des insectes ravageurs et (Johnson et al., 2021; Uyttenbroeck et al., 2016).

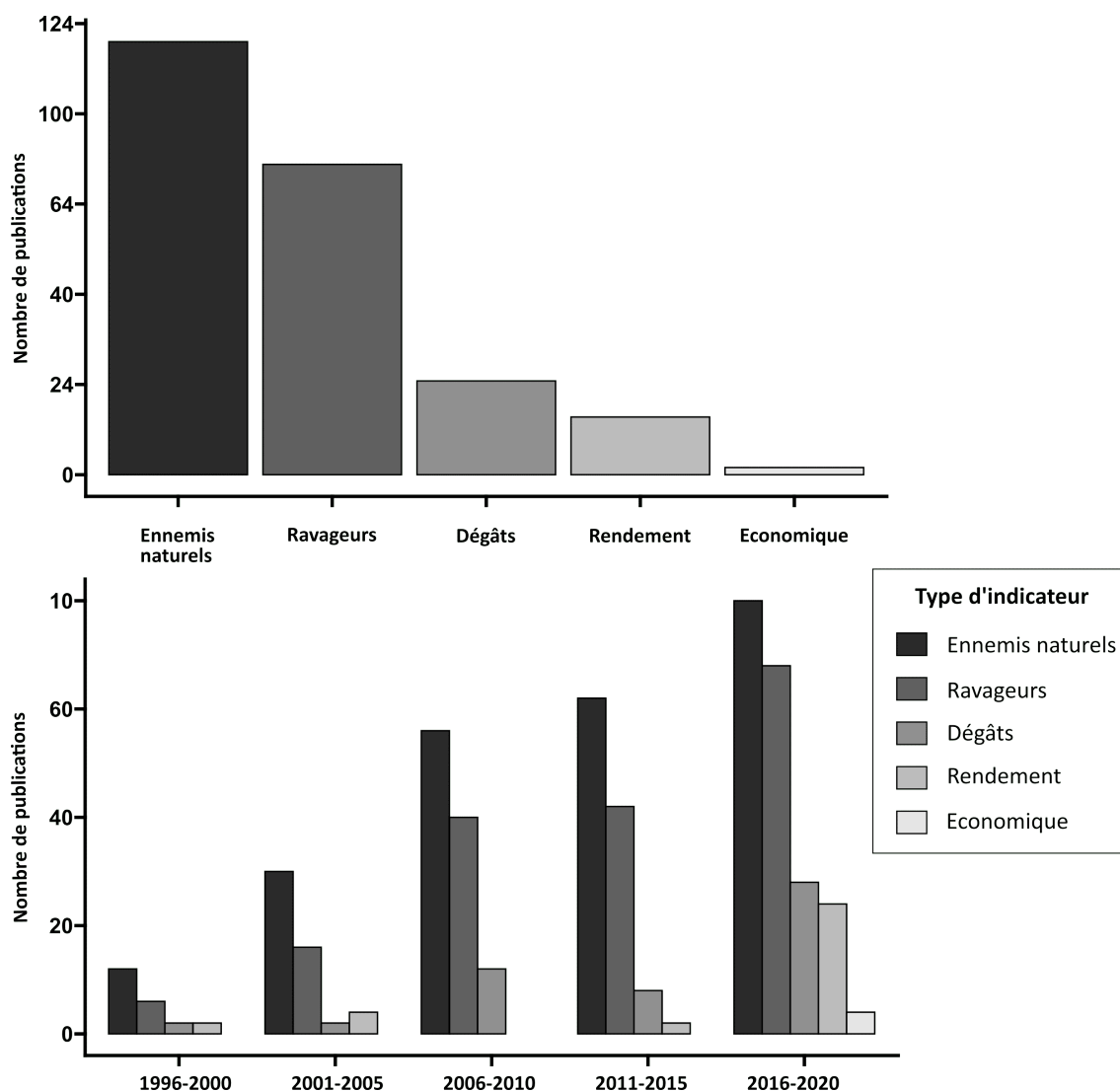


FIGURE I.1 – **Principaux indicateurs utilisés pour évaluer l'effet de la diversification végétale sur le service de contrôle biologique.** Les données utilisées proviennent du Supplementary Material de Johnson et al., 2021. Sur les 150 études recensées par les auteurs, 29 ont été enlevées. Il s'agissait d'études n'évaluant pas l'action d'ennemis naturels (par exemple, la répulsion des ravageurs par les fleurs) ou n'évaluant pas directement l'effet de fleurs (par exemple, l'effet des résidus de culture laissés au sol). En haut : nombre de publications utilisant chaque type d'indicateur, pour l'ensemble de la période (1996-2020). En bas : évolution temporelle du nombre de publications utilisant chaque type d'indicateur. L'indicateur « ennemis naturels » désigne des mesures d'abondance, de diversité ou d'activité des ennemis naturels. L'indicateur « ravageur » désigne la densité d'insectes ravageurs recensés sur la culture d'intérêt.

3. Gérer les ressources florales dans les agroécosystèmes

3.1. (Ré)introduction de fleurs dans les parcelles agricoles

Un déclin général de la disponibilité en ressources florales a été documenté dans plusieurs pays européens. Baude et al., 2016 ont notamment estimé que la fourniture en nectar à l'échelle du Royaume-Uni avait chuté de 30% entre 1930 et 1970. La fourniture en nectar s'est stabilisée à la fin des années 70, pour augmenter à nouveau durant les années 2000. Toutefois, la diversité des sources de nectar a fortement diminué entre 1978 et 2007. Ainsi, seulement quatre espèces végétales représentent plus de 50% de l'approvisionnement en nectar à l'échelle du Royaume-Uni (Baude et al., 2016). En France, Fried, Kazakou et Gaba, 2012 ont observé un déclin général de l'abondance et de la richesse de la flore adventice. En Suisse, Abrahamczyk et al., 2020 ont montré une réduction de l'abondance des plantes visitées par de nombreux groupes d'insectes, en particulier en milieu agricole. Des observations similaires ont également été faites au Danemark (Andreasen, Stryhn & Streibig, 1996), et en Allemagne (Baessler & Klotz, 2006 ; Wesche et al., 2012).

Cette réduction d'abondance et de diversité des ressources florales est notamment liée à l'intensification agricole. L'uniformisation des parcelles, la simplification des rotations culturales, la réduction et la fragmentation des habitats semi-naturels ainsi que l'utilisation importante d'herbicides et de fertilisants sont autant de facteurs conduisant à une raréfaction des ressources florales dans les agroécosystèmes (Fried, Villers & Porcher, 2018 ; R. M. Hall et al., 2020 ; Kleijn & Verbeek, 2000).

Face à ce constat, différentes initiatives ont été mises en œuvre pour augmenter à nouveau l'abondance et la diversité des fleurs dans les agroécosystèmes. En Europe, ces mesures s'inscrivent plus largement dans le cadre des programmes agro-environnementaux (ou *agri-environment schemes*), intégrés par des réformes successives dans la politique agricole commune (PAC). Ces programmes agro-environnementaux reposent sur un mécanisme de compensation financière des agriculteurs pour favoriser des pratiques et des modes de gestion moins intensifs (Batáry et al., 2015 ; Elmiger et al., 2023 ; Hodge, Hauck & Bonn, 2015). La diversification végétale dans les parcelles agricoles peut prendre différentes formes, variant selon leur emprise spatiale, leur distance à la culture principale et leur durée d'implantation.

Une stratégie est l'installation de bandes fleuries, qui sont des structures longitudinales composées d'une ou plusieurs espèces végétales, annuelles ou pérennes, sélectionnées et établies à l'intérieur ou en bordure des parcelles agricoles, souvent en remplacement de la végétation préexistante (Albrecht, Kleijn et al., 2021 ; González-Chang et al., 2019). Les systèmes plurispécifiques sont une autre forme de diversification végétale. Il peut

par exemple s'agir de cultures associées, de cultures en relais, de semis sous couverture végétale permanente ou bien d'agroforesterie (Herz et al., 2019). La fonction première de ces associations de culture n'est pas toujours d'apporter des ressources florales, mais parfois de protéger et d'enrichir le sol, d'augmenter la résilience face aux aléas climatiques et/ou de diversifier les revenus agricoles (Brannan et al., 2023). Pour autant, certaines espèces employées dans les systèmes plurispécifiques peuvent fournir des ressources alimentaires importantes pour les insectes auxiliaires (Lopes et al., 2016).

Les haies abritent également des espèces végétales importantes dans la fourniture de ressources florales. Les espèces arborées peuvent jouer un rôle clé en début de saison pour fournir du nectar et du pollen (Bartual et al., 2019; Ostaff et al., 2015). Certaines espèces d'arbres ou d'arbustes fournissent du nectar avec une forte teneur en sucres, parfois bien plus élevée que chez les espèces herbacées (Bentrup et al., 2019). Les haies, bien que moins présentes en surface par rapport à d'autres habitats à l'échelle du paysage, fourniraient ainsi la plus grande quantité de nectar au m² (Timberlake, Vaughan & Memmott, 2019). Toutefois, les effets des haies sur le contrôle biologique sont moins nets que ceux des bandes fleuries (Albrecht, Kleijn et al., 2021).

3.2. Rôle de la flore spontanée

La flore spontanée renvoie aux espèces végétales se développant naturellement en bordure ou à l'intérieur des parcelles agricoles et sur le rang ou l'inter-rang des cultures pérennes. Ces plantes spontanées sont généralement qualifiées d'adventices ou des mauvaises herbes et considérées comme nuisibles pour la production agricole. Elles peuvent en effet entrer en compétition avec la culture, être un réservoir de bio-agresseurs et compliquer la récolte. Aussi, la flore spontanée est le plus souvent gérée et réduite en combinant travail du sol et/ou application d'herbicides. Pour autant, les espèces végétales présentes spontanément dans les parcelles agricoles sont une source non négligeable de pollen et de nectar et peuvent être bénéfiques pour les insectes auxiliaires. Cela a notamment été montré pour les insectes pollinisateurs (Bretagnolle & Gaba, 2015) ainsi que pour les ennemis naturels (Daane et al., 2018; Pollier et al., 2018)

Préserver la flore spontanée des parcelles agricoles pourrait donc être une autre stratégie pour accroître la disponibilité des ressources florales et favoriser l'activité des ennemis naturels (Blaix et al., 2018; Norris & Kogan, 2000). Cette stratégie pourrait se révéler moins coûteuse que l'introduction de mélanges fleuris commerciaux dans les parcelles pour réguler les insectes ravageurs (Balfour & Ratnieks, 2022). L'implication de la flore spontanée dans le service de contrôle biologique a été étudiée en cultures annuelles (e.g Blaix et al., 2018; Smith et al., 2020). Les études menées en cultures pérennes sont moins nombreuses

et concernent souvent les vignes (e.g Blaix et al., 2018 ; Daane et al., 2018).

La flore spontanée peut aussi être une source d’inspiration pour optimiser la composition des mélanges fleuris commercialisés et implantés dans les parcelles agricoles. Le plus souvent, un petit nombre d’espèces dominent les études évaluant les effets des plantes à fleurs sur le service de contrôle biologique (Fiedler & Landis, 2007). Quatre espèces apparaissent comme prépondérantes : la phacélie (*Phacelia tanacetifolia*), le sarrasin (*Fagopyrum esculentum*), l’alysson maritime (*Lobularia maritima*) et la coriandre (*Coriandrum sativum*). Il semble que ces espèces aient été intégrées dans les premières études menées sur la diversification végétale et, s’étant montrées efficaces, furent largement reprises par la suite (Fiedler & Landis, 2007). Pour autant, les espèces spontanées et locales pourraient se révéler tout aussi efficaces. Balfour et Ratnieks, 2022 ont par exemple montré que certaines espèces adventices attiraient deux fois plus d’insectes auxiliaires que les espèces couramment recommandées dans les mélanges fleuris. Ces espèces présentent aussi l’avantage d’être bien adaptées au contexte pédoclimatique local et déjà en interaction avec l’entomofaune locale (Jado et al., 2019).

Ces constats suggèrent donc de diversifier les espèces végétales étudiées, et notamment de s’appuyer sur la flore spontanée et locale pour identifier de potentielles plantes candidates à même de promouvoir le service de contrôle biologique. Cela suppose une identification et des expérimentations menées à une échelle régionale (Lundin, Ward & Williams, 2019). Dans une revue de la littérature, Zaviezo et Muñoz, 2023 ont recensé 56 études menées en ce sens, dont la plupart sont relativement récentes (66% ont été conduites entre 2012 et 2022 et 38% entre 2017 et 2022). Mais, il s’agit le plus souvent d’étudier l’attractivité des espèces végétales pour les ennemis naturels, sans nécessairement évaluer les implications concrètes pour la régulation des ravageurs et la réduction des dégâts (e.g Denis et al., 2021 ; Gibson et al., 2019 ; Lundin, Ward & Williams, 2019).

3.3. Choix des espèces végétales

Les espèces végétales présentes dans les parcelles agricoles, qu’elles soient introduites ou spontanées, ont des effets variables sur le contrôle biologique. Un élément central est la composition spécifique et fonctionnelle des communautés floristiques (Nichols, Holland & Goulson, 2022 ; Warzecha et al., 2018). Une attention particulière doit être portée au choix d’espèces végétales pour concevoir des associations favorables aux ennemis naturels ciblés (F. L. Wäckers & van Rijn, 2012). Ces dernières années, les recherches se sont davantage focalisées sur les traits floraux, afin de formuler des recommandations plus généralisables (Gardarin et al., 2018 ; Perović et al., 2018 ; Shields et al., 2019).

La période de floraison est importante (Welch & Harwood, 2014). Il faut notamment veiller à fournir des ressources suffisamment tôt dans la saison pour permettre une action précoce sur les ravageurs, avant le pic d'infestation (Pfiffner et al., 2019). L'attractivité des plantes dépend aussi de la couleur des fleurs et de leur morphologie. Hatt et al., 2018 ont ainsi observé que la présence ou l'absence d'un pattern ultra-violet et la morphologie de la corolle déterminaient l'abondance de certains prédateurs (chrysopes, syrphes et coccinelles) visitant les bandes fleuries. La morphologie florale conditionne l'accessibilité de la ressource. Pour le nectar, elle dépend notamment de l'adéquation entre la profondeur du nectar dans la corolle et la taille des pièces buccales des insectes (Gardarin, Pigot & Valantin-Morison, 2021). L'accessibilité du nectar semble être plus limitante que l'accessibilité du pollen (Nave et al., 2016). La présence de nectar extra-floral peut aussi favoriser les ennemis naturels ayant des pièces buccales courtes, comme les parasitoïdes, qui peuvent facilement y accéder (Géneau et al., 2013 ; Mallinger & Prasifka, 2017). De plus, la quantité de nectar et sa composition peuvent conditionner l'attractivité de la plante pour les insectes auxiliaires. Des études menées sur les Apoïdes suggèrent ainsi que la quantité de sucres offerte par les fleurs conditionne le nombre de visites et l'abondance des pollinisateurs (Fowler, Rotheray & Goulson, 2016). Toutefois, la quantité et la composition des ressources florales sont rarement prises en compte pour évaluer l'effet des plantes sur le recrutement des ennemis naturels et le renforcement du contrôle biologique.

L'émission de composés organiques volatils (COV) est un autre élément important dans l'attraction ou la répulsion des arthropodes par les plantes. Certaines espèces végétales, en particulier les plantes aromatiques, sont ainsi étudiées pour leurs effets répulsifs sur les insectes ravageurs (e.g. Basedow, Hua & Aggarwal, 2006 ; Conboy et al., 2019 ; Jankowska, Poniedzialek & Jędrszczyk, 2009). Toutefois, les COV émis par certaines plantes aromatiques peuvent aussi être attractifs pour les insectes auxiliaires. Cela a été montré pour des insectes pollinisateurs (Barbir et al., 2016), ainsi que pour des prédateurs (Batista et al., 2017 ; Togni et al., 2016). Hatt et al., 2019 ont ainsi recensé plusieurs espèces de plantes aromatiques (*Anethum graveolens*, *Coriandrum sativum* et *Foeniculum vulgare*) affectant positivement le recrutement des ennemis naturels prédateurs. En revanche, les effets des plantes aromatiques et des COV sur les parasitoïdes sont contrastés et les conséquences sur le parasitisme des insectes ravageurs sont encore peu documentées (Hatt et al., 2019).

4. Cas d'étude en vergers de pommiers

4.1. La pomiculture

Le pommier (*Malus domestica*) est un arbre fruitier appartenant à la famille des Rosacées et originaire d'Asie centrale. Une origine probable de *M. domestica* est la diffusion de l'espèce *Malus sieversii* le long de la route de la soie, depuis la Chine vers l'Europe de l'Ouest. Des échanges génétiques entre *M. sieversii* et d'autres espèces du genre *Malus* ont progressivement contribué à la domestication du pommier cultivé (Cornille et al., 2014). Aujourd'hui, *M. domestica* compte plusieurs milliers de variétés, mais une dizaine seulement domine la production mondiale (Cornille et al., 2014). On peut globalement distinguer trois grands usages, selon les variétés de pommes. Les pommes de table (ou pommes dessert, ou à croquer), sont principalement destinées à être mangées crues. L'aspect visuel est très important, et les variétés sont sélectionnées pour leurs arômes, saveurs et textures. Les pommes à cuire sont principalement destinées à la transformation. Les pommes à cidre sont destinées à la production de cidre, de spiritueux, de jus de pommes et de vinaigre. Il s'agit souvent de variétés produisant de petites pommes, riches en tanins.

A l'échelle mondiale, les principales zones de production de pommes sont la Chine, l'Union Européenne et les Etats-Unis (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2023). En Europe, la production de pommes est conséquente, avec en moyenne 11,7 millions de tonnes par an, entre 2011 et 2021 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2023). La pomme est de fait le fruit le plus cultivé et exporté en Europe (Eurostat, 2017). Les principaux pays producteurs européens sont la Pologne, l'Italie et la France. La production française s'élève en moyenne à 1,7 millions de tonnes par an (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2023) et se trouve principalement en Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA), en Occitanie et en Nouvelle-Aquitaine (Agreste, 2022). En PACA, la production est répartie en deux zones de production, la Haute Durance (Alpes de Haute Provence et Hautes-Alpes) et la Basse Vallée de la Durance (Vaucluse et Bouches-du-Rhône). Cette dernière est présentée plus en détails dans le chapitre 1.

4.2. Principaux ravageurs du pommier : le carpocapse et le puceron cendré

Le pommier est attaqué par une multitude de bio-agresseurs qui se succèdent tout au long de l'année et occasionnent des dégâts d'ampleurs variables. Plusieurs types de micro-organismes affectent le pommier, tels que des maladies fongiques (e.g. la tavelure, l'oïdium), des virus ou des bactéries (e.g. le feu bactérien). Plusieurs groupes d'arthropodes colonisent les pommiers et endommagent différentes parties de la plante (Dib, 2010 ; Ephytia, 2023). Il peut s'agir d'acariens, de lépidoptères, de pucerons mais aussi de charançons, de cica-

delles, de thrips ou encore de cochenilles. Enfin, certains vertébrés peuvent endommager les vergers de pommiers. C'est notamment le cas des campagnols qui consomment les parties souterraines des végétaux, les fruits au sol et s'attaquent aux racines des jeunes vergers (Sullivan, Sullivan & Granatstein, 2018). Cette thèse se focalise sur deux ravageurs majeurs du pommier : le carpocapse des pommes (*Cydia pomonella* L.) et le puceron cendré (*Dysaphis plantaginea* Passerini).

⊙ Le carpocapse des pommes, *Cydia pomonella*

Il s'agit d'un petit papillon gris-cendré (Lepidoptera : Tortricidae) qui se déplace essentiellement au crépuscule (Fig.I.2). *C. pomonella* est originaire d'Asie centrale et a suivi la diffusion du pommier à travers le monde, s'adaptant ainsi à différentes conditions climatiques (Shel'Deshova, 1967). Il se développe principalement sur les pommiers, mais peut aussi attaquer d'autres cultures pérennes, telles que les poiriers, les pêchers, les abricotiers et les noyers (USDA-ARS, USA et al., 2019).



FIGURE I.2 – Photographies du carpocapse (*Cydia pomonella*) au stade adulte et larvaire et de dégâts sur fruits. Source : Ephytia, 2023

Les carpocapses adultes vivent une dizaine de jours. Les femelles pondent une cinquantaine d'œufs isolés sur les feuilles, les rameaux proches des fruits ou directement sur les fruits. A la sortie de l'œuf, les jeunes larves se dirigent vers les pommes pour s'y installer. C'est le stade « baladeur ». Une fois la pomme atteinte, la larve y creuse un tunnel en direction des pépins, se nourrit de la chair du fruit, et laisse ses excréments en surface. Une seule larve se développe par pomme. Le développement larvaire dure entre 20 et 30 jours et comporte 5 stades successifs. Lors du dernier stade, la larve sort du fruit et descend le long du tronc, à la recherche d'un abri dans les anfractuosités de l'arbre ou bien dans le sol, pour former son cocon (Audemard, 1991, Fig. I.4). Selon les conditions climatiques et la période de l'année, la larve peut effectuer sa métamorphose immédiatement et donner naissance à une nouvelle génération, ou bien entrer en diapause pour passer l'hiver.

La nymphose a alors lieu au printemps suivant. Dans le sud-est de la France, on observe généralement 2 à 3 générations au cours d'une année. Les changements climatiques en cours pourraient amener le carpocapse à effectuer 4 générations par an (Perrin, 2022).

Les adultes du carpocapse n'ont aucun impact sur les cultures. Ce sont les larves qui engendrent les dégâts, parfois colossaux. Dans les vergers de pommiers non traités, les dégâts peuvent atteindre plus de 80% de la production (Yahia, Neven & Jones, 2019). Si les fruits sont attaqués en début de croissance, ils chutent souvent prématurément (Audemard, 1991). Et même lorsque les pommes ne tombent pas, elles ne sont plus commercialisables. Une valorisation est dans certains cas possible, par exemple sous forme de jus, mais cela entraîne tout de même une perte de revenus importante pour les producteurs. Le seuil d'acceptabilité de présence du carpocapse est donc très faible.

⊙ Le puceron cendré, *Dysaphis plantaginea*

Il s'agit d'un puceron (Hemiptera : Aphidae) marron-gris, qui tend parfois vers le rose (Fig. I.3). *D. plantaginea* présente un cycle comprenant une alternance entre reproduction parthénogénétique et sexuée. Il évolue sur deux plantes hôtes différentes : son hôte principal est le pommier (*M. domestica*) et son hôte secondaire le plantain (*Plantago lanceolata* ; Blommers, Helsen et Vaal, 2004). Il s'agit donc d'une espèce holocyclique⁴ diœcique⁵ (Fig. I.3).

Les œufs sont pondus à la fin de l'automne sur la face inférieure des feuilles de pommiers. La phase de diapause dure tout l'hiver et les œufs éclosent au début du printemps, au moment du débourrement des pommiers (Brown & Mathews, 2007). Les premiers individus sont des femelles aptères, les fondatrices. Cinq à sept générations se succèdent, par parthénogenèse, généralement jusqu'à la fin du mois de juin (Blommers, Helsen & Vaal, 2004). Apparaissent alors des femelles ailées qui migrent sur le plantain. Comme sur le pommier, plusieurs générations de femelles aptères s'y succèdent. Aux environs de la mi-septembre, les individus sexués ailés apparaissent, annonçant le début de la période de reproduction. Les femelles ailées, les gynopares, sont les premières et migrent sur le pommier où elles donnent naissance aux véritables reproductrices, les ovipares (Brown & Mathews, 2007).

4. Une espèce *holocyclique* effectue un cycle biologique complet avec une reproduction sexuée et une reproduction asexuée. Par opposition, une espèce *anholocyclique* se multiplie toute l'année par parthénogenèse.

5. Une espèce *hétéroœcique* a plusieurs espèces de plantes hôtes au cours de son cycle de vie. Les espèces *diœciques* ont deux plantes hôtes. Par opposition, une espèce *monœcique* accomplit son cycle de vie sur une seule plante (ou des espèces très proches taxonomiquement).

Dans les semaines qui suivent, les males ailés apparaissent et migrent à leur tour du plantain vers le pommier pour s'accoupler avec les femelles ovipares désormais adultes (Blommers, Helsen & Vaal, 2004). Les œufs sont déposés sur les pommiers et un nouveau cycle débute (Fig. I.4).

Comme tous les pucerons, *D.plantaginea* présente un système buccal de type piqueur-suceur : il aspire la sève élaborée des feuilles à l'aide d'un stylet. Les pucerons provoquent ainsi l'enroulement des feuilles et leur épaissement, ce qui peut parfois conduire à la formation d'une gale (Blommers, Helsen & Vaal, 2004).



FIGURE I.3 – Photographies du puceron cendré (*Dysaphis plantaginea*) et de dégâts sur feuilles et fruits. Source : Ephytia, 2023

Ces symptômes sont liés à l'injection de salive toxique et irritante pour la feuille au moment où le puceron s'en nourrit (Deguette & Wateau, 2008). Quand les colonies sont importantes, les dépôts de miellat sur les feuilles deviennent problématiques car propices au développement de fumagine, un champignon limitant la photosynthèse (Deguette & Wateau, 2008). Lorsque l'infestation concerne les bourgeons floraux, elle peut conduire à une déformation des fruits. Les dégâts persistent donc même après le départ des pucerons (Turpeau, Hullé & Chaubet, 2010). Les dégâts peuvent toucher une proportion importante des fruits : jusqu'à 40% (Blommers, Helsen & Vaal, 2004) et voire 80% (Qubbaj, Reineke & Zebitz, 2005).

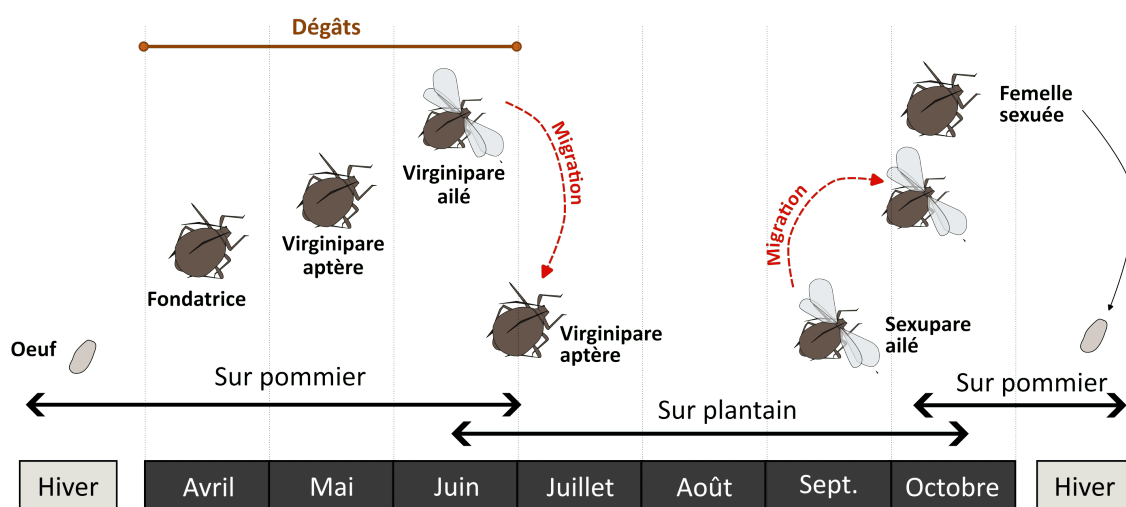
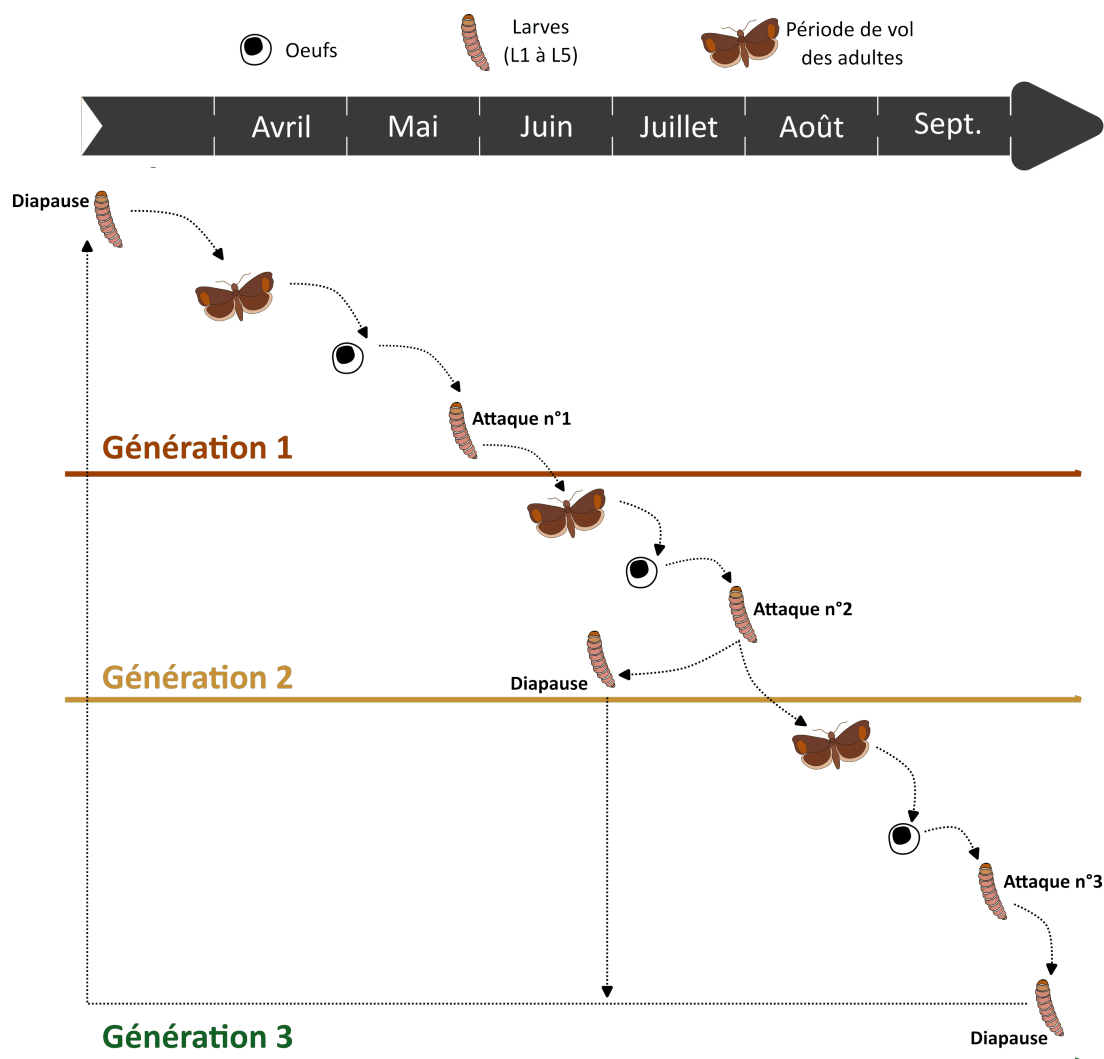


FIGURE I.4 – En haut : cycle de vie du carpocapse (*C. pomonella*). En bas : cycle de vie du puceron cendré (*D. plantaginea*) Sources : Ephytia, 2023 et Boivin et Brodeur, 2006

4.3. Une culture très traitée

A l'heure actuelle, la gestion des bio-agresseurs du pommier repose sur une utilisation importante de produits phytosanitaires. Les vergers de pommiers sont ainsi l'une des cultures les plus traitées en France (IFT moyen : 29,5, Agreste, 2021), avec des différences régionales et selon le contexte paysager (Etienne et al., 2023). Les fongicides représentent la majorité des traitements, et les insecticides concernent plus d'un quart des applications de produits phytosanitaires (Agreste, 2021). Ju et al., 2021 ont synthétisé les principaux types d'insecticides utilisés pour lutter contre le carpocapse à travers le monde. Les diamides sont les plus couramment utilisés, suivis par les hydrazines, les oxadiazines, les pyréthroïdes et les spinosynes. Le nombre de produits autorisés varie fortement d'un pays à l'autre (e.g. dix familles en France contre deux à trois en Allemagne ; Ju et al., 2021). Des résistances chez *C. pomonella* à de nombreux produits ont été recensées dans différentes régions du monde (Ju et al., 2021).

Concernant les pucerons, en France les produits autorisés s'articulent autour de trois principaux types de composés : le spirotétramate (kétométhrinol), le flonicamide et des pyréthrinolides (deltaméthrine et lambda-cyhalothrine)(Ephy, 2023). Des phénomènes de résistance au flonicamide ont été détectés chez *D. plantaginea* dans des vergers français (ANSES, 2021). A noter que certains de ces produits (pyréthrinolides, spinosynes) sont issus de substances naturelles et sont autorisés en agriculture biologique, sous certaines formulations commerciales (Ephy, 2023).

4.4. Les hyménoptères parasitoïdes et les syrphes aphidiphages

Différentes alternatives à l'utilisation d'insecticides sont actuellement testées et/ou mises en œuvre pour la gestion du carpocapse et des pucerons. Nous questionnons ici le contrôle biologique par conservation, et la régulation du puceron cendré et du carpocapse par deux groupes d'ennemis naturels : les syrphes aphidiphages et les hyménoptères parasitoïdes. D'autres stratégies existent et sont présentées dans l'encadré 2.

Certaines espèces de parasitoïdes se développent au dépend du carpocapse, d'autres du puceron cendré. Plusieurs espèces de syrphes se nourrissent de pucerons cendrés au stade larvaire. Au stade adulte, les syrphes et les parasitoïdes entretiennent une relation étroite aux fleurs et se nourrissent principalement de nectar et/ou de pollen. De plus, ils sont actifs relativement tôt dans la saison par rapport à d'autres groupes d'ennemis naturels, et sont ainsi susceptibles d'agir dès l'arrivée des ravageurs dans les vergers (Dib et al., 2010 ; Rodríguez-Gasol et al., 2019).

Encadré 2 - Méthodes alternatives pour gérer le puceron cendré et le carpocapse

Réduire la sensibilité des pommiers, pour prévenir l'utilisation de tout traitement. Cela peut par exemple passer par la sélection variétale (Alhmedi et al., 2022 ; Joshi et al., 2015) ou par la conduite du pommier. L'architecture du pommier affecte la densité de ravageurs en modifiant l'attractivité de la plante, le microclimat, l'accessibilité des ressources ou, de manière indirecte, en modifiant l'efficacité des traitements (Simon, Sauphanor & Lauri, 2007). La densité de pucerons cendrés est aussi positivement corrélée à la quantité d'azote foliaire (Brown & Mathews, 2007) ou au niveau d'irrigation (Rousselin et al., 2018).

Utiliser des produits de biocontrôle, tels que des micro-organismes ou des phéromones. *Le virus de la granulose (CpGV)* est ainsi largement utilisé pour lutter contre le carpocapse (Arthurs, Lacey & Miliczky, 2007). Néanmoins, des résistances à plusieurs souches du virus sont apparues et pourraient compromettre son efficacité (Jehle et al., 2017 ; Schmitt et al., 2013). Ensuite, *la confusion sexuelle* consiste à perturber l'accouplement des carpocapses adultes par la diffusion de phéromones interférant avec la recherche d'un partenaire (Benelli et al., 2017). La confusion sexuelle retarde aussi l'accouplement, ce qui réduit la fécondité des femelles (Mori & Evenden, 2013). Des diffuseurs d'une phéromone sexuelle, la codlémone, sont couramment utilisés. Des études ont également été menées pour identifier des phéromones impliquées dans la reproduction du puceron cendré (Stewart-Jones et al., 2007). La confusion sexuelle a cependant une portée limitée, car le puceron cendré alterne entre reproduction sexuée et asexuée.

Lutter mécaniquement, en installant des filets de protection Alt'Carpo. Ils forment une barrière physique gênant le déplacement et/ou la reproduction des carpocapses adultes, toutefois les mécanismes sous-jacents sont encore à déterminer (Marshall & Beers, 2023). Les filets peuvent ainsi diminuer la proportion de pommes piquées de 90% (Sauphanor et al., 2012). De plus, les effets sur les autres bio-agresseurs sont encore mal connus.

Créer un environnement moins propice aux ravageurs. Concernant le puceron cendré, cela peut par exemple passer par l'élimination du plantain (Brown & Mathews, 2007) ou la gestion des fourmis en utilisant de l'eau sucrée (Borbély & Nagy, 2022).

◎ Les parasitoïdes de *Cydia pomonella*

Plusieurs espèces de parasitoïdes attaquent *C. pomonella*, à différents stades de son développement (Mills, 2005 ; Pisićă, Diaconu & Andriescu, 2000). Certaines espèces sont des endoparasitoïdes larvaires. C'est notamment le cas d'*Ascogaster quadridentata* Wesmael (Braconidae), de *Pristomerus vulnerator* Panzer (Ichneumonidae), de *Trichomma enecator* Rossi (Ichneumonidae) et de *Bassus rufipes* Nees (Braconidae). D'autres espèces sont des ectoparasitoïdes larvaires, telles que *Mastrus ridens* (Ichneumonidae) ou *Hyssopus pallidus* Askew (Eulophidae). *M. ridens*, originaire d'Asie centrale, fait l'objet d'essais d'introduction en France (Muru et al., 2018). D'autres parasitoïdes sont des hyperparasitoïdes

facultatifs, pouvant se développer au dépend d'un parasitoïde primaire ou du carpocapse. C'est par exemple le cas de *Dibrachys cavus* Walker (Pteromalidae) ou de *Perilampus tristis* Mayr (Perilampidae). Enfin, d'autres espèces peuvent aussi attaquer les œufs ou les nymphes de carpocapse.

Parmi les parasitoïdes larvaires, les espèces les plus fréquentes en Europe sont *A. quadridentata*, *P. vulnerator* et *T. enecator*. Ainsi, *A. quadridentata* représentait entre 53 et 82% des émergences observées à partir de larves collectées dans des vergers de notre zone d'étude (Maalouly et al., 2013). Des observations similaires ont été faites en Espagne (Martínez-Sastre et al., 2021), où *A. quadridentata* représentait 66% des émergences, suivi par *P. vulnerator* et *T. enecator* (17 et 11%, respectivement).

De manière générale, l'utilisation de parasitoïdes pour contrôler le carpocapse donne des résultats encourageants lorsque l'utilisation de pesticides est minimisée (Lacey & Unruh, 2005). Cependant, les taux de parasitisme observés sont souvent trop faibles pour réduire significativement les populations de carpocapses (Cross et al., 1999). Plusieurs facteurs peuvent influencer le taux de parasitisme, comme le contexte paysager (Maalouly et al., 2013) ou la fourniture de ressources alimentaires adéquates pour les adultes. Ainsi, la survie et la capacité de parasitisme d'*A. quadridentata* sont plus élevées chez les femelles ayant consommé du nectar (Mátray & Herz, 2022). Toutefois, ces observations ont été réalisées en laboratoire, et l'effet des fleurs sur le parasitisme du carpocapse est peu documenté sur le terrain.

⊙ Les parasitoïdes de *Dysaphis plantaginea*

Rodríguez-Gasol et al., 2019 ont observé que les hyménoptères parasitoïdes étaient les principaux ennemis naturels recensés dans les colonies de *D. plantaginea*, notamment en début de saison. Les parasitoïdes impliqués dans la régulation de *D. plantaginea* sont des endoparasitoïdes, appartenant principalement à la sous-famille des Aphidiinae (Braconidae). Les parasitoïdes identifiés par Dib et al., 2010 en suivant l'émergence de momies de pucerons cendrés appartenaient principalement au genre *Ephedrus*. L'espèce *Ephedrus persicae* Frogatt était également dominante dans d'autres études européennes (Alhmedi, Belien & Bylemans, 2023; Bribosia et al., 2005; Peusens, Buntinx & Gobin, 2006). Le genre *Aphidius* est également impliqué dans la régulation du puceron cendré. Ainsi, plus de 90% des parasitoïdes identifiés par Rodríguez-Gasol et al., 2019 appartenaient au genre *Aphidius*, principalement *Aphidius matricariae* Haliday. Le reste était représenté par *E. persicae*. Cockfield et al., 2011 ont également observé le genre *Aphidius* parasitant *D. plantaginea*, mais uniquement sur plantain. D'autres espèces de parasitoïdes (*Lysiphlebus* spp., *Trioxys* spp.), plus minoritaires, ont également été recensées en France (Dib et al.,

2010). Des suivis d'émergence menés en Amérique du Nord montrent que *Praon unicum* ou *Diaretiella* spp. peuvent aussi être impliqués (Cockfield et al., 2011).

Les taux de parasitisme du puceron cendré sont parfois très faibles (Cockfield et al., 2011). Dans notre zone d'étude, Dib et al., 2010 ont mesuré des taux de parasitisme ne dépassant pas 7%. Différentes méthodes ont été testées pour essayer d'augmenter les populations de parasitoïdes d'intérêt et renforcer le parasitisme, telles que l'exploitation de phéromones de *D. plantaginea* (Dewhurst et al., 2008) ou des lâchers inondatifs d'*A. matricariae* et *Ephedrus cerasicola* (Ferrais et al., 2022). La présence de fleurs dans les vergers est également questionnée (Tougeron et al., 2023), mais les préférences des parasitoïdes de *D. plantaginea* vis-à-vis des fleurs sont encore peu connues.

⊙ Les syrphes aphidiphages

Les syrphes (Diptera : Syrphidae) comprennent plus de 6000 espèces, réparties en trois sous-familles : Eristalinae, Microdontinae et Syrphinae. Les Syrphinae comptent près d'un tiers des espèces et se nourrissent principalement de pucerons et d'autres insectes à corps mous au stade larvaire (Rodríguez-Gasol et al., 2020). En vergers de pommiers, Dib et al., 2010 ont observé une dizaine d'espèces présentes dans les colonies pucerons cendrés. Les espèces les plus abondantes étaient *Episyrphus balteatus* De Geer, *Syrphus vitripennis* Meigen, *Pipiza luteitarsis* Zetterstedt et *Eupeodes luniger* Meigen. A l'aide de piège malaise, Rossi et al., 2006 ont identifié les communautés de syrphes adultes présentes en vergers de pommiers. La majorité (95%) étaient des syrphes aphidiphages et la plupart des individus collectés appartenaient aux espèces *Sphaerophoria scripta* L. (73%) et *Eupeodes corollae* F. (14%).

Les larves des Syrphinae sont particulièrement efficaces pour réguler les populations de pucerons. Une seule larve consomme 20 à 80 pucerons par jour, le troisième stade larvaire étant le plus vorace (Tenhumberg, 1995). Certaines espèces consomment également des thrips, des psylles ou des aleurodes. Les larves de syrphes sont le plus souvent actives à l'aube et au crépuscule et inactives en journée (Rodríguez-Gasol et al., 2020). Contrairement à d'autres groupes de prédateurs, les syrphes peuvent localiser les colonies de pucerons tôt dans la saison et agir dès l'arrivée des fondatrices (Rodríguez-Gasol et al., 2019), ce qui les rend d'autant plus efficaces.

Au stade adulte, les syrphes s'alimentent principalement de pollen et de nectar, quelle que soit la sous-famille considérée. Les syrphes aphidiphages jouent ainsi un double rôle dans les parcelles agricoles : prédateurs au stade larvaire, pollinisateurs au stade adulte (Dunn et al., 2020). Aussi, de nombreuses études ont été menées pour évaluer l'effet des plantes

en fleurs sur les syrphes, en condition de laboratoire comme de terrain. Mais ces études considèrent parfois les syrphes comme un seul groupe (e.g Campbell et al., 2012; Hogg, 2011) ou se focalisent souvent sur un petit nombre d'espèces de syrphes. Ainsi, parmi les Syrphinae, *E. balteatus* apparaît comme l'espèce la plus étudiée (Laubertie, Wratten & Hemptinne, 2012; Pinheiro et al., 2013; van Rijn, Kooijman & Wäckers, 2013). Les relations entre les espèces végétales et espèces de syrphes aphidiphages doivent donc être mieux documentées (Dunn et al., 2020).

La biologie moléculaire, notamment le *metabarcoding*, pourrait permettre cela. Seulement, les études menées jusqu'à présent questionnent surtout le rôle de pollinisateurs des syrphes (Horiuchi et al., 2022; LucasB et al., 2018). Par exemple, LucasB et al., 2018 ont reconstitué les réseaux d'interactions entre la flore et plusieurs espèces de syrphes (appartenant à cinq genres différents) grâce aux traces d'ADN de pollen retrouvées sur leurs corps. Dans cette étude, les espèces de syrphes étudiées appartenaient à la sous-famille des Eristalinae, dont les larves ne participent pas à la régulation des pucerons.

4.5. Gestion de la flore du rang et de l'inter-rang des vergers

En vergers, contrairement aux cultures annuelles, la majorité de l'espace au sol est occupée par de la végétation semée ou spontanée qui n'est pas destinée à la récolte. Le mode de gestion diffère entre la végétation du rang et de l'inter-rang. Les herbicides représentent une faible part de l'IFT en vergers de pommiers (Agreste, 2021) et sont surtout utilisés pour désherber les rangs, dans les vergers conduits en agriculture conventionnelle. En agriculture biologique, la végétation du rang est le plus souvent gérée mécaniquement, avec ou sans travail du sol (Hardy, 2019). L'utilisation de plantes couvre-sol peut également permettre de gérer l'enherbement du rang, mais reste peu répandue (Jacquot & Galiano, 2023). L'inter-rang est généralement enherbé, par une flore semée ou spontanée. L'intensité et la fréquence des fauches modulent la hauteur de la végétation de l'inter-rang et la présence ou non de fleurs (Herz et al., 2019). La structure de la végétation et la richesse spécifique des espèces qui la composent peuvent affecter l'abondance et la diversité des ennemis naturels (e.g. R. R. García & Minarro, 2014; Marliac et al., 2015; Saunders & Luck, 2018). Toutefois, les effets en cascade sur la régulation des insectes ravageurs du pommier sont encore mal connus (Herz et al., 2019).

5. Questions de recherche et hypothèses

L'objectif de cette thèse est de mieux comprendre l'implication des espèces végétales fournissant des fleurs dans le service de contrôle biologique des insectes ravageurs en verger de pommiers. Elle vise à caractériser les relations que les syrphes aphidiphages et les hyménoptères parasitoïdes entretiennent avec la flore des vergers, et les effets de cascade sur les insectes ravageurs et les dégâts associés. L'accent est mis sur le rôle des espèces végétales spontanées et communément présentes en vergers et, dans une moindre mesure, sur celui des plantes aromatiques. Plus précisément, nous avons cherché à répondre à deux questions : Est-ce que les espèces végétales présentes dans les vergers de pommiers attirent des espèces de syrphes et d'hyménoptères parasitoïdes effectivement impliquées dans la régulation des insectes ravageurs ? Les espèces végétales présentes en vergers de pommiers conduisent-elles, en cascade, à une réduction de la densité d'insectes ravageurs et des dégâts associés ?

Nous émettons les hypothèses suivantes :

- **La flore spontanée contribue à la régulation des insectes ravageurs, *via* l'attraction des ennemis naturels.** Les vergers présentant une abondance et une diversité élevée de fleurs, fournies par la flore spontanée, abritent un plus grand nombre de syrphes aphidiphages et d'hyménoptères parasitoïdes qui, en cascade, réduisent la densité de puceron cendré et de carpocapse dans les pommiers. La proportion de fruits présentant des dégâts s'en trouve aussi réduite (Chapitre 2).
- **L'installation d'espèces végétales en pied d'arbre améliore le parasitisme des insectes ravageurs du pommier.** Nous avons questionné deux types de traits pouvant influencer le recrutement des parasitoïdes : la quantité de sucres fournie par le nectar (Chapitre 3) et l'émission d'odeurs (Chapitre 4).
 - Nous émettons l'hypothèse que les espèces végétales offrant la plus grande quantité de sucres favorisent la présence d'hyménoptères parasitoïdes. Dans le chapitre 3, trois espèces végétales communément observées en vergers et offrant des quantités de sucres contrastées sont testées (*Vicia sativa* L., *Veronica persica* Poir. et *Capsella bursa-pastoris* L.), pour évaluer leur effet sur le parasitisme du puceron cendré.
 - Les plantes aromatiques sont surtout étudiées pour leurs effets répulsifs sur les insectes ravageurs. Nous émettons l'hypothèse qu'elles peuvent aussi avoir un effet positif sur le recrutement des parasitoïdes. Dans le chapitre 4, nous testons l'effet de deux plantes aromatiques (*Ocimum basilicum* L. et *Tagetes patula* L.)

sur le parasitisme du carpocapse.

- **Certaines espèces végétales, communément présentes en vergers, sont préférentiellement visitées par les syrphes impliqués dans la régulation des pucerons du pommier.** Cette partie repose sur l'exploration des relations entre les syrphes, la flore et les pucerons par metabarcoding (Chapitre 5).

Pour tester ces hypothèses, nous avons réalisé des relevés botaniques et entomologiques en vergers commerciaux et expérimentaux. Ces relevés ont été associés à des analyses de biologie moléculaire (*barcoding* et *metabarcoding*) pour étudier plus finement les relations entre la végétation et les ennemis naturels. Les méthodes et les dispositifs utilisés sont présentés dans le chapitre 1 (Fig. I.5).

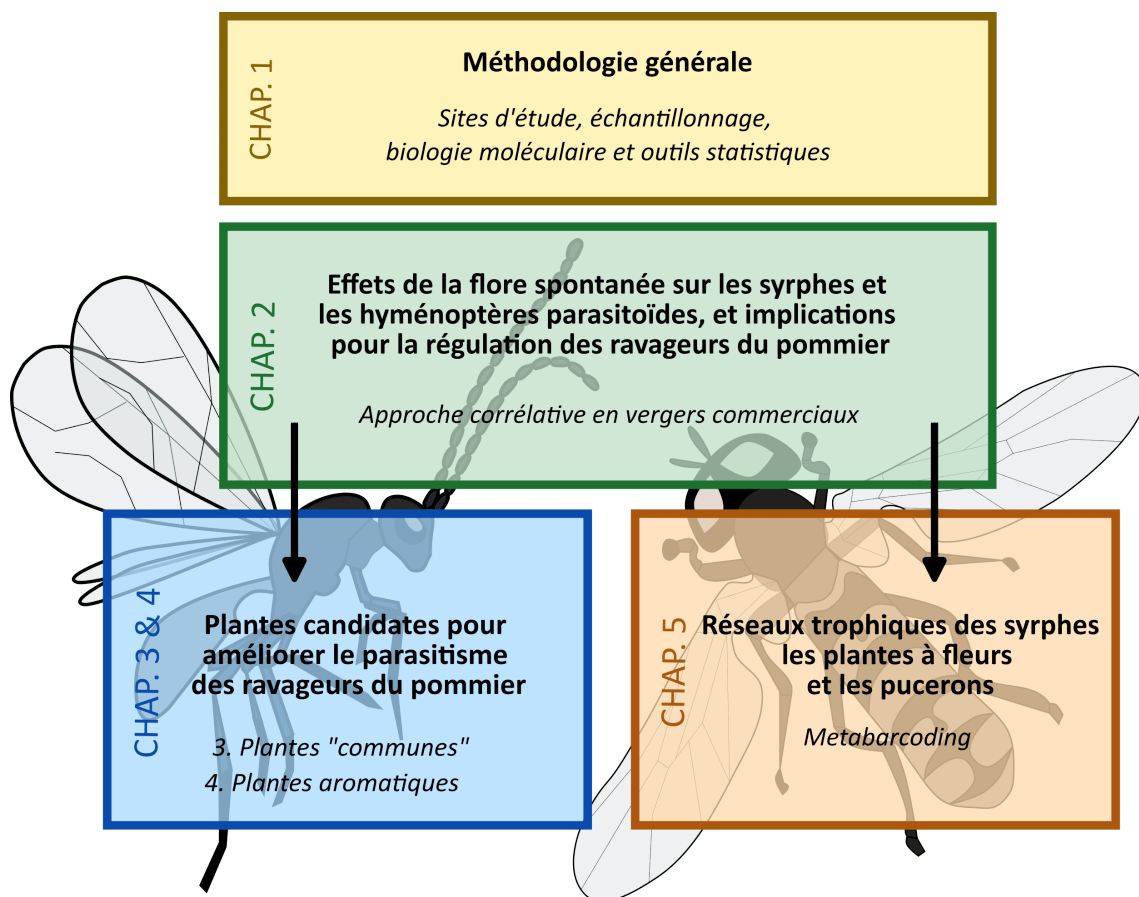


FIGURE I.5 – Organisation générale des chapitres.



1 Méthodologie générale

1. Les sites d'étude

1.1. Le site atelier « Basse Vallée de la Durance »

Le site atelier « Basse Vallée de la Durance » est situé dans la principale zone de production horticole de la région PACA, entre les Alpilles et la Durance, sur les départements du Vaucluse et des Bouches-du-Rhône. L'activité agricole y est dominante, avec principalement des vergers de pommiers et de poiriers et, dans une moindre mesure, des vergers d'abricotiers, de pêchers, de cerisiers et de pruniers (Fig 1.1). On trouve également des vignes et des cultures annuelles (maraîchage, céréales), en plus faible proportion. Les vergers de pommiers conduits en agriculture conventionnelle sont principalement traités avec des fongicides minéraux et chimiques, des insecticides chimiques (e.g. chlorantraniliprole ou emamectine) et des herbicides (Bouvier et al., 2022). Dans les vergers conduits en agriculture biologique, les traitements comprennent des fongicides minéraux, des insecticides approuvés en agriculture biologique (e.g. le Spinosad), des huiles végétales (e.g. huile de Neem), la confusion sexuelle et des produits de biocontrôle tels que le granulovirus (Bouvier et al., 2022 ; Etienne, 2022). L'utilisation de filets de protection (e.g. contre la grêle ou les ravageurs) est également de plus en plus développée, et concerne près de 40% de la surface en vergers de pommiers et poiriers dans la zone d'étude. L'utilisation des filets Alt'Carpo mono-rangs concernent environ 17% des vergers. Ils sont principalement utilisés en agriculture biologique.

Depuis 2006, l'unité PSH mène différents projets dans les vergers de pommiers du site atelier. Les suivis portent sur l'occupation du sol, les pratiques agricoles et la biodiversité (flore, ravageurs, insectes auxiliaires, oiseaux, chauve-souris) et concernent vingt à quatre-vingts vergers par an. En 2021, dans le cadre de cette thèse, nous avons sélectionné dix-huit vergers équitablement répartis entre agriculture biologique et conventionnelle, pour y mener les échantillonnages et observations présentés dans le chapitre 2 (Figure 1.2). En 2022, nous avons collecté les syrphes utilisés pour les analyses du chapitre 5 dans deux vergers du site atelier, choisis selon l'abondance de syrphes et de pucerons observées en 2021. Une description des vergers étudiés est disponible en Annexe (Table A.1).

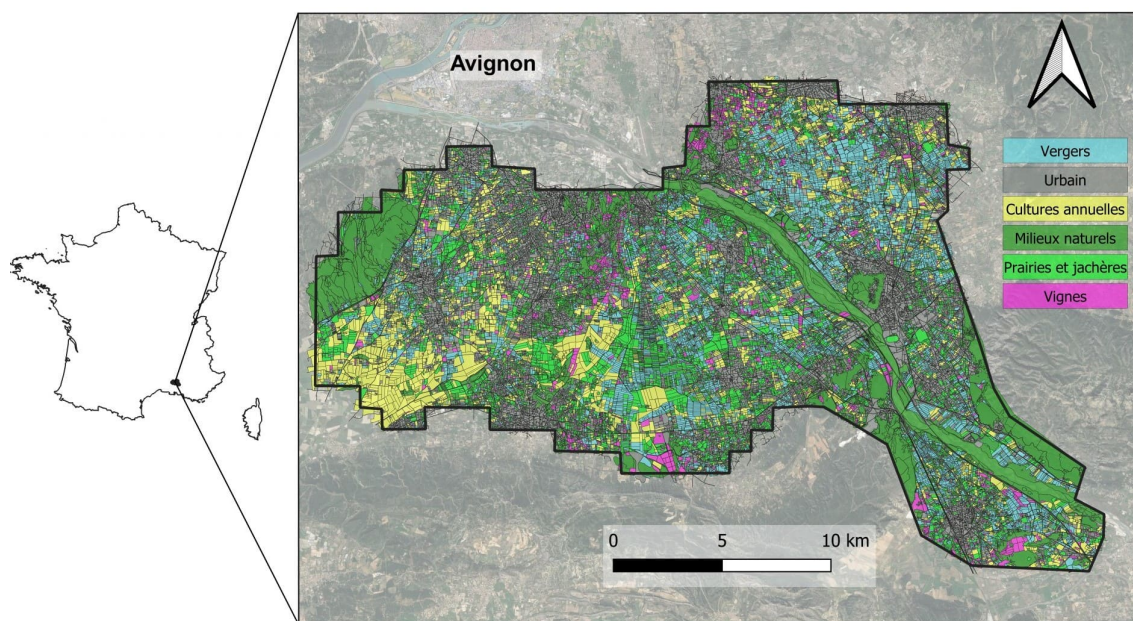


FIGURE 1.1 – Cartographie du site atelier « Basse Vallée de la Durance » en 2022. <https://site-atelier-basse-vallee-durance.fr/>



FIGURE 1.2 – Vergers du site atelier « Basse Vallée de la Durance » au printemps 2021.

1.2. Les vergers expérimentaux

Deux des chapitres de la thèse s'appuient sur des expérimentations réalisées en vergers expérimentaux, sur le domaine St Paul du centre INRAE PACA (chapitres 3 et 4). Le premier verger (0.2 ha) se compose de 6 rangs de pommiers de la variété Ariane, plantés en 2004. Le second verger (0.3 ha) comporte 5 rangs de la variété Gala et 5 rangs de la variété Granny, plantés en 2010. Ces deux vergers sont bordés par une haie au Nord et se trouvent dans un paysage périurbain, à proximité d'autres vergers expérimentaux, notamment de pêchers. L'expérimentation présentée dans le chapitre 3 a été menée en 2022 dans les deux vergers (Ariane et Gala-Granny). Les données présentées dans le chapitre 4 proviennent d'une expérimentation menée en 2019, uniquement dans le verger Ariane, dans le cadre du projet Api-tree.

Pour ces deux expérimentations, un dispositif en blocs aléatoires a été utilisé. Chaque bloc comprenait plusieurs placettes composées de deux pommiers encadrés par une espèce végétale installée en pied d'arbre et une placette témoin, dans laquelle les pommiers étaient encadrés par du sol nu ou du ray-grass.

2. Acquisition de données

Cette thèse vise à étudier l'implication de la flore des vergers dans le service de contrôle biologique. Différents relevés de terrain ont donc été réalisés pour évaluer l'abondance et la diversité des fleurs, l'abondance d'ennemis naturels, la densité de ravageurs et les dégâts qui leurs sont associés. Les méthodes mobilisées sont présentées ci-dessous.

2.1. Relevés floristiques et constitution de bases de références

Nous avons d'abord cherché à caractériser la flore spontanée des vergers de pommiers de notre aire de production. Pour cela, nous avons évalué l'abondance et la diversité des espèces végétales présentes sur le rang et l'inter-rang des vergers, en mesurant le recouvrement et l'intensité de floraison de chaque espèce recensée dans des transects situés en bordure et au centre des dix-huit vergers commerciaux étudiés. Ces données ont d'abord été utilisées dans le chapitre 2, pour évaluer les effets de l'abondance et de la diversité de la flore spontanée sur les syrphes aphidiphages et les hyménoptères parasitoïdes et les effets de cascade sur la régulation du puceron cendré et du carpocapse.

Ces relevés floristiques ont permis d'établir une liste d'espèces végétales communément observées dans les vergers de pommiers du site atelier BVD, utilisée dans les chapitres suivants (1.3). Pour chaque espèce végétale identifiée, différents traits floraux ont été recensés (Table A.2). La période de floraison (mois de début et de fin) est issue de la

base de données BaseFlor (Julve, 2022). Cette base concerne la flore française et a donc été privilégiée. Les informations relatives au mode de pollinisation, à la couleur et à la morphologie florale ont été extraites de la base de données BiolFlor (Klotz, Kühn & Durka, 2002). Enfin, les travaux de Baude et al., 2016 ont permis d’attribuer une quantité de sucres produite (en µg/fleur/jour). Ces différents traits ont été utilisés pour sélectionner les trois espèces implantées et testées en vergers expérimentaux : *Veronica persica*, *Vicia sativa* et *Capsella bursa-pastoris* (chapitre 3). Ces espèces fleurissent suffisamment tôt dans l’année par rapport à la période d’activité du puceron cendré et fournissent un nectar accessible aux hyménoptères parasitoïdes mais contenant des quantités de sucres contrastées.

Cette liste d’espèces végétales a également permis la construction de deux bases de données de référence, associant à chaque espèce une ou plusieurs séquences pour les marqueurs moléculaires utilisés dans le chapitre 5. Elle a été enrichie par des espèces végétales recensées au cours de précédents projets dans les haies des vergers du site atelier BVD.

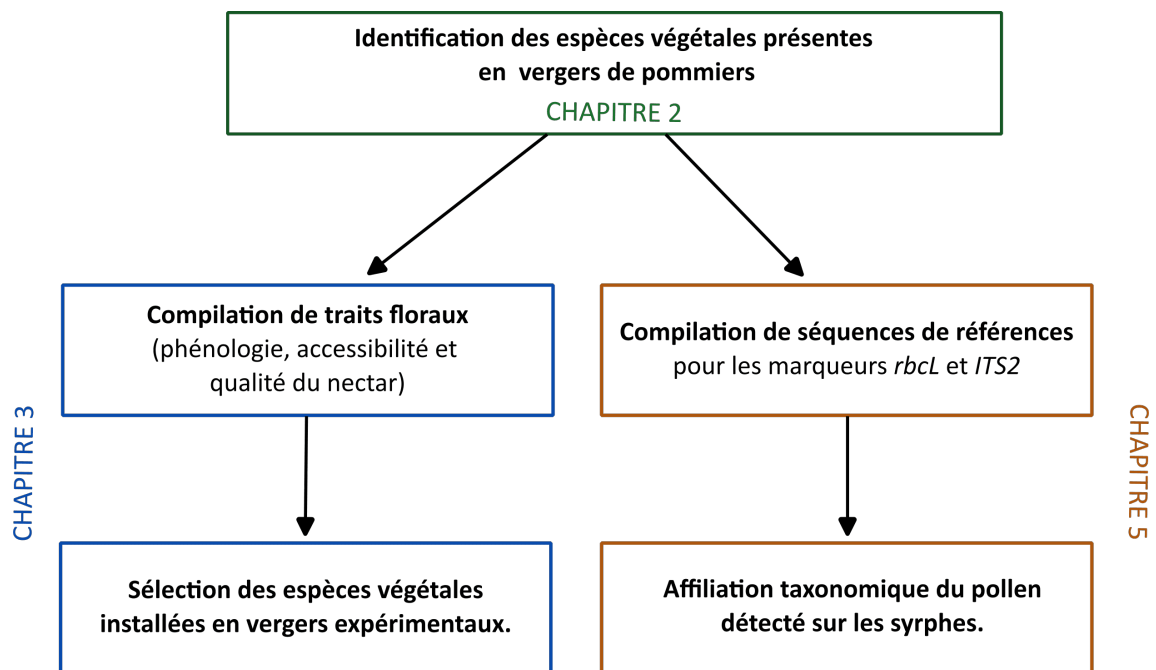


FIGURE 1.3 – Relations entre les différents chapitres de la thèse pour l’acquisition des données caractérisant la flore des vergers de pommiers.

2.2. Relevés entomologiques

2.2.1. Observations et collecte des insectes auxiliaires et/ou floricoles

Tout au long de cette thèse, l’objectif principal était d’étudier les communautés de syrphes et d’hyménoptères parasitoïdes en vergers de pommiers, leurs interactions avec la flore des vergers et leur implication dans la régulation des ravageurs du pommier.

Le suivi des syrphes et des parasitoïdes visitant la végétation repose sur des observations en temps limité (chapitres 2 et 3) et sur des fauchages au filet (chapitres 2, 3 et 5). Les fauchages au filet ont notamment permis de mesurer plus précisément l'abondance des hyménoptères parasitoïdes, qui peuvent être difficiles à repérer visuellement (chapitres 2 et 3). Dans le chapitre 2, les syrphes ont été identifiés au niveau de la famille (Syrphidae) et les parasitoïdes au niveau de l'(infra)ordre (Hymenoptera : Parasitica). Leur identification est plus précise dans les chapitres suivants, en s'appuyant notamment sur la biologie moléculaire (chapitres 3 et 5).

En plus des syrphes et des parasitoïdes, nous avons également évalué l'abondance d'autres insectes visitant les fleurs (chapitre 2 et 3) et de différents groupes d'arthropodes prédateurs présents dans les pommiers (3 et 4), qui sont susceptibles d'interagir (de manière directe ou indirecte) avec les syrphes et les parasitoïdes. Ces arthropodes ont été recensés visuellement et le plus souvent identifiés au niveau de la famille ou par morpho-groupe.

2.2.2. Suivis du puceron cendré et du carpocapse

L'infestation par le puceron cendré a été évaluée en comptant le nombre de colonies par arbre (chapitre 2) ou en estimant le nombre de pucerons par arbre (chapitre 3). La densité de carpocapse a été mesurée en collectant les larves à l'aide de bande-pièges (chapitres 2 et 4). Enfin, pour évaluer les dégâts occasionnés par le puceron cendré et le carpocapse, nous avons mesuré la proportion de pommes piquées et la proportion de pommes déformées (chapitres 2, 3 et 4).

3. Barcoding et metabarcoding

3.1. Principe général et application dans les agroécosystèmes

Le *barcoding* moléculaire repose sur l'utilisation de marqueurs génétiques discriminants pour identifier et caractériser la biodiversité (Hebert et al., 2003). Le *barcoding* permet une identification d'espèces animales et végétales, à différents stades de développement et à partir de fragments ou de matériel dégradé (e.g. contenu stomacal, fèces). Le *metabarcoding* est une extension du *barcoding*, permettant d'identifier simultanément plusieurs espèces présentes dans un même échantillon (e.g. eau, sol, contenu stomacal). Le *metabarcoding* est rendu possible par le séquençage de nouvelle génération (*Next-Generation Sequencing*, NGS). Dans les deux cas, le principe est d'amplifier et de séquencer un ou plusieurs gènes communs à toutes les espèces et permettant de les discriminer, c'est-à-dire présentant une variabilité intraspécifique inférieure à la variabilité interspécifique. Un petit nombre de gènes sont utilisés comme marqueurs conventionnels. Pour les arthropodes, le marqueur le plus courant est le gène mitochondrial *CO1* (Cytochrome oxydase de type 1).

Ce gène est présent en de nombreuses copies, ce qui facilite le séquençage (Hebert et al., 2003). Pour les plantes, il n'existe pas de marqueur unique. C'est généralement une combinaison de marqueurs qui est utilisée, les plus fréquents étant : *rbcL*, *matK*, *ITS2* et *trnH-psbA*¹(Li et al., 2015 ; Lowe, Jones, Witter et al., 2022).

Le *barcoding* a permis des avancées certaines en taxonomie, en facilitant la clarification et la discrimination des complexes d'espèces cryptiques (S. Miller et al., 2016). Le *barcoding* et le *metabarcoding* permettent aussi de reconstituer des réseaux d'interactions complexes (Evans & Kitson, 2020), d'améliorer la lutte contre les espèces invasives (Piper et al., 2019) ou encore d'identifier des pathogènes et leurs vecteurs (Morand, 2018). L'utilisation du (*meta*)*barcoding* peut se révéler particulièrement utile pour décrire l'agrobiodiversité, explorer les réseaux d'interactions au sein des agroécosystèmes et évaluer les implications pour la fourniture de services écosystémiques. Le *metabarcoding* est notamment utilisé pour étudier les interactions entre les plantes et les insectes pollinisateurs ou floricoles. Cette méthode a, par exemple, permis de mettre en évidence les fluctuations spatio-temporelles dans l'utilisation des plantes par les pollinisateurs (Lowe, Jones, Witter et al., 2022) ou d'étudier les relations entre les plantes consommées et la santé des pollinisateurs (Donkersley et al., 2017). Les interactions entre les plantes et les Apoïdes ont été bien documentées (Bänsch et al., 2020 ; De Vere et al., 2017 ; Elliott et al., 2021 ; Park & Nieh, 2017, e.g). En revanche, peu d'études ont étudié les interactions entre les fleurs et les hyménoptères parasitoïdes ou entre les fleurs et les syrphes aphidiphages en s'appuyant sur du (*meta*)*barcoding*. Ces deux groupes d'insectes floricoles sont parfois inclus dans des réseaux d'interactions plus larges (Galliot et al., 2017 ; Thomsen & Sigsgaard, 2019, e.g), sans être toujours précisément identifiés.

Le (*meta*)*barcoding* peut aussi être employé pour reconstituer les réseaux trophiques entre proies et prédateurs ou entre hôtes et parasitoïdes (González-Chang et al., 2016). Unruh et al., 2016 ont ainsi identifié des traces d'ADN de carpocapse dans le contenu stomacal d'araignées, de carabes et de forficules en utilisant des amorces spécialement conçues. Le (*meta*)*barcoding* peut également être utilisé pour identifier les parasitoïdes émergeant à partir de leur hôte, pour identifier les traces d'ADN de parasitoïdes collectées sur des insectes ravageurs ou pour identifier des traces d'ADN de l'hôte à partir de parasitoïdes adultes capturés directement sur le terrain (K. Miller, Polaszek & Evans, 2021 ; Rougerie et al., 2011).

1. *rbcL* est un gène chloroplastique codant pour la sous-unité « L » de la RuBisCo, *matK* (pour maturaseK) est un gène plastidial, *ITS2* (pour Internal Transcribed Spacer) est une région non codante de l'ADN ribosomique et *trnH-psbA* est un espaceur intergénique.

Dans cette thèse, nous avons utilisé le *barcoding* pour étudier les communautés de parasitoïdes visitant les espèces végétales installées en vergers expérimentaux (chapitre 3) et le *metabarcoding* a permis d'étudier les relations que les syrphes entretiennent avec les plantes et les pucerons (chapitre 5).

3.2. En pratique

La mise en œuvre du *barcoding* et du *metabarcoding* comprend plusieurs étapes (Lebas et al., 2022 ; Mercier, 2015), présentées succinctement dans la Table 1.1. Certaines sont communes aux deux types d'analyse, d'autres sont plus spécifiques au *metabarcoding*.

TABLE 1.1 – Principales méthodes pour la mise en oeuvre du *barcoding* et du *metabarcoding*.

1. Le design de l'étude et l'échantillonnage	
Il s'agit de définir le ou les objectifs de l'étude et les méthodes utilisées pour l'échantillonnage. Le ou les gènes marqueur(s) utilisé(s) doivent aussi être définis	
<i>Barcoding</i> : identification d'individus isolés, un à un, et souvent entiers.	<i>Metabarcoding</i> : les échantillons contiennent de l'ADN provenant de multiples organismes, que l'on cherche à discriminer et identifier. Il s'agit souvent d'ADN dégradé, l'obtention de longues séquences (>150 pb) est donc complexe. Les amorces utilisées doivent cibler une courte partie du marqueur choisi, qui soit suffisamment discriminante entre taxons.
2. Extraction ADN	
<i>Barcoding</i> : l'extraction peut être destructrice ou non. L'identification précise d'un individu nécessite parfois des aller-retours entre les résultats issus du <i>barcoding</i> et l'identification morphologique. Une extraction non-destructrice (e.g au Chelex) peut donc faciliter l'identification. C'est l'approche utilisée dans le chapitre 3.	<i>Metabarcoding</i> : les échantillons sont déjà dégradés, il n'y a donc pas d'aller-retours possibles. Dans le chapitre 5, nous avons adapté le protocole pour extraire de l'ADN végétal et animal.
3. Amplification des régions ciblées	
Cette étape consiste à isoler et amplifier par PCR les régions génomiques d'intérêt (gènes marqueurs).	

<i>Barcoding</i> : les régions génomiques ciblées sont amplifiées par PCR.	Pour le <i>metabarcoding</i>, les amorces utilisées sont flanquées d'adaptateurs. Il s'agit de courtes séquences nucléotidiques spécifiques à la plateforme de séquençage, permettant aux fragments amplifiés de s'ancrer au séquenceur. Il est en plus possible de regrouper les échantillons en attribuant un identifiant unique, appelé <i>index</i> à chacun. Cette étape est appelée multiplexage. Ces index sont de courtes séquences, ajoutées à l'une ou aux deux extrémités des amorces PCR et séquencées en même temps que les marqueurs ciblés. Les séquences obtenues peuvent ensuite être reliées à l'échantillon correspondant par une étape de démultiplexage. L'amplification peut être réalisée en une ou deux étapes de PCR (Bohmann et al., 2022). Dans le chapitre 5, nous avons réalisé deux étapes de PCR. La première a permis l'amplification des régions génomiques d'intérêt et la fixation des adaptateurs, la seconde la fixation des tags utilisés pour le multiplexage.
4. Séquençage	
<i>Barcoding</i> : le séquençage peut être réalisé avec la technologie SANGER. Nous obtenons dans ce cas une séquence par échantillon.	<i>Metabarcoding</i> : l'objectif est d'analyser un complexe d'échantillons grâce à un séquençage haut débit (NGS pour <i>Next Generation Sequencing</i>).
5. Analyse des séquences obtenues	

<i>Barcoding</i> : une séquence unique est obtenue par échantillon. Après vérification de la qualité des séquences obtenues, l’affiliation taxonomique est réalisée par BLAST (<i>Basic Local Alignment Search Tool</i>). Le principe est de confronter chaque séquence à une base de données contenant des séquences de référence, et d’identifier les séquences homologues. On obtient alors un score d’alignement et une évaluation statistique de l’affiliation. Il est ainsi, en théorie, possible d’attribuer une identification taxonomique à chaque séquence, et donc à chaque échantillon.	<i>Metabarcoding</i> : le séquençage NGS fournit une très grande quantité de séquences (généralement plusieurs millions). Des processus automatisés sont nécessaires pour traiter ces données, constituer des clusters et réaliser les assignations taxonomiques. Différents outils bio-informatiques ont été développés en ce sens. Dans le chapitre 5, le logiciel FROGS a été utilisé (<i>Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution</i>, Escudié et al., 2018). Il s’appuie sur l’interface graphique des plateformes Galaxy et permet d’analyser de grands ensembles de séquences d’amplicons d’ADN.
--	--

4. Outils statistiques

4.1. Modèles mixtes

Pour étudier les relations entre les fleurs, les insectes auxiliaires et les insectes ravageurs, des modèles linéaires généralisés mixtes (LMM et GLMM) ont été utilisés (chapitres 2, 3 et 4). Ces modèles incluaient un effet aléatoire ‘site’ ou ‘bloc’ et un effet aléatoire ‘date’, pour prendre en compte l’autocorrélation spatiale et temporelle, dans le cas où des mesures répétées sont faites dans un même verger ou dans un même bloc. Nous avons à chaque fois inclus un nombre limité de variables explicatives, en vérifiant leur corrélation, en examinant notamment les facteurs d’inflation de la variance (chapitre 2).

4.2. Modèles à équations structurelles

Pour étudier les effets de cascade de la flore spontanée vers la régulation des insectes ravageurs, et déterminer si les effets observés sont médiés ou non par les ennemis naturels étudiés, des modèles à équations structurelles (SEM pour *Structural Equation Models*) ont été utilisés (chapitre 2). Les SEM réunissent plusieurs variables, réponses et prédictives, en un seul réseau causal. Ces réseaux sont souvent représentés par des diagrammes de chemins (*path diagrams*), dans lesquels les chemins représentent des relations causales (Lefcheck, 2021). On suppose une relation de causalité entre deux variables sur la base d’observations et/ou de connaissances préexistantes.

Les SEM permettent de tester ces relations de causalité, et sont donc bien adaptés pour tester des effets indirects ou « en cascade ».

L’approche classique des SEM est basée sur les matrices de variance-covariance (Lefcheck, 2021). L’objectif est d’aboutir à une matrice estimée qui se rapproche le plus possible de la matrice observée. Les équations résumant les chemins du diagramme sont résolues simultanément. Cette approche a cependant certaines limites : les observations doivent être indépendantes, les variables doivent suivre une distribution normale et le nombre d’observations doit être suffisamment important.

Ici, l’approche utilisée consiste à évaluer les relations associées à chaque variable séparément. On parle alors d’estimation locale ou de *piecewise SEM* (Lefcheck, 2016). Cette approche peut être appliquée à des données de comptage, des proportions ou encore des données binaires. Elle permet aussi d’intégrer des effets aléatoires. Ainsi, les mêmes hypothèses que pour des GLM(M) s’appliquent et peuvent être vérifiées de la même manière. Pour évaluer l’ajustement du modèle, le test de la séparation directe (*test of direct separation*) est utilisé (Shipley, 2000). Ce test évalue si les chemins non pris en compte dans le modèle de base sont manquants ou non, c’est-à-dire si le fait d’ajouter ces chemins change significativement le modèle ou non.

4.3. Analyses multivariées et réseaux d’interactions

Des analyses multivariées ont été employées pour comparer les communautés de parasitoïdes associées aux espèces végétales étudiées dans le chapitre 3 ou pour comparer les communautés végétales associées à différents taxons de syrphes dans le chapitre 5. Pour représenter ces relations, nous avons utilisé le positionnement multidimensionnel non-métrique (NMDS), permettant de représenter les similarités entre individus selon un petit nombre d’axes. Les individus les plus proches sont similaires, les plus éloignés sont dissimilaires. Les représentations NMDS ont été couplées à une analyse de similitude (ANOSIM pour *Analysis of similarities*), un test non paramétrique, basé sur des matrices de similarité permettant de comparer les rangs des similarités intra et inter-groupes. La significativité est ensuite évaluée par permutation aléatoire. Enfin, dans le chapitre 5, les relations entre syrphes-plantes ou syrphes-pucerons ont aussi été visualisées sous forme de réseaux bipartites, une représentation graphique d’une matrice à deux dimensions. Le réseau est composé de deux types de nœuds, et seuls les nœuds de différents types sont connectés (Dormann, 2011).



Effets de la flore spontanée sur les syrphes et les hyménoptères parasitoïdes et implications pour la régulation des ravageurs du pommier

Résumé

Les effets de la flore locale et spontanée sur le recrutement des ennemis naturels ont déjà été documenté, mais les effets de cascade sur la régulation des insectes ravageurs et la réduction des dégâts associés sont plus rarement étudiés. Ici, nous avons évalué l'implication de la flore spontanée dans la régulation des insectes ravageurs dans dix-huit vergers de pommiers méditerranéens. Nous nous sommes concentrés sur deux ravageurs principaux, *Cydia pomonella* et *Dysaphis plantaginea*, et sur deux groupes de leurs ennemis naturels étroitement liés aux ressources florales : les syrphes et les hyménoptères parasitoïdes. Des relevés floristiques et entomologiques ont été menés à trois reprises en 2021 (fin mars, mi-mai et mi-juin). Ces relevés nous ont permis de mesurer le recouvrement et la diversité des fleurs entomogames et anémogames, l'abondance d'insectes auxiliaires (syrphes, parasitoïdes, abeilles sauvages et domestiques), l'infestation par le puceron cendré (nombre de colonies) et par le carpocapse (nombre de larves diapausantes). Fin juin, nous avons également mesuré la proportion de pommes piquées et/ou déformées. Nous avons combiné des modèles mixtes linéaires généralisés (GLMM) et des modèles à équations structurelles (pSEM) pour tester les effets directs et indirects des plantes à fleurs spontanées sur les insectes auxiliaires (syrphes, parasitoïdes, abeilles sauvages et abeilles domestiques) et sur la régulation des ravageurs. Nous avons également testé les interactions existant entre abeilles domestiques et syrphes, parasitoïdes et abeilles sauvages.

Nos résultats montrent que le recouvrement en fleurs entomogames et anémogames a un effet positif et significatif sur les syrphes, les parasitoïdes et les abeilles, mais de faibles effets en cascade sur la densité de *D. plantaginea* ou de *C. pomonella* et sur les dégâts associés. Il n'y a pas de relation évidente entre les abeilles domestiques et les syrphes, les parasitoïdes ou les abeilles sauvages. La réduction de l'infestation de *D. plantaginea* était partiellement médiée par l'abondance de syrphes. De plus, nous avons observé des effets de la flore spontanée sur la régulation des insectes ravageurs ne dépendant pas de l'abondance des syrphes ou des parasitoïdes. La préservation de la flore spontanée constitue donc un levier pour favoriser les syrphes, les parasitoïdes et les abeilles en vergers de pommiers, mais les effets de cascade sur la régulation des ravageurs du pommier restent faibles.

Article accepté par *Agriculture, Ecosystems and Environment*.

Laffon, L., Bischoff, A., Blaya, R., Lescourret, F. & Franck, P. (2024). Spontaneous flowering vegetation favours hoverflies and parasitoid wasps in apple orchards but has low cascading effects on biological pest control. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 359, 108766. doi : 10.1016/j.agee.2023.108766

Spontaneous flowering vegetation favours hoverflies and parasitoid wasps in apple orchards but has low cascading effects on biological pest control

Ludivine Laffon¹, Armin Bischoff², Romane Blaya², Françoise Lescourret¹, Pierre Franck¹

¹PSH, National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment, INRAE, 84000 Avignon, France

²Mediterranean Institute of Biodiversity and Ecology, IMBE, Avignon University, CNRS, IRD, Aix-Marseille University, IUT, Agroparc, 84000 Avignon, France

Corresponding author : ludivine.laffon@inrae.fr

Abstract

Floral resources support several ecosystem services in agroecosystems, such as pollination or biological control. Many beneficial organisms feed on nectar or pollen for an important part of their life cycle. Providing adequate and sufficient floral resources through the conservation of spontaneous flowering vegetation may be a strategy to improve biological pest control. However, the role of spontaneous flowering plant species has mainly been evaluated on the recruitment of natural enemies. Cascading effects on pest regulation and damage reduction are rarely studied.

Here we evaluated the effect of spontaneous flowering vegetation on pest regulation in 18 Mediterranean apple orchards. We focused on two main apple pests, *Cydia pomonella* and *Dysaphis plantaginea*, and on two groups of their natural enemies depending on floral resources : hoverflies and parasitoid wasps. We combined generalised linear mixed models and piecewise structural equation models to test for direct and indirect effects of spontaneous flowering plant species on beneficial insects (hoverflies, parasitoid wasps, wild bees and honeybees) and on pest regulation. We also tested for potential negative interactions between honeybees and hoverflies, parasitoids wasps or wild bees.

There was a positive and significant effect of insect-pollinated flowers on hoverflies, parasitoid wasps and bees, but small cascading effects on *D. plantaginea* or *C. pomonella* density and associated damages. There was no evident relationship between honeybees and hoverflies, parasitoid wasps or wild bees. The reduction of *D. plantaginea* infestation was partially mediated by hoverfly abundance. Furthermore, we observed effects of spontaneous flowering vegetation on pest regulation and damage reduction independent of hoverfly and parasitoid wasp abundances. These results highlight the relevance of conserving floral resources to support biological control of apple pests. Further studies are needed to better understand interactions between spontaneous flowering vegetation and crop management practices to promote sustainable pest regulation strategies.

Key-words : resident vegetation, wildflowers, hoverflies, hymenopteran parasitoids, conservation biological control

1. Introduction

Arthropods are a key component of agroecosystem functioning. Many arthropod species provide important services to agriculture, such as crop pollination or biological pest control (Dainese et al., 2017; Requier et al., 2023). However, the current decline of arthropods (Seibold et al., 2019) may compromise such ecosystem services (Zhou et al., 2023). Several causes have been identified to explain arthropod decline and most are related to agricultural intensification (Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019; Wagner et al., 2020). Thus, there is a clear need for more sustainable farming systems that preserve ecosystem services. Conservation Biological Control (CBC) is an important approach to improve sustainability by providing habitats for natural enemies of pests (Shields et al., 2019).

Several taxa of natural enemies feed on floral resources such as nectar and pollen during an important part of their life cycle (Lu et al., 2014). Nectar availability is positively related to the longevity of adult parasitoid wasps (Hymenoptera) in general and specifically increases the fecundity of synovigenic parasitoids (Benelli et al., 2017; E. P. Russell, 1989). The effect of floral resources on predators depends on feeding strategies (He et al., 2021). Hoverflies (Diptera : Syrphidae) and lacewings (Neuroptera : Chrysopidae) are predators at the larval stage, whereas adults feed primarily on floral resources which strongly affect their longevity and fecundity (He et al., 2021). Other predators, such as adult ladybugs (Coleoptera : Coccinellidae), are omnivorous and feed on floral resources when access to other resources is limited (He & Sigsgaard, 2019; Wolf, Romeis & Collatz, 2018). To promote natural enemies, a common habitat management strategy is to establish flowering plant species within or around crop fields (Landis, Wratten & Gurr, 2000). Nectar is mainly provided by insect-pollinated plants (Roy et al., 2017). Therefore, insect-pollinated flowers are mainly sought to favour beneficial insects for pest biological control (Albrecht, Knecht et al., 2021; Kirmer, Rydgren & Tischew, 2018). Planting such flowering vegetation often improves pest regulation but the increase is highly variable across studies (Albrecht, Kleijn et al., 2021; Fountain, 2022).

Spontaneous vegetation meaning ruderal and weed vegetation that grow naturally in or around crop fields in field margins or inter-rows of permanent crops can also provide important resources to pest natural enemies. Spontaneous vegetation is usually less costly for farmers to manage, better adapted to local conditions and can be as effective as standard flowering seed mixtures to promote beneficial insects (Araj, Shields & Wratten, 2019; Blaix et al., 2018). Balfour et Ratnieks, 2022 showed that the abundance and diversity of beneficial insects were twice as high on spontaneously occurring weeds than on plant species of a recommended mixture to attract pollinators. Mei et al., 2021 also found that

the abundance of arthropod predators mainly relied on the cover and diversity of spontaneous flowering plant species in field margins and not on the establishment of flower strips. Yet, the effects of spontaneous flowering vegetation on biological control services are often evaluated based on the recruitment of natural enemies (e.g. Blaix & Moonen, 2022; Denis et al., 2021; R. R. García & Minarro, 2014). The effect of spontaneous flowering vegetation on pest abundance and damage reduction has not always been evaluated or results were inconsistent (Johnson et al., 2021). Cascading effects of floral resource availability on pest regulation and reducing crop damage need to be better understood.

Flowering plant species provide resources for different arthropod taxa, also including pests and pollinators that may compete for nectar or pollen (Boetzel et al., 2021). Several studies highlighted competition between honey bees and wild bees to access floral resources (Wojcik et al., 2018). Competition may also occur between pollinators and natural enemies (Campbell et al., 2012; Jeavons, van Baaren & Le Lann, 2020)/ or between natural enemies (Jeavons et al., 2022). However, these interactions remain poorly documented and their effects on biological control services are not well known (Jeavons et al., 2022).

Here, we used Mediterranean apple orchards as a model system to study effects of spontaneous vegetation on biological control. Apple is the most harvested and exported fruit in Europe (Eurostat, 2017) and apple orchards are the most treated crop in France (Butault et al., 2010). Numerous insect pests attack apple trees throughout the growing season. The codling moth (CM), *Cydia pomonella*, Linnaeus 1758 (Lepidoptera : Tortricidae) and the rosy apple aphid (RAA) *Dysaphis plantaginea*, Passerini 1860 (Hemiptera : Aphididae) are the major insect pests, causing high economic losses in apple production. We focused on parasitoid wasps and hoverflies, two groups which include many species that are CM and RAA natural enemies. Several parasitoid species feed on codling moth (CM) at different stages of its development, such as *Ascogaster quadridentata* Wesmael (Hymenoptera : Braconidae), *Pristomerus vulnerator* Panzer (Hymenoptera : Ichneumonidae) or *Trichomma enecator* Rossi (Hymenoptera : Ichneumonidae) (Mills, 2005). Other parasitoid species such as *Aphidius* spp. and *Ephedrus* spp. (Hymenoptera : Braconidae) attack the rosy apple aphid (RAA) (Dib et al., 2010; Rodríguez-Gasol et al., 2019). Most hoverflies found in crop fields including apple orchards are aphidophagous (Dib et al., 2010; Rossi et al., 2006; Wojciechowicz-Żytka & Wilk, 2023). Hoverflies and parasitoid wasps arrive early in the season and can therefore control early occurring pest insects (González et al., 2022; Rodríguez-Gasol et al., 2019).

In apple orchards, many studies analysed the effects of increased cover and/or diversity of flowering plant species on natural enemy abundance as indicator of biological control. Flowering plantings, such as flower strips or cover crops, have often a positive effect on

natural enemies (Herz et al., 2019). In comparison, the effects of spontaneous flowering vegetation are less documented (Herz et al., 2019). Among studies including vegetation effects on pest insects, most of them focused on a single apple pest, often an aphid species (e.g. Albert et al., 2017; Gontijo, Beers & Snyder, 2013; Rodríguez-Gasol et al., 2019; Santos et al., 2018). Few studies analysed the integrative effects of non-crop vegetation on the dynamics of different pest species, on fruit damage, and on interactions between natural enemies and pollinators in apple orchards (but see Cahenzli et al., 2019 and Martínez-Sastre et al., 2021).

The present study aimed to analyse the effects of spontaneous flowering vegetation on the recruitment of hoverflies, parasitoid wasps and bees and to evaluate cascading effects on CM and RAA infestation and damage. We hypothesised that the cover of resident flowering entomophilous species increases the abundance of these insect groups, whereas anemophilous species do not have a positive effect. We expected that an increase in hoverfly and parasitoid wasp abundances has a negative effect on pest density which in turn reduces the associated damages on apple fruits. We also tested for potential interactions between hoverflies, parasitoid wasps, wild bees and honeybees, which could negatively affect pest regulation. Finally, we combined mixed-effects models and structural equation models to assess complex relationships between spontaneous vegetation, the two natural enemy groups, apple pests and associated damages and to disentangle direct and indirect cascading effects.

2. Material and methods

2.1. Study sites

The study was conducted in the lower Durance valley (area about 200 km², central point : WGS84 : 43°8' N, 3°9' E). The study area was an agricultural plain dominated by orchards of which apple production represents 87% of the orchard area. Orchards are bordered by windbreak hedgerows (dominated by cypress or poplar) to protect apple trees against strong north wind often occurring in the study area. Botanical and entomological surveys were conducted in 18 apple orchards for commercial production (Fig. 2.1) : nine orchards were under organic management and the other nine were under integrated pest management (hereafter defined as conventional orchards). Organic and conventional orchards had similar average areas, and surrounding vegetation (Table A.1). The average number of treatments was also similar in organic and in conventional orchards (27.1 ± 4.08 and 23.3 ± 6.63 in 2021, respectively), with insecticides representing about one third of the treatments. One or two broad-spectrum insecticides included chlorantraniliprole, pyrethroid or emamectin in conventional orchards and spinosad or neem oil in organic orchards (see

Bouvier et al., 2022 for detail). Herbicides were applied under apple trees (intra-row) once a year in most conventional orchards. None of the orchards were covered with a protection net against the codling moth.

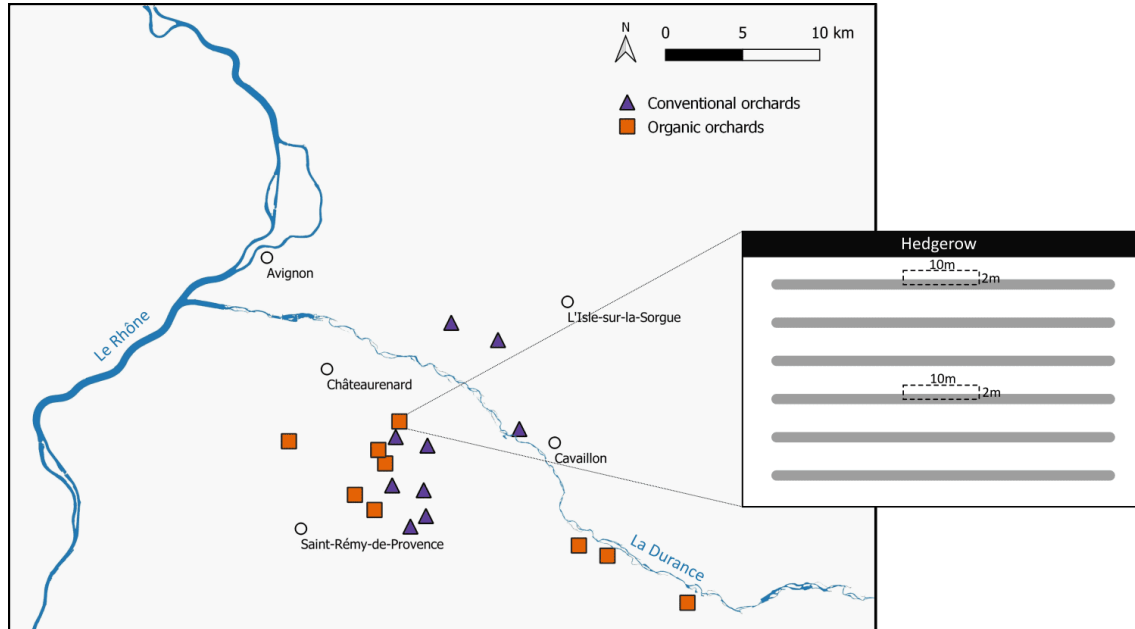


FIGURE 2.1 – Location of the 18 apple orchards in south-eastern France within the long-term study zone “Basse Vallée de la Durance”.

2.2. Botanical and entomological surveys

Surveys of spontaneous flowering vegetation and some beneficial insects (hoverflies, parasitoid wasps and bees) were carried out in three periods : late March, early May, and early June of 2021. These observation periods coincide with the hatching of RAA eggs laid in the previous autumn (late March to early April), with RAA infestation peak (early May), and with the egg laying of the first CM generation (May and June). In each orchard, two transects of 2 x 10 m along two different rows of apple trees were established (Fig. 2.1) : one transect was in the orchard centre and the other one close to a hedgerow, at the northern edge. The 2 m width was measured from the base of tree trunks and transects covered thus half of the row (below trees) and the inter-row (alley). The rows were usually tilled or treated with herbicides in the beginning of the season. The inter-rows were mown every four to ten weeks. Regrowth in rows resulted in low vegetation cover with a dominance of annual species whereas inter-row vegetation was usually dense and dominated by perennial species of disturbed grasslands. Within orchards, the distance between two transects was on average 20.6 ($\pm$ 10.4) m (Table A.1).

2.2.1. Flower cover and diversity

All flowering plant species were recorded, including grasses, in each transect and at each period. We additionally surveyed the cover of each non-flowering plant species at the June period. For each plant species, we estimated the cover as the vertical projection of above-ground plant organs and the percentage of flowering individuals. Flower cover was then calculated by multiplying total cover by the flowering percentage in each species. All recorded flowering plant species were divided into two main groups : wind-pollinated and insect-pollinated flowers (Table A.2). Insect-pollinated flowers provide nectar whereas wind-pollinated flowers are not nectariferous. We assigned pollination modes using the BiolFlor database (Klotz, Kühn & Durka, 2002). For both plant groups, we calculated total flower cover and Shannon specific diversity, using the relative flower cover of each species in a given transect.

2.2.2. Hoverflies, parasitoid wasps and bees

We counted hoverflies, parasitoid wasps, wild bees and honeybees on the same day as the botanical surveys using two complementary methods. First, two observers directly recorded all individuals of the four insect groups in each transect for 5 minutes, moving slowly along and taking care not to shade the transect. Insects were recorded when they landed on or hovered over the transect. Second, we used a hand net to collect parasitoid wasps from the vegetation (10 strokes per transect). Netting allowed us to more accurately measure the abundance of parasitoid wasps, which are more difficult to detect by direct observation than hoverflies and bees. Samples were kept in 70° ethanol in 8mL tubes and sorted at the laboratory to count all parasitoid wasps without further taxonomic investigation (Goulet, Huber & Canada, 1993). Observations and captures were carried out at days with low wind speed (<15km/h), between 10am and 4pm and temperatures higher than 15°C. Counts from visual observations and net samples collected at the same day were added to estimate the abundances of hoverflies, parasitoid wasps, wild bees and honeybees.

2.2.3. Insect pests and associated damage

We focused on two apple pest insects : the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* (RAA) and the codling moth, *Cydia pomonella* (CM). RAA infestation was measured by counting the number of infested and active shoots on five trees per row at the three botanical periods. In late June, RAA and CM damage were evaluated on 16 trees per row. We randomly selected 20 apples per tree and measured the proportion of apples with signs of CM damage (i.e. feeding holes, stings and frass) or RAA damage (i.e. distorted apples). Pest infestation

and damage were analysed at medium canopy height at 1.5 m to 2m. In late June, we placed wide corrugated cardboard bands and wrapped them around the trunk of 10 trees per row to capture mature CM larvae. The CM larvae are moving downwards along the trunk to search for pupation shelter or overwintering sites. Cardboard traps were removed in October and we counted all diapausing CM larvae.

2.3. Statistical analyses

All analyses were conducted using R version 4.2.0 (2022-04-22). All models included period and orchard as random factors to account for temporal and spatial autocorrelation.

2.3.1. *Linear mixed models*

Vegetation management and disturbance may differ between organic and non-organic orchards and according the location within the orchard. Therefore, we analysed the effects of orchard management (organic vs conventional) and of the transect location within the apple orchard (centre vs edge) on vegetation cover and diversity using linear mixed models (*lmer*, package : *lme4* version 1.1-31, Bates et al., 2015). We used five response variables : total vegetation cover, the cover of wind-pollinated flowers, the cover of insect-pollinated flowers, the Shannon index of wind-pollinated flowers and the Shannon index of insect-pollinated flowers. Transect location within orchards and orchard management were considered as fixed factors. Flower cover was square-root transformed for both plant groups to meet assumptions of normality and homoscedasticity. Models were tested using a type II analysis of variance.

2.3.2. *Generalized linear mixed models*

Generalized linear mixed models (GLMMs) were used (*glmer*, package : *lme4*) to assess (i) the effects of vegetation on the abundance of the four groups of beneficial insects and (ii) the effects of hoverflies and parasitoid wasps on pest infestation and damage. In the first set of GLMMs, response variables were the abundance of hoverflies, of parasitoid wasps and of wild bees or honeybees. Explanatory variables were the cover and the diversity of wind-pollinated and insect-pollinated flowers. In the second set of GLMMs, response variables were the number of RAA colonies, the proportion of apples with RAA damage, the proportion of apples with CM damage and the number of diapausing CM larvae. In aphid-related models, explanatory variables were parasitoid wasp abundance and hoverfly abundance (fixed effects). Hoverflies were not included in codling moth-related models. All GLMMs included location and orchard management as fixed factors. We tested for correlation between all variables (Table 2.S2) and checked for collinearity between expla-

natory variables using variance inflation factor (VIF) analyses. All VIFs were lower than 2 (Table 2.S1). All GLMMs were built with a Poisson distribution and log-link function. Model fit and over-dispersion were checked graphically (package : *DHARMA* version 0.4.6, Hartig, 2022). In the case of over-dispersion, an observation-level random factor was added (Harrison, 2014).

For each GLMM, we used the *dredge* function (package : *MuMIn* version 1.47.1, Bartoń, 2022) to obtain all possible subsets of the maximal model and calculated the Akaike weight (wi) of each model. Then, a model-averaging approach was applied (Grueber et al., 2011). The relative importance of each explanatory variable corresponds to the sum of the weights of all the models in which the variable was included. Explanatory variables were considered significant when their relative importance was greater than 0.6 and when 95% confidence intervals of the estimates did not include zero (Burnham, Anderson & Burnham, 2002). All explanatory variables were standardized allowing a comparison of size effects among averaged models.

2.3.3. Structural equation models

We used piecewise structural equation modelling (pSEM), to test for direct and indirect effects of spontaneous vegetation on beneficial insects (hoverflies, parasitoid wasps, wild bees and honeybees) and pest regulation using the *psem* (package : *piecewiseSEM* version 2.3.0, Lefcheck, 2016) and *glmer* functions. The pSEMs examine multivariate relationships between interrelated variables in a single causal pathway (Lefcheck, 2016). We constructed two separate pSEMs to avoid overparameterization using orchard and period as random factors to account for unexplained variation by the fixed factors. The first pSEM aimed to evaluate potential competition effects between honeybees and the three other insect groups. The second pSEM examined the cascading effects of spontaneous vegetation on CM and RAA regulation and assessed whether these effects were mediated by hoverflies and parasitoid wasps.

Both initial pSEMs were a priori based on known relationships between flower cover and diversity, hoverflies, parasitoid wasps and pest regulation, and on GLMMs preliminary results 2.S2. Flower cover and diversity of both plant groups were included as exogenous variables not depending on other variables (no paths leading to them). The first pSEM included the four groups of beneficial insects as endogenous variables, and tested for a possible negative effect of honeybees on three other beneficial groups (hoverflies, parasitoid wasps and wild bees). In the second pSEM, we did not include the two bee groups but we added four endogenous variables related to RAA and CM infestations or damages. We expected cascading effects, with nectariferous flowers affecting hoverflies and parasitoid

wasps and these natural enemies affecting RAA and CM densities. We hypothesised that the number of RAA colonies in spring would affect the fruit damage caused by RAA in June. Furthermore, we expected that fruit damage caused by the first CM generation measured in June explain the number of CM diapausing larvae collected in October. Significant missing paths in the initial pSEMs were detected by the d-separation test and added to the initial model (Lefcheck, 2016). The overall model fit was assessed using Fisher’s C statistic ($p > 0.05$). Finally, a jack-knife like approach was used to evaluate the robustness of the pSEMs. Eighteen sub-models were built, based on a set of 18 independent orchards by omitting one different orchard in each sub-model. We ran each sub-model separately and identified paths that remained significant in at least 15 out of the 18 sub-models (more than 80%).

3. Results

3.1. Flower cover and diversity

The total cover of spontaneous vegetation was 67.4 ($\pm$ SE : 3.4)% leaving 32.6% of bare soil. The vegetation cover was significantly higher in the centre than at the edge of the orchards (+23.4 %) (Table 2.1). Over the whole season, the cover of wind-pollinated flowers varied from 1.6% to 20.5% and was on average 9.2 ($\pm$ 1.2)% (Table 2.S5). It increased during the season and was 1.0 ($\pm$ 0.5)% in late March, 10.7 ($\pm$ 1.7)% in early May and 16.0 ($\pm$ 2.6)% in early June (Fig. 2.S3). The cover of insect-pollinated flowers per transect varied from 0.0% to 10.5% and was on average 4.6 ($\pm$ 0.6)% (Table 2.S5) . It remained constant throughout the season, with a cover of 5.30 ($\pm$ 1.03)% in late March, 3.5 ($\pm$ 0.7)% in early May and 5.1 ($\pm$ 1.1)% in early June.

TABLE 2.1 – **Results of the linear mixed models (LMM) analysing the effects of location and orchard management on cover and diversity of insect-pollinated flowers and wind-pollinated flowers.** χ^2 : test statistic, df : degrees of freedom. Positive estimates for "Location" correspond to an increase towards "Edge". Positive estimates for "Orchard management" correspond to an increase towards "Organic".

		Location					Orchard management				
		Estimate	SE	χ^2	df	p-value	Estimate	SE	χ^2	df	p-value
Insect-pollinated flower	Cover	-0.66	0.20	10.72	1	<0.001	0.23	0.34	0.46	1	0.50
	Diversity	-0.01	0.08	0.04	1	0.85	0.01	0.14	0.01	1	0.94
Wind-pollinated flower	Cover	-0.42	0.27	2.38	1	0.12	1.11	0.28	16.04	1	<0.001
	Diversity	0.03	0.06	0.19	1	0.67	0.23	0.08	7.89	1	<0.001
Total cover		-0.97	0.37	6.92	1	0.008	0.76	0.50	2.26	1	0.13

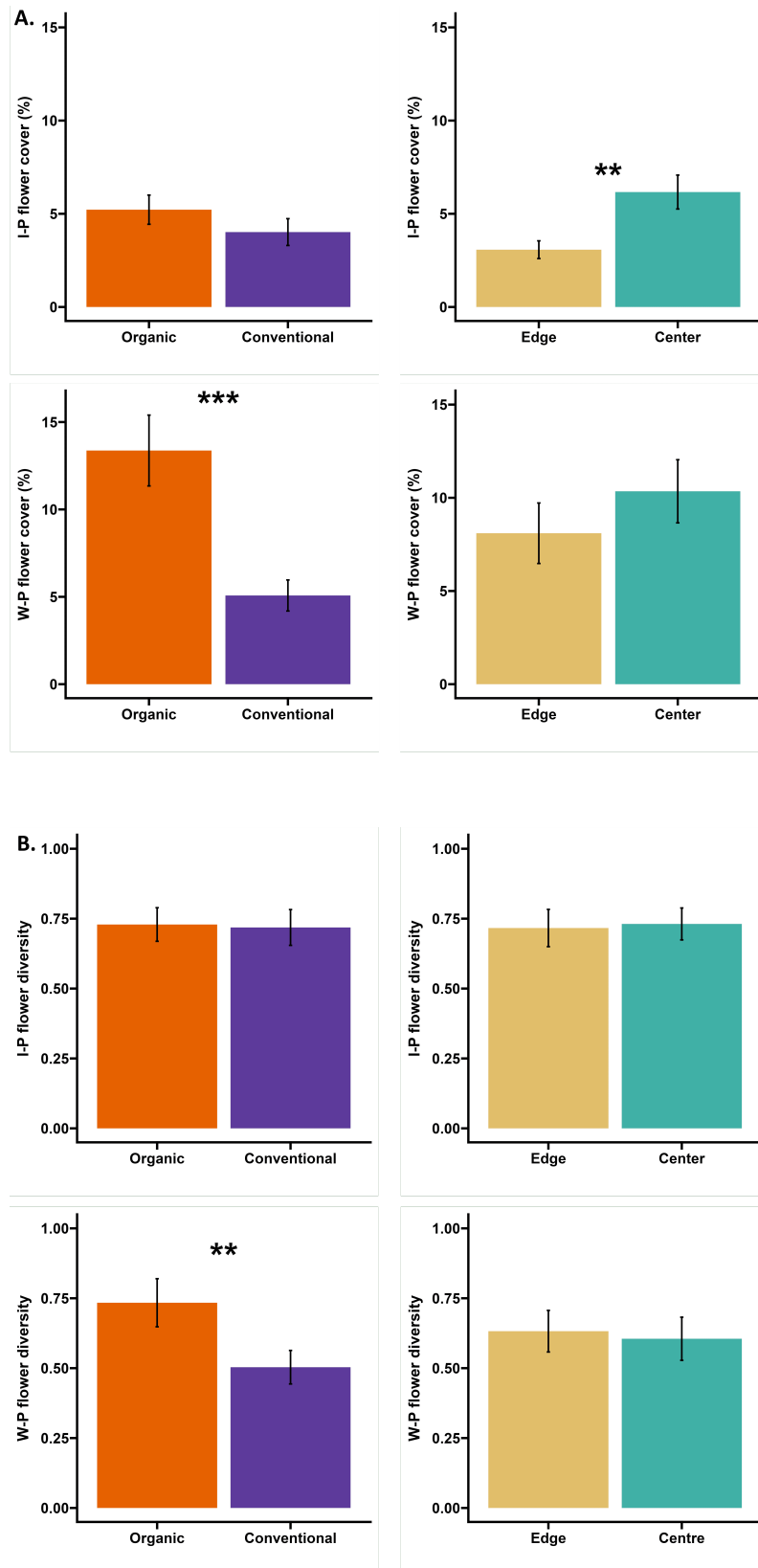


FIGURE 2.2 – Comparison of (A) flower cover and (B) species diversity between organic and conventional orchards and between transect locations within the orchard. Bars indicate standard errors. W-P flower : Wind-pollinated flower and I-P flower : Insect pollinated flower

Insect-pollinated flower cover was twice as high in the centre of the orchard as in the orchard edge (Table 2.1). Wind-pollinated flower cover was 2.45 times higher in organic orchards than in conventional orchards (Fig. 2.2 A.), but we did not find any significant effect of orchard management on the cover of insect-pollinated flowers (Table 2.1).

Over the whole season, we recorded 112 plant species of which 78 were flowering at least at one of the three observation periods. We observed 6.7 (± 0.4) flowering species per transect and per period. In late March, the most frequently flowering species were insect-pollinated plants : *Veronica persica* (Scrophulariaceae), *Taraxacum officinale* (Asteraceae), *Cardamine hirsuta* (Brassicaceae), *Senecio vulgaris* (Asteraceae) and *Crepis sancta* (Asteraceae). In early June, the most common flowering plants were wind-pollinated species : *Lolium rigidum* (Poaceae), *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae), and *Lolium perenne* (Poaceae). The dominant insect-pollinated species in early June were clover species : *Trifolium repens* and *T. pratense* (Fabaceae).

The Shannon index of wind-pollinated flowers increased from March to June. For insect-pollinated flowers, the Shannon index remained constant throughout the season (Fig. 2.S3). The Shannon index of wind-pollinated species was significantly higher (+ 46%) in organic orchards (Fig. 2.2 B.), but we did not find any significant effect of the orchard management on the diversity of insect-pollinated species (Table 2.S3).

3.2. Effects of spontaneous flowering vegetation on hoverflies, parasitoid wasps and bees

Over the whole season, we recorded 423 beneficial insects by combining the two sampling methods (hoverflies : 93, parasitoid wasps : 144, honey bees : 61 and wild bees : 125). We counted 3.9 (± 0.5) insects per transect and per period. Beneficial insect abundance increased throughout the season, with a total of 31 individuals being recorded in late March, 144 in early May and 248 in early June (Table 2.2).

TABLE 2.2 – **Number of recorded beneficial insects.** Values correspond to the mean number of beneficial insects recorded per transect and per session.

	Late March			Early May			Early June		
	Sum	Mean	SD	Sum	Mean	SD	Sum	Mean	SD
Hoverflies	8	0.22	0.76	40	1.10	1.45	45	1.25	1.96
Parasitoids	12	0.33	0.79	54	1.50	1.56	78	2.17	1.90
Honeybees	9	0.25	0.77	11	0.31	1.12	41	1.14	2.67
Wild bees	2	0.56	0.23	39	1.08	1.89	84	2.33	3.47

GLMM results showed that the flower cover of insect-pollinated species had a significant and positive effect on the abundance of all insect groups (Table 2.S3), with the highest effect size for honeybees (Fig. 2.3 B.). The diversity of insect-pollinated species had only a significant and positive effect on wild bees (Table 2.S3). The cover of wind-pollinated species had a significant and positive effect on the abundance of hoverflies and parasitoid wasps. The diversity of wind-pollinated species also positively affected the abundance of hoverflies and wild bees (Table 2.S3).

We did not find a significant effect of location within the orchard or orchard management on either insect group (Fig. 2.3). Piecewise SEM showed that honeybee abundance did not have a significant effect on any other group of beneficial insects (hoverflies : $p = 0.47$, parasitoid wasps : $p = 0.19$, wild bees : $p = 0.79$; Fig.2.S1 A.). PSEM also confirmed the positive and significant effect of insect-pollinated flower cover on hoverfly and parasitoid wasp abundance (hoverflies : $p = 0.01$; parasitoid wasps : $p < 0.01$; Fig.2.S1 A.). However, nectariferous flower cover explained only a small part of the variation in hoverflies and parasitoid wasp abundances ($R^2_m < 0.15$; Fig.2.S1).

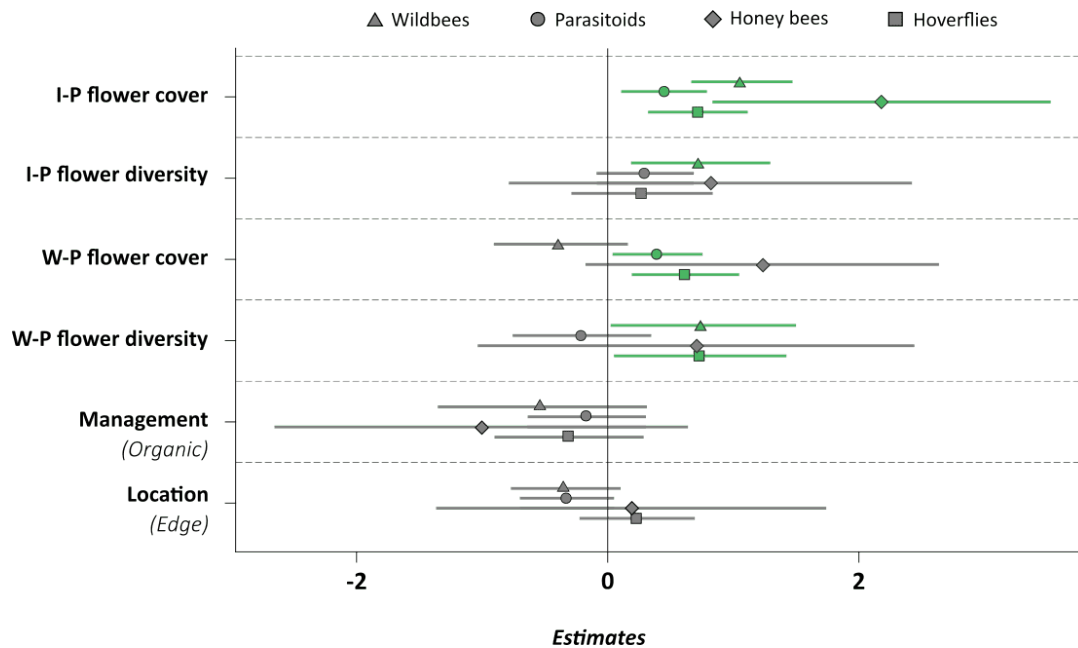


FIGURE 2.3 – Effect sizes (mean $\pm$ 95% CI) of flower cover and diversity, location within the orchard, and orchard management on beneficial insect abundance. Estimates were obtained by a model averaging approach. Triangles correspond to wild bee abundance, circles to parasitoid abundance, squares to hoverfly abundance, and diamonds to honeybee abundance. Significant positive effects are indicated in green.

3.3. Effects of hoverflies and parasitoid wasps on pest regulation

We counted $0.77 (\pm 0.13)$ RAA infested shoots per tree and per period, varying from 0 to 28. The infestation was very low in late March (0.08 ± 0.03) and increased throughout the season (1.05 ± 0.22 in early May and 1.22 ± 0.34 in early June). GLMMs showed that hoverfly abundance had a significant negative effect on RAA infestation, and we observed a positive and significant relationship between parasitoid wasp abundance and RAA infestation (Fig. 2.4, Table 2.S4). In late June, the proportion of apples with RAA damage was $1.0 (\pm 0.4)\%$ and varied from 0 to 8.9%. None of the tested explanatory variables had a significant effect on RAA fruit damage (Fig. 2.4 and Table 2.S4). The proportion of apples with CM damage was $5.5 (\pm 2.6)\%$, attaining up to 63.6%, and depended mainly on orchard management (Fig. 2.4). In October, we collected $0.63 (\pm 1.66)$ CM larvae per tree. A low proportion of small CM larvae was observed ($5.7 \pm 3.4\%$ per orchard), indicating parasitism by *A. quadridendata* (Table 2.S4). However, we did not observe any significant effect of parasitoid abundance on CM damage or on the number of CM diapausing larvae (Fig. 2.4 and Table 2.S7).

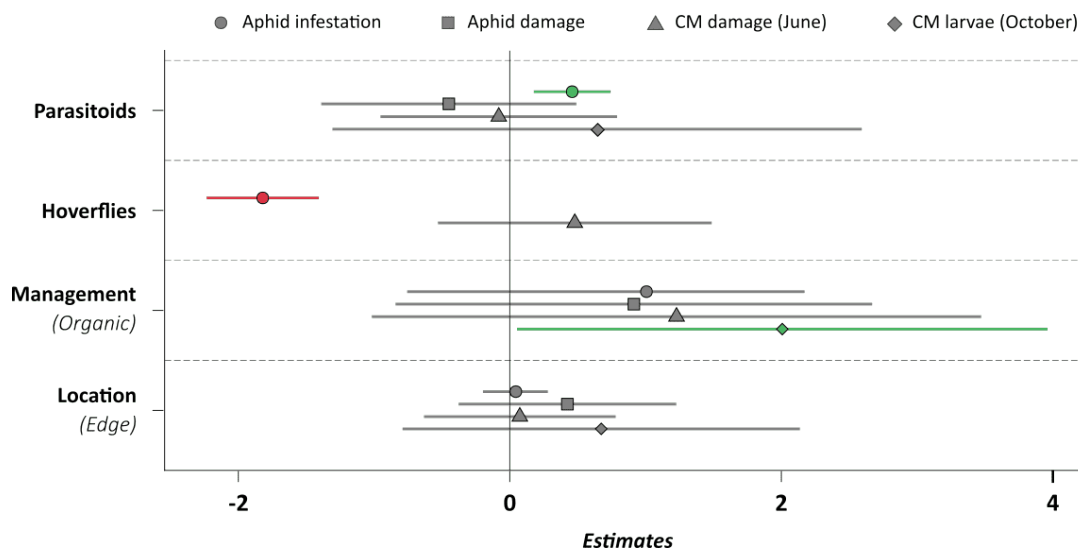


FIGURE 2.4 – **Effect sizes (mean $\pm$ 95% CI) of natural enemies, location within the orchard, and orchard management on pest infestations and damages.** Estimates were obtained by a model averaging approach. Circles correspond to rosy apple aphid (RAA) infestation (monitored from April to June), squares to the proportion of apples with RAA damage (recorded in June), triangles to the proportion of apples with codling moth (CM) damage (recorded in June), and diamonds to the number of codling moth diapausing larvae (monitored in October). Positive and negative significant effects are indicated in green and red, respectively.

3.4. Effects of spontaneous flowering vegetation on insect pests and on associated damage

PSEM showed significant effects of spontaneous vegetation on pest infestation and associated damage reduction that were independent of hoverfly and parasitoid wasp abundances (Fig. 2.S1). The flower cover of insect-pollinated species had a significant negative effect on the proportion of CM damage ($p < 0.001$). The cover of wind-pollinated flowers was the best predictor of RAA infestation showing a significant negative effect ($p < 0.001$). In contrast, we observed a significant and positive effect of the insect-pollinated plant diversity (Shannon) on RAA infestation ($p < 0.001$). PSEM also showed a negative relationship between RAA infestation recorded in spring and the number of CM larvae collected in autumn ($p = 0.04$). However, this relationship was not robust among the observation sites, being significant in less than 80% of the sub-models (Fig. 2.S1).

4. Discussion

We analysed the effects of spontaneous flowering vegetation on the recruitment of hoverflies, parasitoid wasps, wild bees and honeybees in apple orchards and their cascading effects on the regulation of the codling moth and the rosy apple aphid. Our results showed that the cover of insect-pollinated flowers increased the abundances of these four insect groups. The cover of wind-pollinated flowers had also a positive effect on the abundances of hoverflies and parasitoid wasps. We observed a significant negative effect of hoverfly abundance on RAA infestation. The cover of insect-pollinated flowers had a negative effect on CM damage and the cover of wind-pollinated flowers reduced RAA infestation. However, this reduction of RAA infestation was only marginally mediated by hoverfly abundance.

The cover of insect-pollinated flowers had a positive effect on hoverflies, parasitoid wasps, wild bees and honeybees, and insect-pollinated flower diversity also had a positive effect on wild bees. Similarly, Bishop et al., 2023 found that wildflower cover in apple orchard field margins improved natural enemy richness and abundance and Pollier et al., 2018 highlighted the importance of flowering insect-pollinated plants close to wheat and oilseed rape fields. This is likely to be due to an increase in available nectar resources (Mockford et al., 2022). A lack of nectar in early spring is generally observed in farmland (Timberlake, Vaughan & Memmott, 2019), even with the addition of flower strips (Serée et al., 2023). In our study, we observed a constant cover of insect-pollinated flowers throughout the survey periods including early spring. Some flowering plant species predominantly recorded in March (e.g. *Veronica persica*, *Taraxacum officinale*) are therefore promising candidate species to improve seed mixtures, as they provide accessible nectar for several groups of natural enemies including parasitoid wasps (Gardarin, Pigot & Valantin-Morison, 2021 ;

Serée et al., 2023). We also found positive effects of wind-pollinated species on hoverflies and parasitoid wasps. Although we did not specifically analyse flower visits and pollen consumption, the positive effect on hoverflies may be explained by pollen provisioning. Several studies have reported evidence of hoverflies foraging on grass species (Joseph, Harris-Shultz & Jespersen, 2020; Saunders, 2018; Villa-Galaviz et al., 2020). Furthermore, hoverfly and parasitoid females may forage on weeds, searching for alternative prey to lay their eggs (Rodríguez-Gasol et al., 2019). Finally, the high cover of wind-pollinated flowers may indicate low vegetation disturbance (Piqueray et al., 2019), which may also benefit natural enemies (Horton et al., 2003; Meyer et al., 2019).

Piecewise SEM showed that spontaneous flowering vegetation explained at most 22% of the variability in beneficial insect abundances and 18% of the variability in pest infestation. This result may be due to the relatively low variability of insect-pollinated flower cover between orchards (0 to 10%). Competition between flower visitors may also limit the effect of floral resources on pest biological control (Jeavons, van Baaren & Le Lann, 2020), but, we did not observe any relationship between honeybee abundance and that of the three other beneficial insect groups studied here. Effect of spontaneous vegetation on pest biological control may further be limited by other farming practices in apple orchards such as mowing, tillage and pesticide treatment frequencies (McKerchar et al., 2020). However, abundances of hoverflies, parasitoid wasps or bees did not significantly differ between conventional and organic apple orchards in our study. A more detailed description of the farming practices in each apple orchard independently of the organic vs. conventional management typology would help to precise their significance. Landscape composition may also affect natural enemy abundance, in particular the cover of semi-natural habitats, including hedgerows and their proximity to field crops (Bishop et al., 2023; Daelemans et al., 2022; Maalouly et al., 2013). The overall abundance of insects (hoverflies, parasitoid wasps and bees) was rather low, which may have limited the strength of observed effects. An increased observation time may be a solution to obtain higher abundances avoiding 0 values that reduce statistical power.

Hoverfly abundance had a negative effect on RAA infestation. This confirms the potential of hoverflies to improve aphid biological control (Rodríguez-Gasol et al., 2020). Hoverflies were not identified to species level but previous studies showed that most hoverfly species occurring in apple orchards are aphid predators (Dib et al., 2010; Rossi et al., 2006; Wojciechowicz-Żytka & Jankowska, 2017). We did not find a significant relationship between parasitoid wasps collected on spontaneous vegetation and the abundance of codling moth larvae or their associated damage. We also recorded a very low number of small larvae (indicating codling moth parasitism). The RAA infestation was positively related

to the abundance of parasitoids sampled in the vegetation. This observation suggests that RAA and parasitoid wasps are influenced by common factors not included in our analysis. The density of hedgerows in the monitored orchards that favours both parasitoid diversity (Bishop et al., 2023) and RAA infestation (Albert et al., 2017) may be such a common factor. We did not distinguish parasitoid wasps (as in Mateos-Fierro et al., 2021; Pollier et al., 2018; Rodríguez-Gasol et al., 2019, assuming that the overall abundance of parasitoids is positively related to the abundance of parasitoid species attacking the apple pests RAA and CM. However, it is possible that parasitoid wasp species collected on spontaneous vegetation were not involved in apple pest regulation. The identification of parasitoid wasps would thus be required to determine whether flowering plants in apple orchards attract parasitoid species that are really involved in pest regulation.

Piecewise SEM showed effects of spontaneous flowering vegetation independent of hoverflies or parasitoid wasps. The cover of insect-pollinated flowers negatively affected CM damage, and wind-pollinated flower cover had a negative effect on RAA infestation. These effects may be related to the activity of other groups of natural enemies than parasitoid wasps and hoverflies. Generalist predators such as earwigs (Dermaptera : Forficulidae), spiders (Araneae) highly contribute to RAA and CM regulation (Dib et al., 2010; Unruh et al., 2016). Additionally, ladybirds (Coleoptera : Coccinellidae) or flower bugs (Heteroptera : Anthocoridae) are involved in RAA regulation (Dib et al., 2010). All these predator groups may benefit from spontaneous flowering vegetation without directly consuming floral resources. For example, Mei et al., 2021 showed that spiders and ground beetles were positively affected by wildflower cover and diversity even though they do not consume nectar or pollen. Such generalist natural enemies benefit from shelter, favourable microclimate and structural diversity provided by a relatively undisturbed herbaceous layer (Ganser, Knop & Albrecht, 2019). We also found a small but positive effect of the diversity of insect-pollinated flowers on RAA infestation. This result suggests that both variables, insect-pollinated flower diversity and RAA infestation, were influenced by common drivers not included in our analysis. However, it is also possible that a higher flower diversity may attract a higher number of natural enemy species increasing potential intraguild predation or competition (Daelemans et al., 2022).

To conclude, our results demonstrated that spontaneous vegetation rich in insect-pollinated plants improves the recruitment of hoverflies, parasitoid wasps, wild bees and honey bees in apple orchards. Positive effects of spontaneous vegetation on pest regulation and damage reduction were weak but significant. To further increase the regulation of apple pests, the preservation of spontaneous flowering vegetation should be combined with other farming practices, such as sowing plant species within or around orchards that favour apple pest

natural enemies. Natural enemy activity generally decreases with increasing distance from such flowering plantings (Albert et al., 2017; Santos et al., 2018). Spontaneous vegetation may act as a relay, promoting the movement of hoverflies and parasitoid wasps from field margins within the orchard and should be managed at the whole-field level, rather than only at the edges in agreement with Serée et al., 2023. Apple cultivars selected for their low susceptibility to RAA (Alhmedi et al., 2022) or CM (Joshi et al., 2015) and management practices (pruning, irrigation, fertilisation) that reduce tree vigour and RAA infestation (Rousselin et al., 2018; Simon, Sauphanor & Lauri, 2007) could additionally reduce apple damages. In order to develop guidelines for farmers, future research should therefore examine interactions between spontaneous flowering vegetation and farming practices to promote sustainable pest regulation.

Authorship contribution statement

LL, AB, FL and PF conceived the ideas and designed the methodology; LL, AB and PF collected the data; LL and RB analysed the data; LL wrote the first draft of the manuscript. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

Acknowledgements

LL's PhD grant was funded by INRAE (SPE department), and by the Region Sud Provence-Alpes-Côte d'Azur. Additional fundings were obtained by the 2P3P (SFR Tersys) and the FRAMEwork (European Union's Horizon H2020 research and innovation programme under grant agreement No 862731) projects. We would like to thank all farmers for the permit to work in their orchards. We thank PSH-INRAE colleagues working on Conservation Biological Control (CBC team) for technical assistance in the field and data collection. We thank Olivier Blight, Maxime Jacquot and Astrid Cruaud for their helpful statistical advices.

Supplementary tables and figures

TABLE 2.S1 – **Variance inflation factor (VIF)** for (A) the GLMM analysing the effects of spontaneous flowering vegetation on beneficial insect abundance and (B) the GLMM analysing the effects of hoverfly and parasitoid abundances, location and orchard management on pest numbers (RAA infestation and CM larvae) and their damages.

(A)		VIF	(B)		VIF
Hoverflies	I-P flowers cover	1.28	RAA infestation	Parasitoids	1.04
	I-P flowers diversity	1.29		Hoverflies	1.17
	W-P flowers cover	1.39		Management	1.00
	W-P flowers diversity	1.51		Location	1.16
	Location	1.23	RAA fruit damage	Parasitoids	1.81
	Management	1.53		Hoverflies	1.30
Parasitoids	I-P flowers cover	1.25		Management	1.06
	I-P flowers diversity	1.15		Location	1.80
	W-P flowers cover	1.43	CM fruit damage	Parasitoids	1.05
	W-P flowers diversity	1.28		Management	1.03
	Location	1.17		Location	1.02
	Management	1.56	CM diapausing larvae	Parasitoids	1.16
Wild bees	I-P flowers cover	1.28		Management	1.01
	I-P flowers diversity	1.15		Location	1.17
	W-P flowers cover	1.34			
	W-P flowers diversity	1.30			
	Location	1.21			
	Management	1.24			
Honeybees	I-P flowers cover	1.28			
	I-P flowers diversity	1.09			
	W-P flowers cover	1.75			
	W-P flowers diversity	1.57			
	Location	1.16			
	Management	1.37			

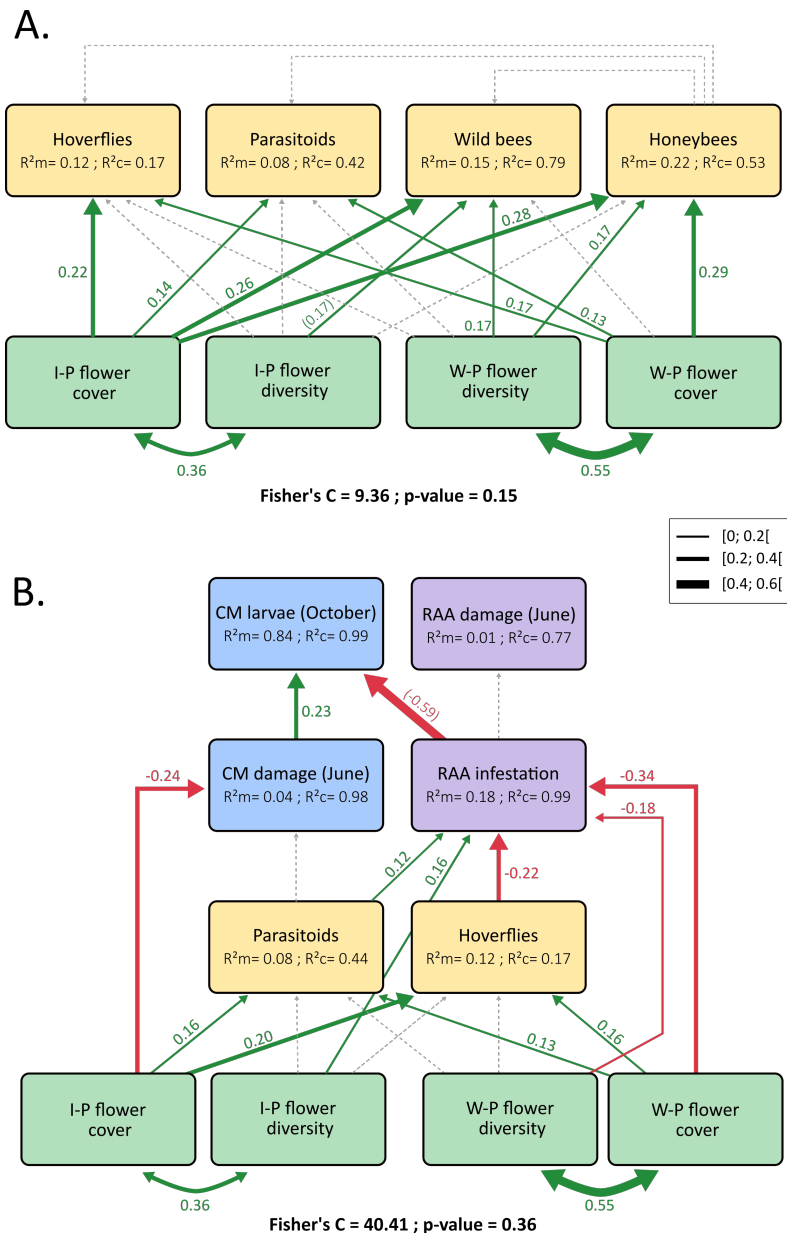


FIGURE 2.S1 – **Final piecewise structural equation models (pSEM)**. Model A shows the effects of spontaneous flowering vegetation on all groups of beneficial insects. Model B shows the effects of spontaneous flowering vegetation on natural enemies and cascading effects on pest infestation and associated damages. I-P flowers : Insect pollinated flowers ; W-P flowers : Wind pollinated flowers ; RAA : Rosy Apple Aphid ; CM : Codling moth. Green and red arrows represent significant positive and negative pathways, respectively, with arrow thickness corresponding to standardised path coefficients. Coefficients in parentheses correspond to pathways significant in less than 80% of sub-models. Dotted grey arrows indicate non-significant paths ($p > 0.05$). Double-headed arrows illustrate correlated errors. R^2m values show the proportion of variability explained by fixed effects and R^2c values show the proportion of variability explained by both fixed and random effects. Overall model fit is indicated using Fisher's C statistic. Summary statistics for the pSEM models are shown in Table 2.S8 and 2.S9

TABLE 2.S2 – **Combined Pearson and Spearman correlation matrix.** Correlation coefficients are indicated (r of Pearson in blue or rho of Spearman in black) and stars indicate significance level ‘*’ : <0.05 ; ‘**’ : <0.01 ; ‘***’ : <0.001 .

[illegible]

TABLE 2.S3 – **Averaged estimated effects (GLMM) of spontaneous flowering vegetation on beneficial insect abundance.** Σwi : sum of the weights (i.e. relative importance). Positive estimates for "Location" correspond to an increase towards "Edge". Positive estimates for "Orchard management" corresponds to an increase towards "Organic". Significant variables are indicated in bold.

	Explanatory variable	Estimate	Z-value	Σwi	p-value
Hoverflies	I-P flower cover	0.72 ($\pm$ 0.20)	3.55	0.99	<0.001
	I-P flower diversity	0.27 ($\pm$ 0.29)	0.95	0.34	0.34
	W-P flower cover	0.62 ($\pm$ 0.22)	2.84	0.94	<0.001
	W-P flower diversity	0.74 ($\pm$ 0.35)	2.10	0.73	0.04
	Location	0.23 ($\pm$ 0.23)	1.00	0.35	0.32
	Management	-0.31 ($\pm$ 0.30)	1.02	0.36	0.31
Parasitoids	I-P flower cover	0.45 ($\pm$ 0.17)	2.58	0.85	0.01
	I-P flower diversity	0.30 ($\pm$ 0.20)	1.51	0.51	0.13
	W-P flower cover	0.40 ($\pm$ 0.18)	2.17	0.78	0.03
	W-P flower diversity	-0.21 ($\pm$ 0.28)	0.73	0.30	0.47
	Location	-0.32 ($\pm$ 0.32)	1.69	0.59	0.09
	Management	-0.17 ($\pm$ 0.24)	0.69	0.31	0.49
Wild bees	I-P flower cover	1.07 ($\pm$ 0.21)	5.19	1.00	<0.001
	I-P flower diversity	0.74 ($\pm$ 0.28)	2.62	0.90	0.01
	W-P flower cover	-0.37 ($\pm$ 0.27)	1.37	0.47	0.17
	W-P flower diversity	0.76 ($\pm$ 0.38)	2.02	0.74	0.04
	Location	-0.33 ($\pm$ 0.22)	1.50	0.49	0.13
	Management	-0.52 ($\pm$ 0.42)	1.22	0.41	0.22
Honeybees	I-P flower cover	2.18 ($\pm$ 0.69)	3.17	0.99	<0.001
	I-P flower diversity	0.82 ($\pm$ 0.82)	1.00	0.34	0.32
	W-P flower cover	1.23 ($\pm$ 0.72)	1.71	0.59	0.09
	W-P flower diversity	0.70 ($\pm$ 0.89)	0.79	0.33	0.43
	Location	0.19 ($\pm$ 0.79)	0.24	0.25	0.81
	Management	-1.01 ($\pm$ 0.84)	1.20	0.42	0.23

TABLE 2.S4 – Averaged estimated effects (GLMM) of hoverfly and parasitoid abundances, location and orchard management on pest numbers (RAA infestation and CM larvae) and their damages. Σwi : sum of the weights (i.e. relative importance). Positive estimates for "Location" correspond to an increase towards "Edge". Positive estimates for “Orchard management” corresponds to an increase towards “Organic”. Significant variables are indicated in bold.

	Explanatory variable	Estimate	Z-value	RI	p-value
RAA infestation	Parasitoids	0.46 ($\pm$ 0.14)	3.19	0.98	<0.001
	Hoverflies	-1.82 ($\pm$ 0.21)	8.63	1.00	<0.001
	Management	1.01 ($\pm$ 1.03)	0.97	0.34	0.33
	Location	0.04 ($\pm$ 0.12)	0.34	0.25	0.74
RAA fruit damage	Parasitoids	-0.08 ($\pm$ 0.44)	0.18	0.22	0.85
	Hoverflies	0.48 ($\pm$ 0.51)	0.93	0.31	0.35
	Management	1.23 ($\pm$ 1.14)	1.07	0.34	0.28
	Location	0.07 ($\pm$ 0.36)	0.20	0.22	0.84
CM fruit damage	Parasitoids	0.64 ($\pm$ 0.99)	0.65	0.24	0.52
	Management	2.01 ($\pm$ 1.00)	2.01	0.66	0.04
	Location	0.67 ($\pm$ 0.75)	0.90	0.28	0.37
CM diapausing larvae	Parasitoids	-0.45 ($\pm$ 0.48)	0.94	0.30	0.35
	Management	0.91 ($\pm$ 0.90)	1.02	0.28	0.31
	Location	0.42 ($\pm$ 0.41)	1.04	0.31	0.30

TABLE 2.S5 – **Summary statistics for all measured variables related to spontaneous vegetation.** Given data are mean and standard deviation.

ID	Management	Total cover (%)		Total flower cover (%)		Total flower diversity	
		Centre	Edge	Centre	Edge	Centre	Edge
1	Organic	70	70	19.71 ($\pm$ 19.76)	21.18 ($\pm$ 19.15)	1.18 ($\pm$ 0.35)	1.43 ($\pm$ 0.23)
2	Conventional	50	30	25.04 ($\pm$ 29.25)	5.45 ($\pm$ 6.17)	1.45 ($\pm$ 0.7)	0.74 ($\pm$ 0.73)
3	Conventional	65	70	12.36 ($\pm$ 13.71)	10.38 ($\pm$ 7.34)	1.31 ($\pm$ 0.03)	1.5 ($\pm$ 0.14)
4	Conventional	65	12	11.69 ($\pm$ 10.4)	10.92 ($\pm$ 11.75)	0.94 ($\pm$ 0.41)	1.06 ($\pm$ 0.05)
5	Organic	70	25	19.3 ($\pm$ 15.23)	7.74 ($\pm$ 10.67)	1.23 ($\pm$ 0.28)	0.84 ($\pm$ 0.77)
6	Conventional	65	60	10.57 ($\pm$ 9.25)	1.25 ($\pm$ 0.98)	1.34 ($\pm$ 0.31)	0.94 ($\pm$ 0.33)
7	Organic	90	80	7.18 ($\pm$ 10.94)	4.68 ($\pm$ 5.93)	1.41 ($\pm$ 0.63)	1.43 ($\pm$ 0.44)
8	Conventional	85	75	26.2 ($\pm$ 21.55)	19.97 ($\pm$ 31.16)	1.63 ($\pm$ 0.89)	1.26 ($\pm$ 0.58)
9	Conventional	85	45	19.59 ($\pm$ 12.65)	18.75 ($\pm$ 15.2)	1.5 ($\pm$ 0.68)	1.42 ($\pm$ 0.81)
10	Conventional	80	80	14.11 ($\pm$ 9.7)	6.9 ($\pm$ 4.7)	1.26 ($\pm$ 0.11)	1.62 ($\pm$ 0.6)
11	Organic	90	90	10.08 ($\pm$ 7.78)	8.94 ($\pm$ 5.87)	1.01 ($\pm$ 0.3)	1.01 ($\pm$ 0.69)
12	Organic	80	75	24.37 ($\pm$ 21.78)	13.97 ($\pm$ 13.58)	0.99 ($\pm$ 0.73)	1.22 ($\pm$ 0.49)
13	Conventional	85	70	18.06 ($\pm$ 11.31)	6.15 ($\pm$ 9.7)	1.33 ($\pm$ 0.14)	0.97 ($\pm$ 0.61)
14	Conventional	30	55	26.98 ($\pm$ 23.71)	26.44 ($\pm$ 16.53)	1.1 ($\pm$ 0.04)	1.55 ($\pm$ 0.18)
15	Organic	90	50	27.08 ($\pm$ 15.1)	13.1 ($\pm$ 13.33)	1.23 ($\pm$ 0.66)	1.17 ($\pm$ 0.51)
16	Organic	75	40	6.7 ($\pm$ 4.73)	5.39 ($\pm$ 5.2)	0.5 ($\pm$ 0.44)	1.11 ($\pm$ 0.26)
17	Organic	80	85	9.43 ($\pm$ 10.73)	2.38 ($\pm$ 0.68)	1.06 ($\pm$ 0.29)	1.07 ($\pm$ 0.76)
18	Organic	80	70	8.82 ($\pm$ 7.31)	17.5 ($\pm$ 15.18)	1.15 ($\pm$ 0.33)	0.82 ($\pm$ 0.12)

I-P flower cover (%)			W-P flower cover (%)		I-P flower diversity		W-P flower diversity	
ID	Centre	Edge	Centre	Edge	Centre	Edge	Centre	Edge
1	2.51 (± 2.23)	4.34 (± 1.45)	17.94 (± 17,88)	16.83 (± 20)	0.74 (± 0.29)	0.98 (± 0.19)	0.8 (± 0.46)	0.79 (± 0.13)
2	0.46 (± 0.54)	0.19 (± 0.1)	5.58 (± 4,67)	5.2 (± 5,1)	0.16 (± 0.26)	0.31 (± 0.32)	0.59 (± 0.52)	0.76 (± 0.67)
3	4.34 (± 7.56)	1.06 (± 0.64)	1.57 (± 1,29)	1.32 (± 1,2)	0.61 (± 0.2)	0.51 (± 0.24)	0.62 (± 0.52)	0.73 (± 0.66)
4	3.03 (± 3.4)	2.47 (± 3)	10.13 (± 10,61)	15.04 (± 14,11)	0.68 (± 0.48)	0.46 (± 0.6)	0.43 (± 0.37)	0.45 (± 0.43)
5	2.27 (± 4.47)	0	12.98 (± 17,45)	5.45 (± 6,17)	0.29 (± 0.39)	0	0.87 (± 0.77)	0.74 (± 0.73)
6	8.06 (± 9.92)	5.55 (±1.48)	3.31 (± 4,67)	4.83 (± 6,66)	1.03 (± 0.33)	1.07 (± 0.36)	0.4 (± 0.37)	0.45 (± 0.39)
7	0.24 (± 0.18)	0.28 (± 0.26)	11.07 (± 10,01)	10.63 (± 11,95)	0.32 (± 0.35)	0.2 (± 0.35)	0.67 (± 0.56)	0.66 (± 0.57)
8	6.35 (± 5.71)	5.61 (± 7.04)	7.17 (± 9,36)	2.14 (± 3,7)	0.74 (± 0.41)	0.66 (± 0.57)	0.38 (± 0.43)	0.22 (± 0.39)
9	1.23 (± 1.17)	0.39 (± 0.32)	4.68 (± 6,93)	0.87 (± 0,76)	0.62 (± 0.4)	0.54 (± 0.37)	0.58 (± 0.55)	0.35 (± 0.31)
10	2.61 (± 3.48)	2.23 (± 2.61)	3.32 (± 4,52)	2.45 (± 3,34)	0.93 (± 0.6)	0.85 (± 0.35)	0.6 (± 0.57)	0.57 (± 0.71)
11	5.64 (± 6.76)	1.45 (± 1.35)	17.44 (± 21,33)	18.52 (± 29,85)	0.82 (± 0.42)	0.63 (± 0.46)	1.02 (± 0.81)	0.91 (± 0.79)
12	6.13 (± 5.08)	3.97 (± 2.64)	13.03 (± 12,99)	14.78 (± 15,55)	1.02 (± 0.47)	1.26 (± 0.58)	0.98 (± 0.87)	0.99 (± 0.99)
13	4.49 (± 2.87)	3.53 (± 0.89)	6.02 (± 7,34)	3.37 (± 3,94)	1.18 (± 0.33)	1.29 (± 0.48)	0.63 (± 0.4)	0.7
14	5.6 (± 4.11)	5.11 (± 1.66)	3.92 (± 4,83)	3.83 (± 4,65)	0.52 (± 0.46)	0.6 (± 0.33)	0.32 (± 0.35)	0.44 (± 0.38)
15	10.52 (± 6.97)	5.85 (± 4.55)	8.65 (± 11,58)	8.12 (± 9,1)	0.85 (± 0.36)	0.97 (± 0.17)	0.37 (± 0.57)	0.4 (± 0.69)
16	6.86 (± 6.84)	2.43 (± 3.62)	5.24 (± 5,24)	3.72 (± 6,09)	0.6 (± 0.39)	0.42 (± 0.2)	0.49 (± 0.44)	0.55 (± 0.49)
17	6.21 (± 5.77)	6.57 (± 8.08)	20.5 (± 18,98)	19.88 (± 20,77)	1.07 (± 0.37)	1.37 (± 0.25)	0.68 (± 0.6)	0.87 (± 0.76)
18	6.6 (± 5.87)	4.3 (± 4.39)	13.49 (± 16,26)	8.8 (± 12,65)	0.85 (± 0.39)	0.77 (± 0.38)	0.73 (± 0.61)	0.8 (± 0.7)

TABLE 2.S6 – **Summary statistics for all measured variables related to beneficial insects.** Given data are mean and standard deviation of the three survey sessions.

	Hoverflies		Parasitoids		Wild bees		Honeybees		Flower visitor diversity	
ID	Centre	Edge	Centre	Edge	Centre	Edge	Centre	Edge	Centre	Edge
1	0.5 ($\pm$ 0.84)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0.67 ($\pm$ 1.21)	1 ($\pm$ 1.73)	0.17 ($\pm$ 0.41)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0	0	0.21 ($\pm$ 0.37)	0.32 ($\pm$ 0.55)
2	0.17 ($\pm$ 0.41)	0.33 ($\pm$ 0.58)	1.5 ($\pm$ 2.35)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0.17 ($\pm$ 0.41)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0	0	0	0.23 ($\pm$ 0.4)
3	0.33 ($\pm$ 0.52)	0.33 ($\pm$ 0.58)	1.17 ($\pm$ 1.17)	0.67 ($\pm$ 0.58)	1.5 ($\pm$ 0.21)	0.33 ($\pm$ 0.58)	2 ($\pm$ 4.43)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0.33 ($\pm$ 0.57)	0.37 ($\pm$ 0.63)
4	0.5 ($\pm$ 0.84)	0	0.67 ($\pm$ 1.03)	0.67 ($\pm$ 1.15)	0.67 ($\pm$ 1.63)	0	0	0	0.42 ($\pm$ 0.37)	0
5	0.5 ($\pm$ 0.84)	0	0.67 ($\pm$ 1.63)	0	2.5 ($\pm$ 3.89)	1 ($\pm$ 1.73)	0.17 ($\pm$ 0.41)	0	0.56 ($\pm$ 0.51)	0
6	0.83 ($\pm$ 1.33)	1 ($\pm$ 1.73)	1.67 ($\pm$ 1.75)	1 ($\pm$ 1)	1.5 ($\pm$ 2.74)	0.33 ($\pm$ 0.58)	1.67 ($\pm$ 2.25)	2.33 ($\pm$ 3.21)	0.92 ($\pm$ 0.21)	0.65 ($\pm$ 0.56)
7	0	0	1.33 ($\pm$ 1.63)	0.67 ($\pm$ 1.15)	0	0	0	0	0	0
8	1 ($\pm$ 2)	1.67 ($\pm$ 2.89)	2.17 ($\pm$ 2.64)	1 ($\pm$ 1.73)	2 ($\pm$ 3.16)	1 ($\pm$ 1.73)	0.5 ($\pm$ 1.22)	0	0.61 ($\pm$ 0.59)	0.36 ($\pm$ 0.62)
9	1.17 ($\pm$ 1.33)	1.33 ($\pm$ 1.15)	0.83 ($\pm$ 0.75)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0.83 ($\pm$ 0.75)	0.67 ($\pm$ 0.58)	0.17 ($\pm$ 0.41)	0	0.78 ($\pm$ 0.2)	0.35 ($\pm$ 0.6)
10	0.67 ($\pm$ 1.63)	0	1.33 ($\pm$ 2.16)	1 ($\pm$ 1.73)	0.5 ($\pm$ 0.84)	0.67 ($\pm$ 1.15)	0.83 ($\pm$ 2.04)	0	0.42 ($\pm$ 0.73)	0.22 ($\pm$ 0.39)
11	2 ($\pm$ 3.16)	2.67 ($\pm$ 4.62)	1.67 ($\pm$ 1.86)	1.67 ($\pm$ 2.08)	4.33 ($\pm$ 5.99)	1.67 ($\pm$ 1.15)	0.33 ($\pm$ 0.82)	0	0.6 ($\pm$ 0.52)	0.47 ($\pm$ 0.44)
12	1.17 ($\pm$ 1.17)	1.33 ($\pm$ 1.53)	1.33 ($\pm$ 1.75)	1 ($\pm$ 1.73)	0	0	0	0	0.21 ($\pm$ 0.37)	0
13	1.5 ($\pm$ 2.35)	2.33 ($\pm$ 3.21)	1.17 ($\pm$ 1.6)	0.67 ($\pm$ 1.15)	1.83 ($\pm$ 1.83)	2 ($\pm$ 2)	0	0	0.49 ($\pm$ 0.48)	0.48 ($\pm$ 0.48)
14	0.33 ($\pm$ 0.82)	0	0.83 ($\pm$ 1.17)	1.33 ($\pm$ 1.53)	0.67 ($\pm$ 1.21)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0.33 ($\pm$ 0.52)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0.34 ($\pm$ 0.58)	0.19 ($\pm$ 0.32)
15	1.17 ($\pm$ 1.83)	1.33 ($\pm$ 2.31)	2.67 ($\pm$ 2.16)	3 ($\pm$ 2.65)	1.67 ($\pm$ 3.2)	2.67 ($\pm$ 4.62)	0.67 ($\pm$ 1.21)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0.45 ($\pm$ 0.78)	0.4 ($\pm$ 0.69)
16	1.17 ($\pm$ 2.4)	0.33 ($\pm$ 0.58)	1.33 ($\pm$ 1.21)	1.33 ($\pm$ 1.53)	0.67 ($\pm$ 1.21)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0.17 ($\pm$ 0.41)	0	0.4 ($\pm$ 0.69)	0.32 ($\pm$ 0.55)
17	1.67 ($\pm$ 1.97)	0	2.5 ($\pm$ 2.07)	2.67 ($\pm$ 2.89)	1.17 ($\pm$ 1.6)	1.67 ($\pm$ 2.08)	2.33 ($\pm$ 4.41)	3.67 ($\pm$ 6.35)	0.83 ($\pm$ 0.45)	0.44 ($\pm$ 0.42)
18	0.83 ($\pm$ 0.98)	1.67 ($\pm$ 0.58)	0.5 ($\pm$ 0.55)	0.33 ($\pm$ 0.58)	0.67 ($\pm$ 1.63)	0	1 ($\pm$ 1.67)	1.33 ($\pm$ 2.31)	0.32 ($\pm$ 0.55)	0.38 ($\pm$ 0.34)

TABLE 2.S7 – **Summary statistics for all measured variables related to apple pests.** For RAA infestation, given data are the mean and standard deviation of the three sessions. For damages, given data are proportion recorded in late June. CM larvae corresponds to the number of codling moth diapausing larvae collected in October (sum per transect)

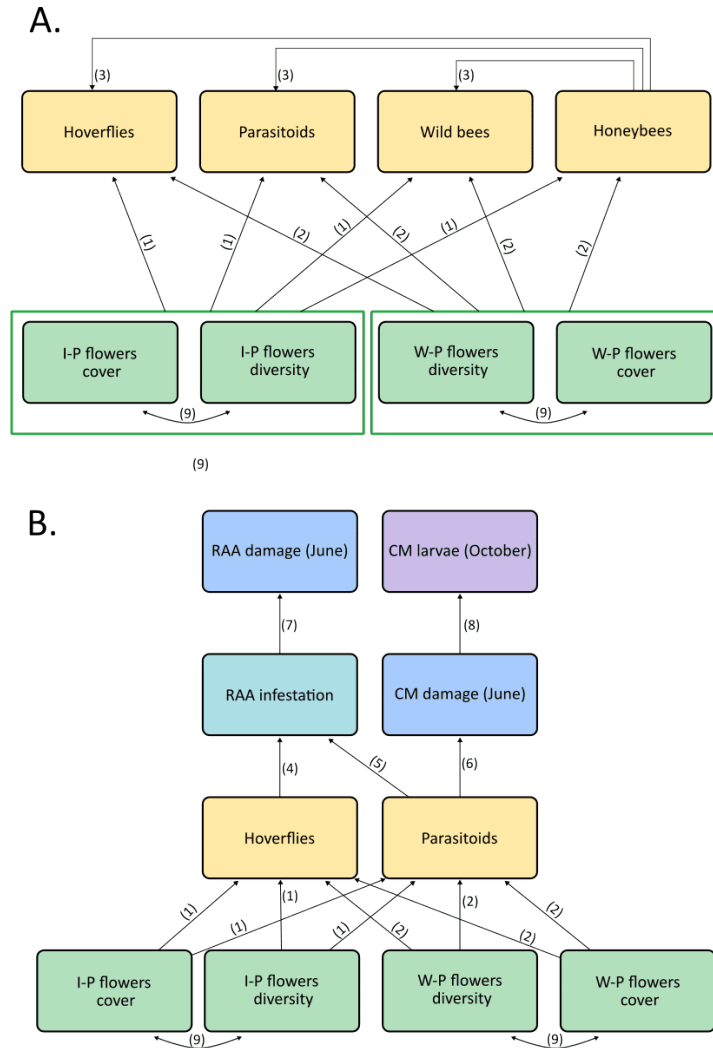
ID	Management	RAA infestation				RAA damage (%)		CM damage (%)		CM larvae		Small CM larvae	
		Centre mean	SD	Edge mean	SD	Centre	Edge	Centre	Edge	Centre	Edge	Centre	Edge
1	Organic	2.00	4.43	3.67	6.35	3.06	1.30	2.04	1.30	1	0	0	0
2	Conventional	4.50	3.62	4.00	3.61	0.00	0.00	0.32	0.31	0	10	0	0
3	Conventional	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0	0	0
4	Conventional	NA	NA	NA	NA	0.00	0.31	0.00	0.31	0	0	0	0
5	Organic	1.17	1.94	2.00	2.65	0.00	0.00	0.00	1.88	5	4	0	0
6	Conventional	0.00		0.00		0.68	0.00	0.68	0.00	1	2	0	0
7	Organic	0.50	1.22	0.00		0.00	0.47	0.00	1.90	18	7	0	0
8	Conventional	0.00		0.00		0.00	0.00	2.19	0.94	NA	23	0	1
9	Conventional	0.33	0.82	0.67	1.15	0.00	0.00	0.00	0.00	0	0	0	0
10	Conventional	4.33	7.92	2.00	2.65	0.00	0.33	0.00	1.64	0	1	0	0
11	Organic	1.33	3.27	0.00		NA	1.69	NA	32.20	NA	NA	NA	NA
12	Organic	26.50	35.40	36.33	50.81	1.05	0.00	2.80	0.00	0	0	0	0
13	Conventional	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5	11	0	1
14	Conventional	13.50	23.24	21.33	32.72	1.88	5.04	2.50	0.00	1	NA	0	NA
15	Organic	1.67	3.61	3.00	5.2	0.00	1.66	44.86	63.58	9	33	1	16
16	Organic	0.17	0.41	0.00		0.00	0.00	0.31	6.74	5	24	0	7
17	Organic	6.67	9.05	5.33	8.39	8.86	5.61	0.00	2.80	10	7	0	0
18	Organic	0.50	1.22	0.00		0.00	0.00	0.36	0.00	2	2	0	0

TABLE 2.S8 – **Summary statistics of the piecewise structural equation model (pSEM) explaining the effects of spontaneous flowering vegetation on beneficial insect abundance.** Each row corresponds to a path in the pSEM. SE : Standard Error ; DF : Degree of freedom ; Std Estimate : Standardized estimate.

Response	Predictor	Estimate	SE	DF	Crit.Value	Std Estimate	p-value
Parasitoid wasps	I-P flower cover	0.04	0.01	108	2.46	0.14	0.01
Parasitoid wasps	W-P flower cover	0.02	0.01	108	2.36	0.13	0.02
Parasitoid wasps	I-P flower diversity	0.28	0.20	108	1.40	0.09	0.16
Parasitoid wasps	W-P flower diversity	-0.28	0.23	108	-1.20	-0.11	0.23
Parasitoid wasps	Honeybees	0.04	0.03	108	1.31	0.06	0.19
Hoverflies	I-P flower cover	0.06	0.02	108	3.57	0.22	<0.001
Hoverflies	W-P flower cover	0.02	0.01	108	2.65	0.17	0.01
Hoverflies	I-P flower diversity	0.27	0.32	108	0.82	0.07	0.41
Hoverflies	W-P flower diversity	0.51	0.34	108	1.52	0.17	0.13
Hoverflies	Honeybees	-0.04	0.06	108	-0.73	-0.05	0.47
Honeybees	I-P flower cover	0.11	0.02	108	5.04	0.29	<0.001
Honeybees	W-P flower cover	0.05	0.01	108	3.63	0.30	<0.001
Honeybees	I-P flower diversity	0.49	0.53	108	0.92	0.10	0.36
Honeybees	W-P flower diversity	0.93	0.41	108	2.28	0.24	0.02
Wild bees	I-P flower cover	0.10	0.02	108	5.31	0.26	<0.001
Wild bees	W-P flower cover	-0.02	0.01	108	-1.60	-0.09	0.11
Wild bees	I-P flower diversity	0.78	0.29	108	2.67	0.17	0.01
Wild bees	W-P flower diversity	0.66	0.31	108	2.10	0.17	0.04
Wild bees	Honeybees	0.01	0.05	108	0.26	0.01	0.79
~I-P flower cover	~I-P flower diversity	0.36	-	106	3.92	0.36	<0.001
~W-P flower cover	~W-P flower diversity	0.55	-	106	6.75	0.55	<0.001

TABLE 2.S9 – Summary statistics of the piecewise structural equation model (pSEM) explaining the effects of spontaneous flowering vegetation on natural enemies and cascading effects on pest infestation and associated damage. Each row corresponds to a path in the pSEM. SE : Standard Error ; DF : Degree of freedom ; Std Estimate : Standardized estimate.

Response	Predictor	Estimate	SE	DF	Crit.Value	Std Estimate	p-value
Parasitoids wasps	I-P flower cover	0.04	0.01	108	2.95	0.16	<0.001
Parasitoids wasps	W-P flower cover	0.02	0.01	108	2.42	0.13	0.02
Parasitoids wasps	I-P flower diversity	0.30	0.20	108	1.50	0.10	0.13
Parasitoids wasps	W-P flower diversity	-0.28	0.24	108	-1.19	-0.11	0.23
Hoverflies	I-P flower cover	0.06	0.02	108	3.56	0.20	<0.001
Hoverflies	W-P flower cover	0.02	0.01	108	2.62	0.16	0.01
Hoverflies	I-P flower diversity	0.27	0.32	108	0.83	0.07	0.41
Hoverflies	W-P flower diversity	0.52	0.32	108	1.62	0.17	0.1
RAA infestation	Hoverflies	-0.38	0.07	94	-5.48	-0.22	<0.001
RAA infestation	Parasitoids wasps	0.19	0.05	94	4.19	0.12	<0.001
RAA infestation	I-P flower cover	-0.03	0.03	94	-1.02	-0.06	0.31
RAA infestation	W-P flower cover	-0.07	0.01	94	-6.43	-0.34	<0.001
RAA infestation	I-P flower diversity	0.92	0.20	94	4.70	0.16	<0.001
RAA infestation	W-P flower diversity	-0.83	0.24	94	-3.46	-0.18	<0.001
CM damage	Parasitoids wasps	0.00	0.00	13.30	0.32	0.02	0.58
CM damage	I-P flower cover	-0.01	0.00	13.86	13.14	-0.25	<0.001
CM damage	RAA infestation	0.00	0.00	20.58	0.28	0.05	0.60
CM diapausing larvae	CM damage	6.52	1.61	28	4.06	0.23	<0.001
CM diapausing larvae	Parasitoids wasps	-0.08	0.07	28	-1.15	-0.03	0.25
CM diapausing larvae	RAA infestation	-0.20	0.10	28	-2.06	-0.59	0.04
~I-P flower cover	~I-P flower diversity	0.36	-	106	3.92	0.36	<0.001
~W-P flower cover	~W-P flower diversity	0.55	-	106	6.75	0.55	<0.001



We hypothesized that :

- (1) Insect-pollinated flowers (cover and diversity) improve the abundance of beneficial insects (Kishinevsky et al., 2017; Mei et al., 2021).
 - (2) Wind-pollinated flowers (cover and diversity) can promote beneficial insects, as a source of pollen or potential habitat (Dong et al., 2021 ; Saunders, 2018).
 - (3) Honeybees abundance negatively impacts other beneficial insect groups (Jeavons et al., 2020).
 - (4) Hoverflies have a negative effect on rosy apple aphid infestation (Moerkens et al., 2021; Dib et al., 2011).
 - (5) Parasitoids have a negative effect on rosy apple aphid infestation (Rodriguez-Gasol et al., 2019).
 - (6) Parasitoids observed in spring have a negative impact on the first generation of codling moth (Martínez-Sastre et al., 2021).
 - (7) RAA infestation conducts to distorted apples (i.e. sign of aphid damage) (Blommers, 2004).
 - (8) A high density for the first generation of codling moth conducts to a high number of larvae for the third generation.
 - (9) We observed a correlation between I-P flower cover and diversity as well as between W-P flower cover and diversity.
- Thus, we included correlated errors.

FIGURE 2.S2 – Initial pSEMs and associated hypotheses. A : Initial pSEM related to interactions between beneficial insects and spontaneous flowering vegetation ; B : Initial pSEM related to cascading effects on pest regulation. I-P flowers : Insect pollinated flowers ; W-P flowers : Wind pollinated flowers ; RAA : Rosy Apple Aphid ; CM : Codling moth.

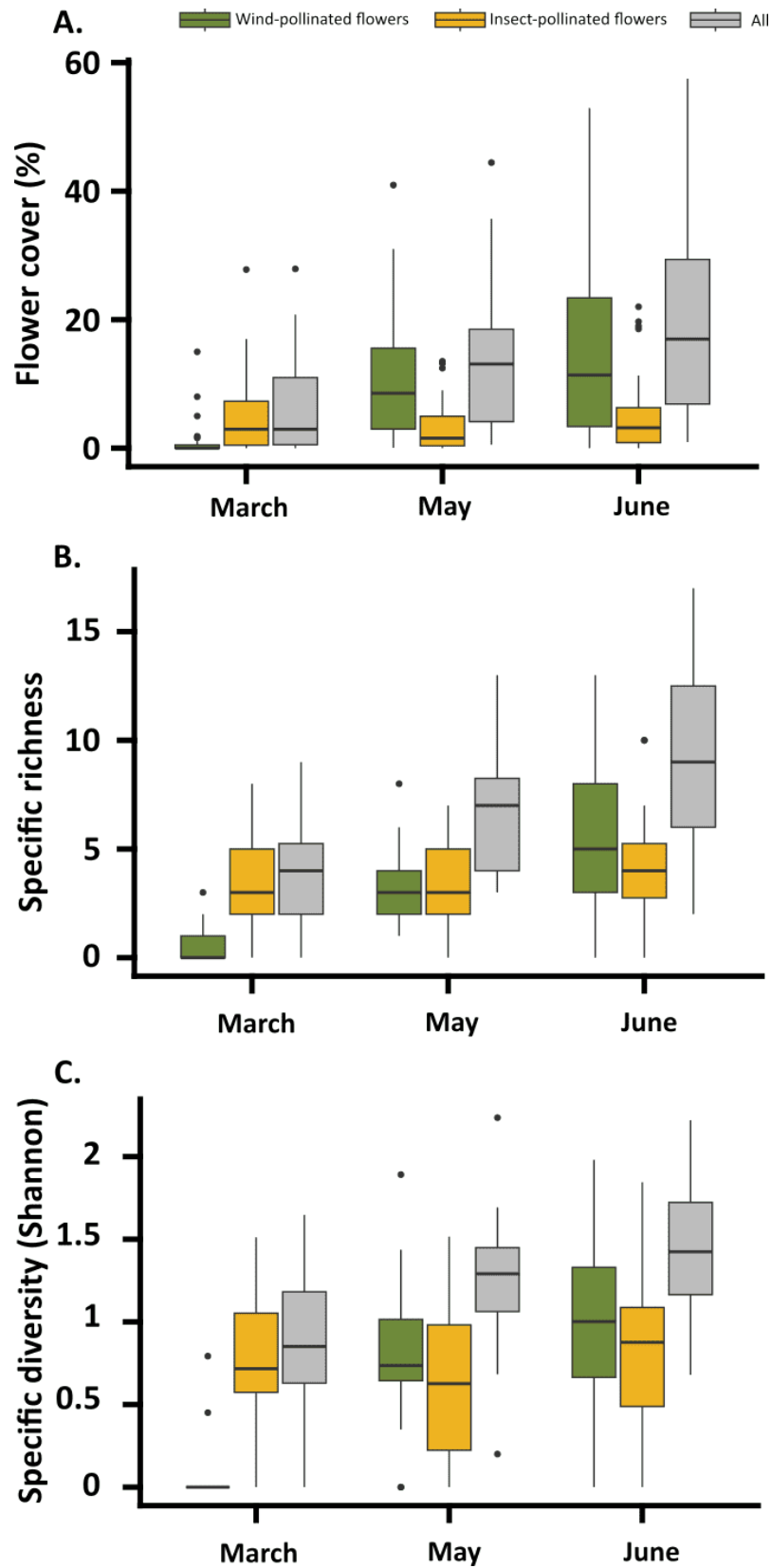


FIGURE 2.S3 – Temporal dynamics from Mars to June of the percentage of (A) flower cover, (B) specific plant richness and (C) Shannon plant diversity.



Des plantes "communes" pour améliorer le parasitisme du puceron cendré

Résumé

Certaines espèces d'hyménoptères parasitoïdes contribuent au service de contrôle biologique en se développant au dépend d'insectes ravageurs. Une fois adulte, ils s'alimentent principalement de nectar. Il est donc attendu que l'ajout de plantes à fleurs dans les parcelles agricoles favorise les hyménoptères parasitoïdes, et renforce le parasitisme des insectes ravageurs. Cependant, il n'est pas toujours évident de savoir si les espèces végétales présentes dans les parcelles agricoles attirent des espèces de parasitoïdes effectivement impliquées dans la régulation des ravageurs ciblés.

L'objectif de ce chapitre était d'évaluer les effets de trois espèces végétales - *Capsella bursa-pastoris*, *Veronica persica* et *Vicia sativa* – sur le recrutement des parasitoïdes et sur le parasitisme du puceron cendré (*D. plantaginea*). Ces trois espèces végétales sont relativement communes dans les vergers de notre zone d'étude (chapitre 2). Elles ont été sélectionnées sur la base de différents traits floraux : elles fleurissent suffisamment tôt dans la saison, par rapport au pic d'infestation de *D. plantaginea*, elles ont été documentées comme étant visitées par des Braconidae et leur nectar offre des quantités de sucres contrastées. Nous les avons semées en pied d'arbre à l'automne 2021, selon un dispositif en blocs aléatoires dans deux vergers expérimentaux (8 blocs, 32 placettes et 64 pommiers suivis). Des relevés de terrain ont eu lieu tous les 15 jours, d'avril à juin 2021, pour collecter les hyménoptères parasitoïdes visitant ces plantes à fleurs et évaluer la densité de puceron cendré dans les pommiers, ainsi que l'abondance de prédateurs généralistes et de momies et la présence de fourmis dans les colonies de pucerons. Nous avons ensuite combiné identification morphologique et *barcoding* pour caractériser les communautés de parasitoïdes collectés dans les placettes de fleurs. Nous avons notamment cherché à déterminer si ces espèces végétales attiraient des espèces de parasitoïdes susceptibles d'attaquer le puceron cendré du pommier, *D. plantaginea*.

Les résultats montrent que les communautés de parasitoïdes diffèrent entre les trois espèces végétales testées. Sur l'ensemble de la saison, les espèces d'hyménoptères parasitoïdes impliquées dans la régulation de *D. plantaginea* (i.e. *Aphidius matricariae* et *Ephedrus persicae*) représentaient 6% de l'abondance totale des parasitoïdes et étaient principalement associées aux placettes de *V. persica*. Nous avons observé un taux de parasitisme plus élevé dans les pommiers associés à *V. persica* par rapport aux arbres témoins. Toutefois, les espèces végétales testées n'ont eu aucun effet sur l'abondance de *D. plantaginea* et les dégâts associés dans les pommiers, ni sur les prédateurs généralistes et les fourmis observés dans les colonies de pucerons. Nos résultats soulignent donc la nécessité d'une identification détaillée des hyménoptères parasitoïdes pour évaluer la contribution des espèces végétales au service de contrôle biologique.

Characterisation of parasitoid wasp communities on three flowering plant species and implications for rosy apple aphid regulation (*Dysaphis plantaginea*) in apple orchards.

Ludivine Laffon¹, Armin Bischoff², Françoise Lescourret¹, Dominga Mujica-Fuentes¹, Jérôme Olivares¹, Bruno Rasmussen¹, Jean-Yves Rasplus³ and Pierre Franck¹

¹ PSH, National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment, INRAE, 84000 Avignon, France

² Mediterranean Institute of Biodiversity and Ecology, IMBE, Avignon University, CNRS, IRD, Aix-Marseille University, IUT, Agroparc, 84000 Avignon, France

³ CBGP, INRAE, CIRAD, IRD, Montpellier SupAgro, Université de Montpellier, Montpellier, France

Abstract

Parasitoid wasps contribute to biological control services but adults are highly dependent on floral resources. Adding flowering plants in crop fields may promote parasitoid wasps and pest parasitism. However, it is not always clear whether the addition of flowering plants attracts parasitoid species involved in pest control. Here, we used apple orchards as a model system. The rosy apple aphid (*Dysaphis plantaginea*) is one of the main apple pests and several parasitoid species (mainly *Ephedrus persicae* and *Aphidius matricariae*) contribute to its regulation. In a factorial experiment, we analysed the effects of three plant species differing in nectar content (*Capsella bursa-pastoris*, *Veronica persica* and *Vicia sativa*) on parasitoid wasp recruitment and *D. plantaginea* parasitism. We combined morphological and molecular identification to characterise the parasitoid communities associated with each plant species.

Parasitoid communities were different between the three plant species. Over the whole season, parasitoid wasp species involved in *D. plantaginea* regulation accounted for 6% of the total parasitoid abundance and were mainly associated with *V. persica* plots. We observed a higher parasitism rate in apple trees associated with *V. persica* compared to control trees without vegetation. Plant treatments had no effect neither on the abundance of *D. plantaginea* in apple trees, nor on generalist predators and ants observed in aphid colonies. Sugar contents in flower nectar may be not essential to promote aphid biological control in apple orchards. Our results highlight the need for detailed identification of parasitoid wasps to assess the efficacy of flowering plants in promoting pest parasitism.

Key-words : Conservation biological control ; barcoding ; parasitism ; floral resources.

1. Introduction

Parasitoid wasps play a critical role in agroecosystems as natural enemies of pest insects and thus contribute to biological control services. Adult parasitoid wasps feed mainly on floral resources (Lu et al., 2014) and access to nectar positively affects their longevity (M. Russell, 2015). Nectar consumption also affects the fecundity of synovigenic parasitoids, that mature eggs throughout their adult life. A low-carbohydrate diet often produces smaller, nutrient-poor eggs, reduced maturation time, and even egg resorption (Benelli et al., 2017). Adequate and sufficient floral resources are thus needed to increase the longevity and fecundity of parasitoid wasps. Adding flowering plants (*e.g.* flower strips, companion plants or cover crops) within or around crop fields is a potential strategy to promote parasitoid wasps and strengthen biological control service (Shields et al., 2019). This approach also benefits other groups of natural enemies such as hoverflies, lacewings or ladybugs (Boetzel et al., 2021; Haaland, Naisbit & Bersier, 2011).

The suitability and attractiveness of flowering plants sown within or close to crop fields need to be carefully verified (F. Wäckers, 2004). In recent years, studies have focused on floral traits to provide recommendations beyond species identity (Gardarin et al., 2018; Perović et al., 2018). The attractiveness of flowering plants mainly relies on the colour and morphology of their flowers, their flowering period as well as the nutritional characteristics of the floral resources (Gardarin, Pigot & Valantin-Morison, 2021). Using local and spontaneous flowering plant species has also gained attention to promote biological control (Fiedler, Landis & Wratten, 2008; Laffon et al., 2024; Zaviezo & Muñoz, 2023). Common wild flowering plants are well adapted to local conditions and can be highly effective to favour beneficial insects (Balfour & Ratnieks, 2022; Blaix et al., 2018; Wignall et al., 2023). Several studies have been conducted to better evaluate the attractiveness of local wild flowering plants for natural enemies (Denis et al., 2021; Gibson et al., 2019; Lundin, Ward & Williams, 2019; Retallack, Thomson & Keller, 2019, *e.g.*), but cascading effects on insect pests and associated damage need to be better explored (Zaviezo & Muñoz, 2023).

It is not always clear whether flowering plants attract parasitoid species that are involved in insect pest regulation. Flower-visiting parasitoid wasps are often considered as a single group or identified at family level (Aparicio et al., 2021; Campbell et al., 2012; Mateos-Fierro et al., 2021; Saunders & Luck, 2018, *e.g.*). A more accurate identification of flower-visiting parasitoids is thus needed but parasitoid wasps are challenging to identify, mainly because of their high diversity and the lack of taxonomic expertise (Forbes et al., 2018; K. Miller, Polaszek & Evans, 2021; Polaszek & Vilhemsen, 2023). The identification of parasitoid wasps collected from flowers may be facilitated by molecular tools such as

barcoding even though results still need to be cross-checked using existing databases on morphological traits. Barcoding is based on the amplification and sequencing of a genomic region common to the species of interest (Hebert et al., 2003). The method has been used to study interactions between parasitoid wasps and their hosts (K. Miller, Polaszek & Evans, 2021), but less commonly to describe communities of parasitoid wasps visiting flowers.

Here, we used apple orchards as a model system. Apple is the most harvested and exported fruit in Europe (Eurostat, 2017) and apple orchards show a high frequency of pesticide treatments (Agreste, 2021). The rosy apple aphid *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera : Aphididae) is one of the major apple pests, causing curled leaves and distorted apples, and thus economic losses in apple production (Blommers, Helsen & Vaal, 2004). Primary aphid parasitoids belong mainly to the subfamily Aphidiinae (Hymenoptera : Braconidae) and to Aphelininae (Hymenoptera : Aphelinidae) (Boivin, Hance & Brodeur, 2012). Several Aphidiinae species use the rosy apple aphid (RAA) as host. *Ephedrus* Haliday and *Aphidius* Nees are the main genera involved in RAA parasitism. *Ephedrus persicae* Froggatt was the dominant species reported in several European studies (Bribosia et al., 2005; Dib et al., 2010; Peusens, Buntinx & Gobin, 2006) and (Rodríguez-Gasol et al., 2019) observed that more than 90% of the parasitoids identified in *D. plantaginea* colonies were *Aphidius* spp., mainly *Aphidius matricariae* Haliday. Other parasitoid species, belonging to the genera *Lysiphlebus* Förster, *Binodoxys* Mackauer or *Trioxyys* Haliday, may also attack RAA but are less common (Dib et al., 2010; Turpeau, Hullé & Chaubet, 2010). The effect of flowering plant species on parasitoid species attacking RAA has been studied (Rodríguez-Gasol et al., 2019; Tougeron et al., 2023), but their flower preferences remain poorly understood.

In addition to parasitoid wasps, several groups of predators (*e.g.* hoverflies, ladybirds, spiders or earwigs) contribute to RAA regulation (Dib et al., 2010; Lefebvre et al., 2017; Rodríguez-Gasol et al., 2019). Complementarity between parasitoid wasps and generalist predators is sometimes observed and may result in a more efficient pest suppression (Gontijo, Beers & Snyder, 2015). However, generalist predators may also consume parasitoids (fragoInteractionsParasitoidsHigher2016,traugottGeneralistPredatorsDisrupt2012, and certain parasitoid species attack generalist predators such as ladybugs, hoverflies or spiders (Fei, Gols & Harvey, 2023). Furthermore, ants maintain a mutual relationship with aphids and may affect the performance of natural enemies (Cockfield et al., 2011; Miñarro, Fernandez-Mata & Medina, 2010; Stewart-Jones et al., 2007). All these interactions can enhance or disrupt the provision of biological control services. The effect of flowering plants on RAA biological control must therefore be evaluated in relation to the whole arthropod

community, including parasitoid wasps, generalist predators and ants (Albert et al., 2017).

The overall aim of this study was to determine whether common wild flowering plant species can attract and promote parasitoid wasps and predators involved in RAA regulation, with particular emphasis on communities of parasitoid wasps. We selected three flowering plant species commonly found in apple orchards (*Capsella bursa-pastoris* Medik., *Veronica persica* Poir. and *Vicia sativa* L.) that produce very different amounts of sugars (Baude et al., 2016) and that are commonly observed in apple orchards (Laffon et al., 2024). These three flowering plant species were separately planted in monospecific stands close to apple trees. The specific objectives of this study were (i) to characterise the parasitoid wasp communities associated with each plant species, (ii) to assess the effect of plant species on RAA parasitism, generalist predator abundance and ant occurrence in apple trees. We hypothesised that plant species producing the highest sugar content would attract the greatest number of parasitoid wasps and would favour RAA parasitism in the apple tree. In addition, by providing sugar, the flowering plants may also disturb ant occurrence in aphid colonies and indirectly favour RAA biological control by predators in addition to the parasitoid wasps.

2. Material and methods

2.1. Experimental apple orchards

The study was conducted in 2022 in two apple orchards at INRAE research station in Avignon, south-eastern France. Orchards were located in a peri-urban area surrounded by other experimental orchards, in particular peach trees, and bordered by a hedgerow at the northern edge. Orchards were managed without insecticides for more than ten years. The first orchard (0.2 ha) was planted in 2004 and had six rows of apple trees (Ariane variety). The second orchard (0.2 ha) was planted in 2010 and had ten rows of apple trees (Gala and Granny, five rows for each variety). Apple trees and flowering plants were irrigated by a sprinkler system.

2.2. Selection of the flowering plant species

Tested flowering plant species were selected among species of the spontaneous vegetation commonly observed in apple orchards (Laffon et al., 2024). We selected three plant species : *Capsella bursa-pastoris* Medik. (Brassicaceae), *Veronica persica* Poir. (Plantaginaceae) and *Vicia sativa* L. (Fabaceae). They start to flower before mid-May (i.e. when peak infestation of RAA occurs) and are known to be visited by several taxa of parasitoid wasps, including Braconidae (Araj & Wratten, 2015; Dib, Libourel & Warlop, 2012; Gardarin, Pigot & Valantin-Morison, 2021). According to Baude et al., 2016, these plant species

produce very different sugar quantities, with 0.4 $\mu\text{g}/\text{flower}/\text{day}$ for *C. bursa-pastoris*, 31.6 $\mu\text{g}/\text{flower}/\text{day}$ for *V. persica* and 300.3 $\mu\text{g}/\text{flower}/\text{day}$ for *V. sativa* in average. *V. sativa* additionally produces extrafloral nectar.

2.3. Experimental design

These three flowering plant species were analysed as different plant treatments using a randomised block design (Fig.3.1). Eight replicate blocks were defined to account for spatial heterogeneity in the apple orchards, including microclimatic conditions, apple varieties and distances to hedgerows. Within each block, apple trees with homogeneous trunk circumferences were selected to limit vigour heterogeneity between the apple trees. Blocks were separated by at least 8m in each orchard. Each block comprised four plots : one plot per tested flowering plant species and a negative control (bare soil). Treatments were randomised within blocks. Plots corresponded to two adjacent apple trees surrounded by 3 m² of each plant species or bare soil. The minimum distance between two plots was 4m. In total, there were thirty-two plots including sixty-four monitored apple trees.

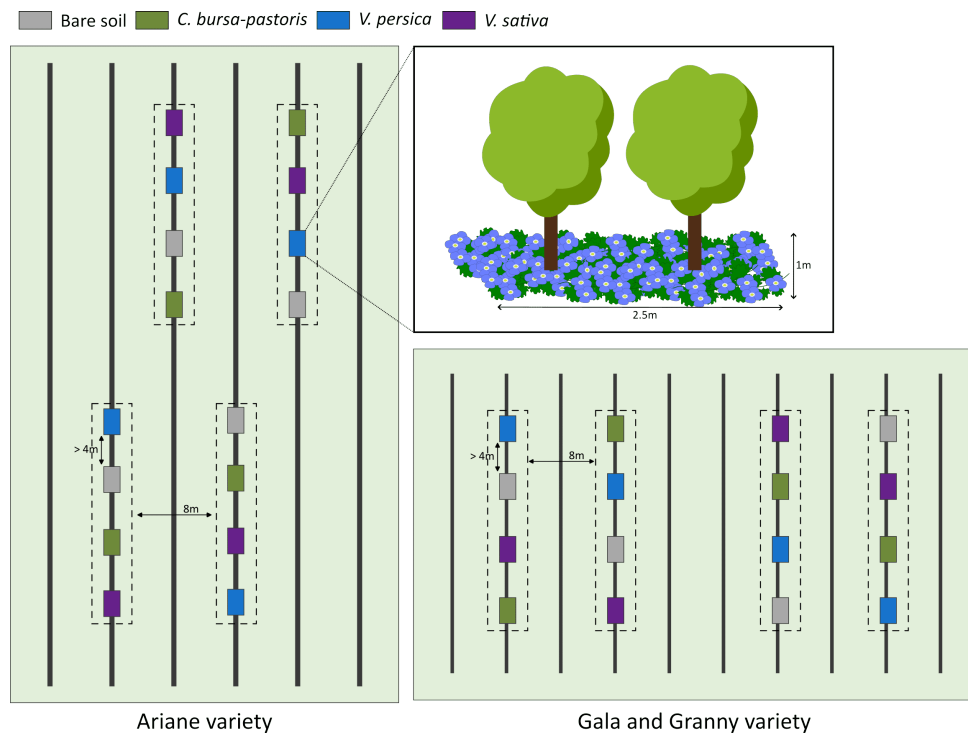


FIGURE 3.1 – **Experimental design.** The three companion plants *Capsella bursa-pastoris*, *Veronica persica* and *Vicia sativa* were intercropped with apple trees in two experimental apple orchards (eight replicate plots per treatment in a randomized block design). Bare soil was used as negative control. Each plot comprised two apple trees framed by 3m² of one of the companion plants or bare soil.

The seeds of flowering plant species are labelled “végétal local” indicating local provenance and were supplied by a seed company in south-eastern France (Phytosem, Gap, France). They were sown in October 2021 (sowing density : 2.4g/m² for *V. persica* and *C. bursa-pastoris* and 4.5g/m² for *V. sativa*). Germination was monitored regularly until February 2022. Since poor emergence resulted in unoccupied gaps, particularly in *C. bursa-pastoris* plots, seedlings were additionally grown in a greenhouse in February 2022 and transplanted into these gaps in early March 2022. All seedlings were watered and monitored daily for the first three weeks to obtain sufficient establishment. In control plots, all vascular plants were removed manually each week. Inter-row vegetation and field edges were mown once a month to prevent non-sown plants from flowering.

2.4. Field surveys

Five survey sessions were conducted fortnightly from April to June 2022.

2.4.1. Surveys in the flowering plant plots

At each session, the total number of flowers per m² was recorded in each plot. We counted the number of individual flowers of *V. persica* and *V. sativa* and the number of inflorescences of *C. bursa-pastoris*. Extrafloral nectaries of *V. sativa* were also counted.

We then recorded the abundance of arthropods visiting plots. The overall abundance of arthropods may indicate potential competition with parasitoids to access floral resources (Campbell et al., 2012). Arthropods were counted for 5 minutes in each plot, taking care not to disturb them (slow movements, avoiding shadow on the plot). Then, we used a hand net to collect parasitoid wasps (four strokes per plot). Samples were kept in 8mL tubes with 70°% ethanol prior to further identification. All observations and net samples were taken between 9 :00 am and 2 :00 pm during sunny or slightly cloudy days with a low wind speed and a temperature above 15°C.

2.4.2. Surveys on apple trees associated with companion plants

On each apple tree of the monitored plots, we estimated the total number of rosy apple aphids (RAA). During the first session, we marked one randomly selected colony per tree. At each session, we counted the number of aphids in each marked colony and the total number of RAA colonies per tree. We multiplied the number of RAA per colony (average per plot) by the number of RAA colonies per tree to estimate the total number of RAA per tree and session.

We recorded the abundance of earwigs (Dermaptera : Forficulidae), hoverfly larvae (Diptera : Syrphidae), ladybug adults and larvae (Coleoptera : Coccinellidae), spiders (Ara-

neae) and the number of RAA mummies observed in all RAA colonies (marked and unmarked) on each tree. We thus obtain the total abundance of generalist predators and RAA mummies per tree and session. We also recorded the presence and absence of ants (Hymenoptera : Formicidae) in RAA colonies on each tree. At the end of June, the proportion of apples presenting aphid damage (*i.e.* distorted apples) was measured.

2.5. Parasitoid identification

Our aim was to determine whether the tested flowering plants attract parasitoid species involved in the regulation of *D. plantaginea*. Parasitoid wasps collected by netting in flowering plant plots were sorted in the laboratory and identified to family level (Delvare, 1989; Goulet, Huber & Canada, 1993). We combined morphological and molecular identification to identify more precisely Braconidae species. Non-destructive Chelex®100 (Biorad) based DNA extraction was performed on all parasitoid wasps belonging to the family of Braconidae, which allows for a morphological re-examination following sequencing. PCR amplifications were performed with the LepF1/LepR1 primers targeting a specific fragment of the cytochrome c oxidase subunit 1 gene (COI, 658 bp), using a Mastercycler thermocycler (Eppendorf). The reaction mixture included in 30 µL PCR reaction volume containing 1X Flexi® buffer, 1U of Taq polymerase, 200 µM of each dNTP, 2 mM MgCl₂, 100µg/mL BSA, 0.4 µM of each primer, and 3 µL of DNA template. PCR conditions starts with an initial denaturation step of 3 min at 95 °C followed by 35 cycles 30 s at 95°C, 45 s of annealing at 56°C, and 1min of elongation at 72 °C. The amplification products were sequenced using the Sanger method at Eurofins MWG Operon. The sequences obtained were manually checked and assembled using BioEdit sequence alignment software (T. Hall, Ibis biosciences & Carlsbad, 2011) and then compared to published sequences in the Barcode Of Life Data (BOLD) System V4 database (Ratnasingham & Hebert, 2007) for identification at genus or species level. Identification was considered as valid when the similarity was greater than 98%. Below this threshold the specimens were considered unidentified. Finally, the morphological identification of the *Aphidius* specimens was confirmed by a parasitoid wasp taxonomist (JYR). We considered all the parasitoids identified as *Aphidius matricariae* and *Ephedrus persicae* as involved in RAA parasitism (Turpeau, Hullé & Chaubet, 2010).

2.6. Statistical analysis

All analyses were conducted using R (R Core, 2023) version 4.2.0. We evaluated differences in floral unit abundance between the three flowering plant treatments using Kruskal–Wallis rank tests followed by Dunn’s test for multiple comparisons (R package : PMCMRplus, Pohlert, 2023).

We calculated the Spearman correlations between all studied variables (Fig. 3.S1). Generalized linear mixed models (GLMM) (R package : lme4, Bates et al., 2015) were used to analyse the effect of tested plants on the total abundance of arthropods per plot, the abundance of parasitoid wasps per plot, the abundance of generalist predators per tree, the presence of ants, the estimated number of aphids per tree and RAA parasitism rate per tree. In all GLMMs, treatment (tested plants and bare soil) was considered as fixed factor. Session and block were included as random factors to account for spatial and temporal autocorrelation. Abundances were tested using Poisson distribution and log-link function. In case of over-dispersion, a negative binomial distribution (*log link* function) was applied. RAA parasitism rate was evaluated using the ‘*cbind*’ function (number of mummies per tree, number of unparasitized RAA per tree), assuming a binomial error distribution with logit-link function. Similarly, ant occurrence was modelled using a binomial error distribution. To account for possible density-dependence effects, the models included the quantity of available resources as a covariate. When the response variable was measured on flower plots (*i.e.* the total abundance of arthropods or the abundance of parasitoid wasps), we included the number of floral units as covariate. For *V. sativa*, the number of individual flowers and the number of extrafloral nectaries were highly correlated ($\rho = 0.85$; $p < 0.001$). We therefore used the number of floral units as an indicator of available floral resources. When the response variable was recorded in apple trees (number of generalist predators per apple tree, occurrence of ants and parasitism rate), we used the estimated number of RAA per tree as a covariate. Both covariates (floral units and RAA number) were scale-transformed. Model assumptions were checked graphically (R package : *DHARMa*, Hartig, 2022). Type II tests were performed for each model, followed by multiple comparisons using Tukey HSD test (R package : *multcomp*, Hothorn, Bretz et Westfall, 2008). Finally, we evaluated differences in apple damage (*i.e.* proportion of distorted apples per tree) between treatments using Kruskal–Wallis rank tests.

The composition of parasitoid communities was assessed at family level and at genus level for Braconidae. The abundance of each parasitoid wasp taxon per plot was added over the whole season. To visualise differences in parasitoid community composition among the three tested plants, we used non-metric multidimensional scaling (NMDS) based on Bray-Curtis dissimilarity. Differences in parasitoid communities were then tested using an Analysis of Similarity (ANOSIM) with 9999 permutations (R package : *vegan*, Oksanen et al., 2022). Finally, we conducted a multilevel analysis of pattern with 9999 permutations (R package : *indicspecies*, function : *multpatt*, De Cáceres et Legendre, 2009). The ‘*multpatt*’ function shows parasitoid taxa that are significantly associated to flowering plant treatments ($p < 0.05$). The analysis was applied to recorded abundances per plot and

session and to cumulative abundances over the whole season in each plot.

3. Results

3.1. Flower and arthropod abundances on flower plots

The number of floral units was on average 36.8/m² ($\pm$ SE = 5.9) for *C. bursa-pastoris*, 73.8/m² ($\pm$ 12.3) for *V. persica* and 82.9/m² ($\pm$ 16.7) for *V. sativa*. Flowering peaks of *V. sativa* and *V. persica* were observed in late April during the second survey session, while the flowering peak of *C. bursa-pastoris* occurred in early May during the third session (Fig. 3.2). The number of floral units differed significantly between plant treatments. We recorded a higher number of floral units in *V. sativa* plots than in *C. bursa-pastoris* plots at the first (H=16.98, df=2, p<0.001) and the second session (H=10.46, df=2, p=0.005). The number of floral units was lower in *V. sativa* plots than in *V. persica* and *C. bursa-pastoris* plots at the fourth session (H=15.69, df=2, p<0.001). Finally, at the last session, the number of floral units was higher in *C. bursa-pastoris* plots than in *V. persica* and *V. sativa* plots (H=20.13, df=2, p<0.001).

Over the whole season, we recorded 494 arthropods (parasitoid wasps : 148, hoverflies : 16 ; bees : 4 ; butterflies : 21, other flies : 142, others : 163) by visual observations on flower and control plots. The total number of arthropods was significantly influenced by the plant treatment (Table 3.1). We recorded a higher number of arthropods in the sown than in the control plots (10 times higher in *V. sativa* plots, 6 times higher in *V. persica* plots and 3 times higher in *C. bursa-pastoris* plots). Significant differences were also observed between plants, with higher numbers of arthropods recorded on *V. sativa* and *V. persica* plots compared to *C. bursa-pastoris* plots and higher numbers of arthropods recorded on *V. sativa* plots than on *V. persica* plots (Fig. 3.2). These differences were significant with and without correcting by the number of floral units (Fig.3.S2 and 3.S3).

3.2. Parasitoid wasp communities

We collected 315 parasitoid wasps with on average 0.22 ($\pm$ 0.11) individuals on control plots, 1.46 ($\pm$ 0.38) on *C. bursa-pastoris* plots, 3.05 ($\pm$ 0.41) individuals on *V. persica* plots and 3.2 ($\pm$ 0.70) individuals on *V. sativa* plots. The total number of parasitoid wasps was significantly influenced by the treatment (Table 3.1). We collected a higher number of parasitoid wasps on flower plots than on control plots (14 times higher on *V. sativa* plots, 13 times higher on *V. persica* plots and 6 times higher on *C. bursa-pastoris* plots). We also collected significantly more parasitoid wasps from *V. persica* and *V. sativa* plots than from *C. bursa-pastoris* plots. Again, these differences were significant with and without correcting by the number of floral units (Fig. 3.S2).

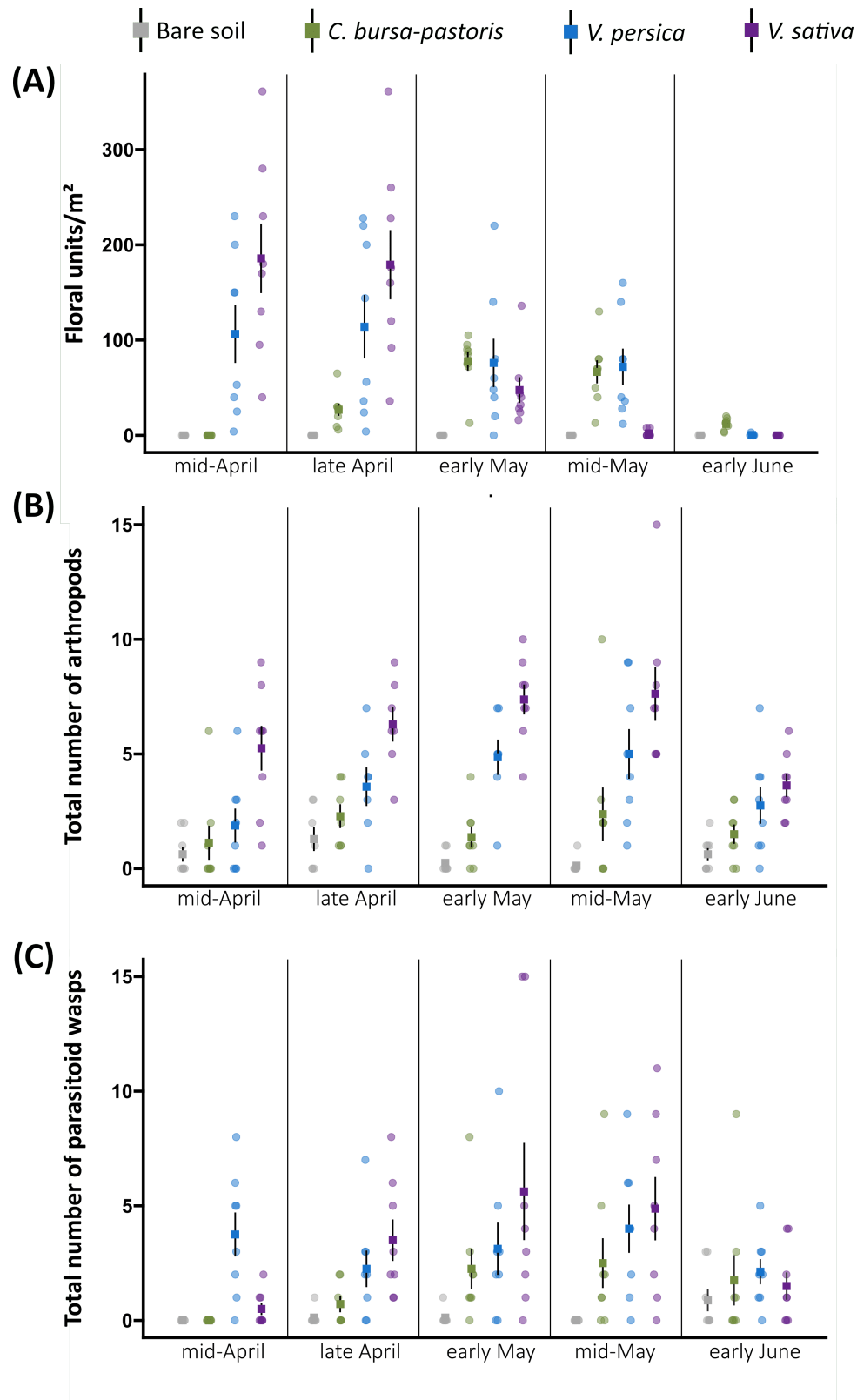


FIGURE 3.2 – Dynamic of (A) the number of floral units per m², (B) the total number of arthropods per plot and (C) the abundance of parasitoid wasps per plot for each treatment (companion plants or bare soil). Squares represent the mean value for each session and bars represent standard errors.

TABLE 3.1 – Results of the generalised linear mixed models (GLMM) analysing the effects of companion plants corrected by the number of floral units (co-variate) or by RAA abundance (co-variate). χ^2 : chi-square test statistic, df : degrees of freedom, p : p-value.

		Arthropod abundance	Parasitoid wasps	Aphids	Generalist predators	Ants	Parasitism rate
Treatment	χ^2	145.89	43.01	5.97	2.71	2.34	10.92
	df	3	3	3	3	3	3
	p	<0.001	<0.001	0.11	0.44	0.51	0.01
Nb of floral units	χ^2	5.32	0.82				
	df	1	1				
	p	0.02	0.37				
RAA abundance	χ^2				5.58	6.93	15.41
	df				1	1	1
	p				0.02	0.008	<0.001

The 315 parasitoid wasps belonged to 16 families, 51 genera and 30 species (Fig. 3.S2). The NMDS ordination showed significant differences in the parasitoid communities at the family level between plant treatments (Fig.3.3), which is confirmed by the corresponding ANOSIM test ($R = 0.18$, $p = 0.009$). Multilevel pattern analysis showed that Ichneumonidae and Pteromalidae were significantly associated with *V. persica* and *V. sativa* plots ($p=0.01$ and $p=0.04$; Fig. 3.3 and Table 3.S1). Braconidae was the most abundant family in all plant treatments and accounted for 48% of the total abundance (Fig. 3.3). The COI full barcode was successfully amplified from 147 adult Braconidae (96 % of the total) and 123 individuals were assigned to the genus level above the 98 % threshold in the BOLD database.

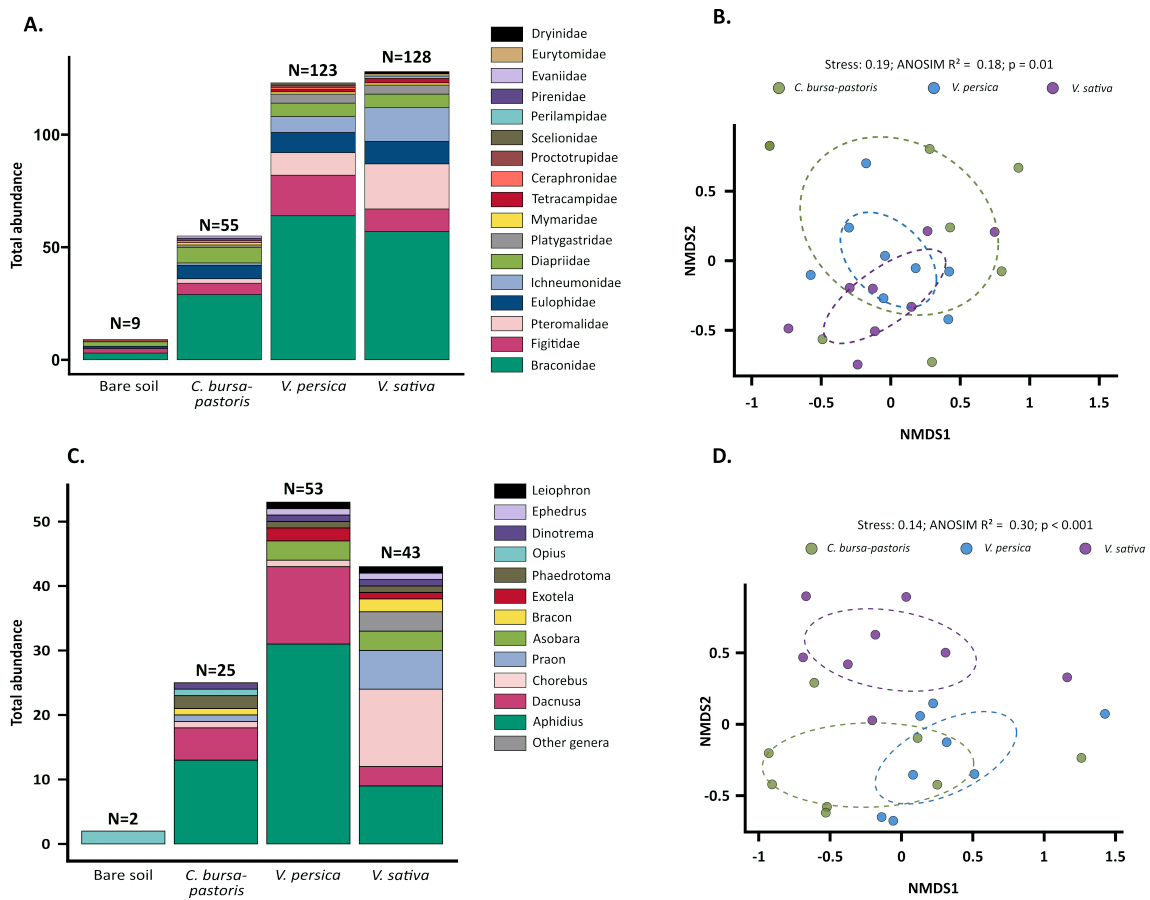


FIGURE 3.3 – Comparison of parasitoid communities between three companion plant treatments. (A) Total number of parasitoid wasps collected for each family and by treatment. (B) Non-metric multidimensional scaling (NMDS) plots showing divergence between companion plants at the family level. (C) Total number of Braconidae collected for each genus and by treatment. Other genera are Ascogaster, Cotesia and Orthostigma with only one individual each (D) Non-metric multidimensional scaling (NMDS) plots showing divergence between companion plants for Braconidae, at the genus level.

We identified 15 Braconid genera. Among them, *Aphidius*, *Dacnusa* and *Chorebus* were the most abundant ones, accounting for 34%, 13% and 9% of total Braconidae abundance (Fig. 3.3). NMDS ordination and ANOSIM test showed a significant difference in Braconidae communities at genus level between plants ($R = 0.12$, $p < 0.001$; Fig. 3.3). *Aphidius* was identified as significantly associated with *V. persica* and *C. bursa-pastoris* plots ($p=0.009$) and *Chorebus* was identified as an indicator of *V. sativa* plots ($p=0.003$). We identified nine *Aphidius* species, with *A. matricariae* and *A. rhopalosiphi* being the most abundant species (Fig. 3.4). Among the recorded *Aphidius* species, only *Aphidius matricariae* attacks RAA. Combined with *Ephedrus* spp., the parasitoid wasps involved in RAA parasitism accounted for 19 individuals, corresponding to 6% of the total abundance of parasitoid wasps and 57% of RAA parasitoids (11/19) were observed on *V. persica* plots.

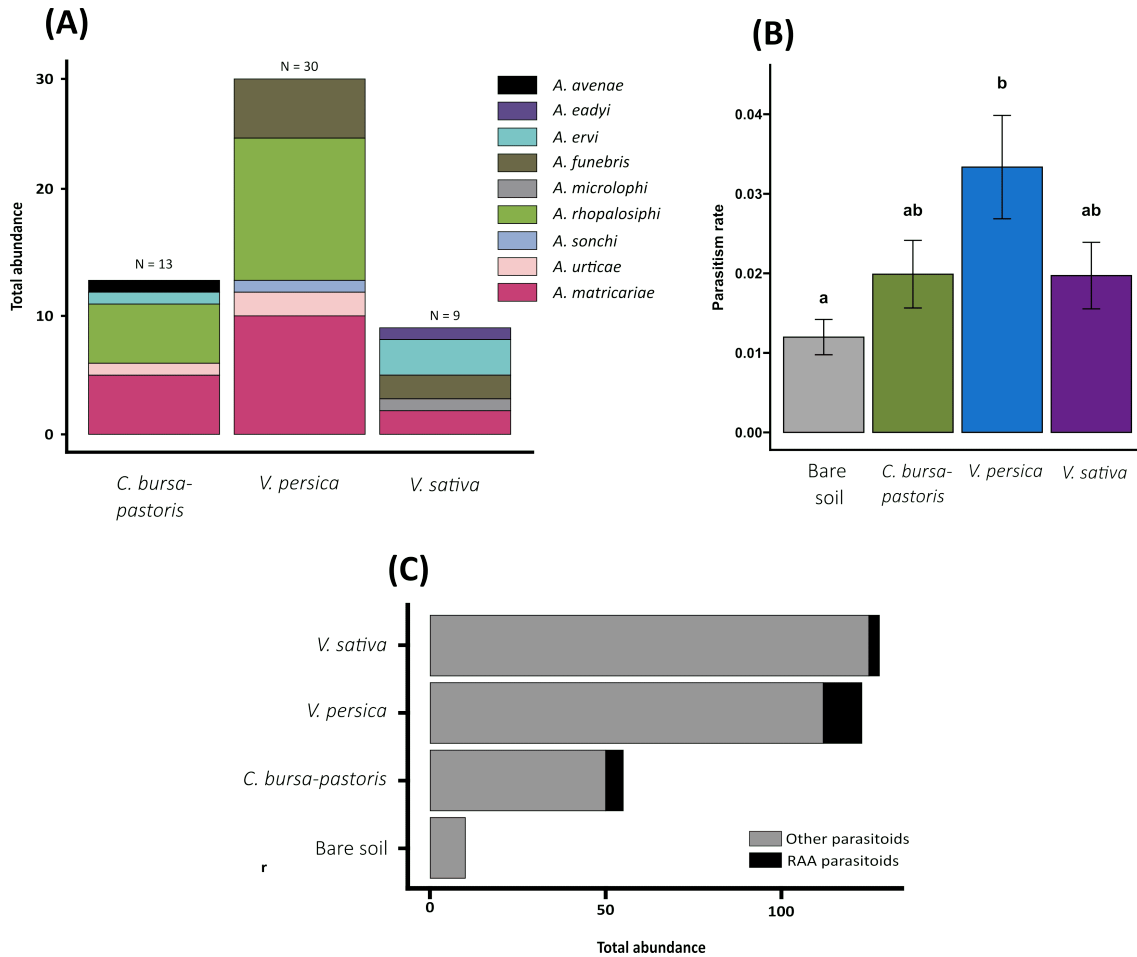


FIGURE 3.4 – *Aphidius* species and parasitoid wasps involved in RAA regulation. (A) Total number of *Aphidius* species by treatment. (B) Model-averaged predictions ($\pm$ SE) of the effect of companion plant treatments on RAA parasitism corrected by the number of RAA per tree. Bars indicate standard errors. Different letters indicate significant differences between treatments ($p < 0.05$). (C) Total abundance of parasitoid wasps involved in RAA regulation (sum of *A. matricariae* and *E. persicae*) and total abundance of other parasitoids.

3.3. RAA, parasitism, predators and ants in apple trees

We estimated an average number of 32.9 (± 6.7) RAA per colony and session and of 92.7 (± 20.8) per tree and session. The peak of infestation was observed during the second session (mid-April) on apple trees associated with *C. bursa-pastoris* and during the third session (early May) for the other treatments (Fig.3.5). No effect of the plant treatment on the estimated RAA number was detected (Table 3.1). Over the whole season, we recorded 239 generalist predators in RAA colonies (hoverfly larvae : 25, ladybug larvae : 6, ladybug adults : 17, earwigs : 177 and spiders : 14). Ants were found in 26.4% (± 9.3) of monitored apple trees. Generalist predator abundances and ant occurrence were not affected by the plant treatment, but significantly and positively affected by the RAA abundance (Table 3.1). On average, we recorded 0.35 (± 0.11) mummies per marked colony per session and 0.21 (± 0.21) per tree and per session. The parasitism rate was 4.9% (± 1.4) per tree and per session, ranging from 0 to 66.7%. The plant treatment had a significant effect on the parasitism rate (Table 3.1). The number of mummies in RAA colonies was 2.7 times higher on apple trees associated with *V. persica* than in control plots (Fig.3.5). Accordingly, parasitism rate was higher on trees associated with *V. persica* compared to control trees (Fig. 3.4). Plant treatment had no effect on the proportion of distorted apples ($p = 0.25$). The proportion of damaged apples per tree was very low ranging from 0 to 6%.

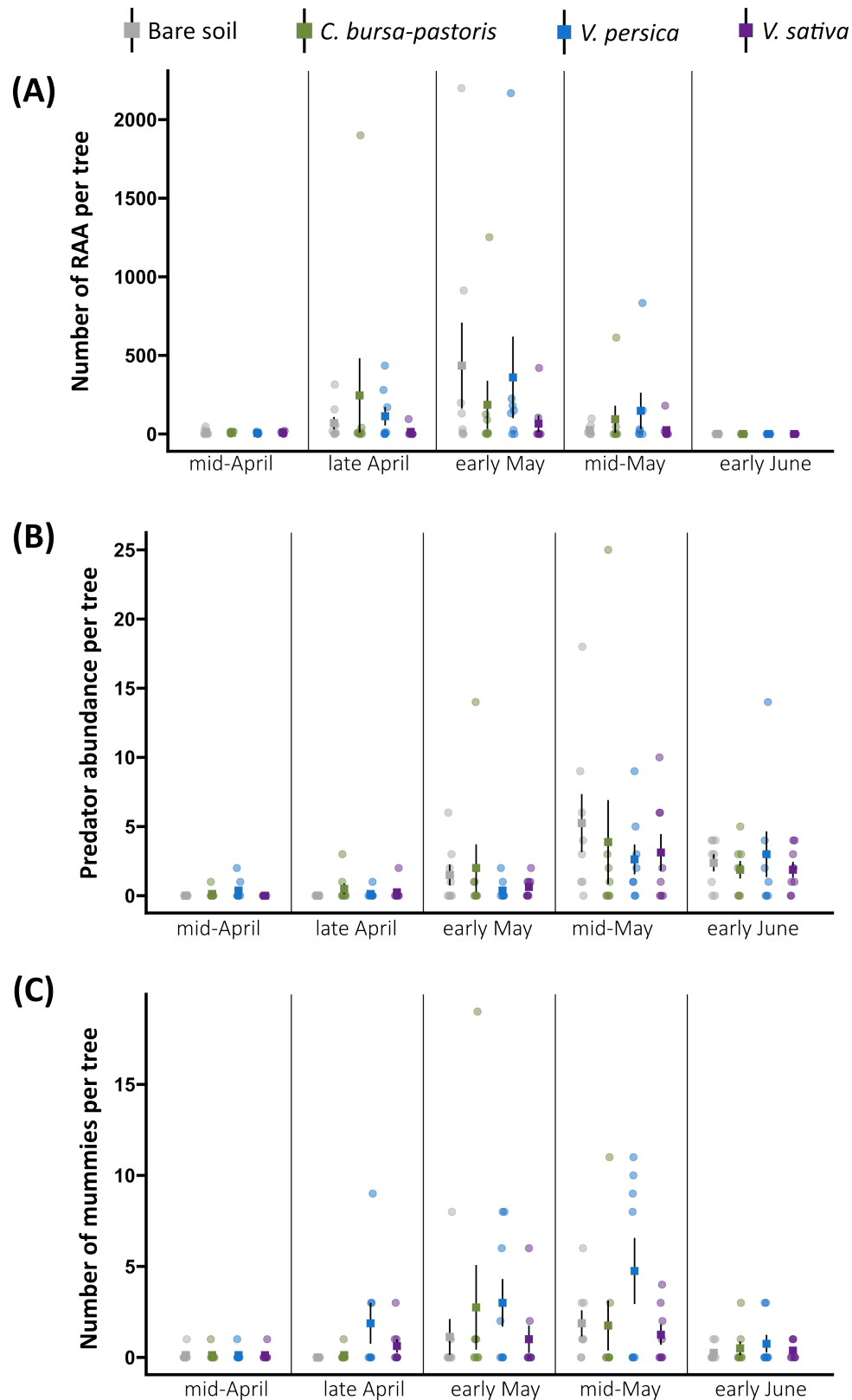


FIGURE 3.5 – **Dynamic of variables recorded on apple trees.** (A) the estimated number of RAA per tree, (B) the abundance of predators per tree, (C) the number of mummies per tree for each treatment (companion plants or bare soil). Predators and mummies were counted in all colonies on each tree. Squares represent the mean value for each session and bars represent standard errors.

4. Discussion

We analysed the effects of three flowering plant species (*Capsella bursa-pastoris*, *Veronica persica* and *Vicia sativa*) on parasitoid wasp recruitment and RAA parasitism. Effects on generalist predators and ants in RAA colonies were also evaluated. The parasitoid communities differed between the three flowering plants. Several parasitoid families (Ichneumonidae and Pteromalidae) or genera (*Chorebus* and *Aphidius*) were strongly associated with plant species (indicators), but these taxa are not directly related to RAA parasitism. The total abundance of parasitoid wasps involved in RAA parasitism was low (6%). We observed higher RAA parasitism in apple trees associated with *V. persica* compared to control trees, but plant treatments had no effect on generalist predators and ants recorded in apple trees or on the abundance of RAA.

V. sativa and *V. persica* plots attracted the greatest number of arthropods and we also collected a greater number of parasitoid wasps on these flower plots. These differences were significant with and without correcting by the number of floral units, which means that the effect of plant treatments cannot be explained by the number of floral units alone. These results may be related to the quantity of sugar produced by *V. persica* and *V. sativa* flowers. Previous studies showed that high sugar content was associated with a greater number of insect visitors (Fowler, Rotheray & Goulson, 2016; Mallinger & Prasifka, 2017). Moreover, the relationship between abundance of insect visitors and sugar quantity was stronger when the number of flowers increased (Fowler, Rotheray & Goulson, 2016). Other floral traits, such as plant height and structural heterogeneity may also favour sugar feeding by parasitoids (Mockford et al., 2022).

Ichneumonidae and Pteromalidae families were mainly associated with *V. persica* and *V. sativa* plots. Zemenick et al., 2019 observed that large parasitoid species, such as most Ichneumonidae, tend to be more specialised than smaller parasitoid species. Several species belonging to the family Pteromalidae are hyperparasitoids (Cockfield et al., 2011; Dib et al., 2010), and their higher abundance on *V. persica* and *V. sativa* plots may be related to the occurrence of primary parasitoids in these plant species. On the three tested flowering plants, the dominant family was Braconidae. Braconidae were also dominant among flower-visiting parasitoid wasps in other studies (Burgio et al., 2016; Dib, Libourel & Warlop, 2012; Karamaouna et al., 2019). At the genus level, we observed significant differences in Braconidae communities between plant treatments. *Aphidius* was mainly associated with *C. bursa-pastoris* and *V. persica* plots and *Chorebus* was mainly collected on *V. sativa* plots. While *Aphidius* species attack aphids, *Chorebus* species are mainly known to parasitize Diptera species (mainly Agromyzidae and Ephydriidae, Shaw et Huddleston,

1991). Several floral traits may explain the differences observed in community composition between the three plants species, such as flower colour, ultraviolet reflectance or presence of extra-floral nectaries (Hatt et al., 2018). The occurrence of different hosts may also explain the differences in abundance and composition of Braconidae communities between the flowering plant species (Boivin, Hance & Brodeur, 2012). Similarly, Zytynska et al., 2021 showed that the diversity of aphids on non-crop plants plays a greater role in the recruitment of natural enemies than the provision of floral resources. The higher abundance of *Aphidius* spp. in *V. persica* plots may thus be related to the presence of other aphid species, not recorded in this study.

The parasitism rate of RAA was low for all plant treatments, but consistent with other studies in apple orchards (Albert et al., 2017; Dib et al., 2010). We measured the parasitism rate by counting the number of mummies, but this variable may underestimate the real rate of parasitism, as parasitised RAA tend to leave the colony (Tougeron et al., 2023; Ward et al., 2022). The parasitism rate was significantly higher on apple trees associated with *V. persica* compared to control trees. Most of the parasitoids involved in RAA regulation were recorded in *V. persica* plots, but their abundance remained low (9% of all the parasitoid wasps collected on *V. persica*). This may explain the low magnitude of the observed effect. Furthermore, we identified only two individuals belonging to *Ephedrus persicae* on flower patches, although this species is described to be dominant in RAA colonies of European orchards (Bribosia et al., 2005; Dib et al., 2010; Peusens, Buntinx & Gobin, 2006). These results suggest that the three tested plant species have a small or no effect on RAA parasitoid recruitment. More generally, aphid parasitoids may be more adapted to honeydew sugars and thus less dependent on flowers than parasitoids of hosts that do not produce honeydew (Luquet et al., 2021). Accordingly, Goelen et al., 2018 showed that *A. matricariae* consumed preferentially sugars commonly occurring in honeydew. More detailed analyses of the food preferences of RAA parasitoids are needed, for example by comparing the different sugar sources available in apple orchards.

We did not observe any effect of the sown plant species on the density of RAA, the abundance of predators, or the occurrence of ants. The abundance of predators and the occurrence of ants were mainly explained by the density of aphids in the apple trees. The most abundant generalist predators observed in RAA colonies were earwigs. Earwigs are less dependent on floral resources than other groups of RAA natural enemies such as hoverflies, ladybirds or lacewings (Cahenzli et al., 2019). This may explain the absence of plant treatment effects on the abundance of predators. In agreement with these lacking effects of treatment on predators, aphid abundance was not significantly different between treatments. The distance between flowering plant plots may have been too low to observe

effects of the plant treatment on RAA parasitism. The distance was sufficient to observe differences in arthropod visits on flower plots (as in Campbell et al., 2012; Garbuzov et Ratnieks, 2014; Warzecha et al., 2018 with 1 to 4m between plots), but natural enemies may fast move to other patches after floral resource consumption without necessarily moving into adjacent apple trees (Heimpel, 2019; Miall et al., 2021). Long-term dynamics may also explain the dilution effect observed across the trophic chain, with a positive effect of flowering plant species on parasitoid wasp abundances but no apparent effect on pest suppression and a small effect on RAA parasitism. For example, Krimmer et al., 2022 showed that newly established flowering infrastructures (1-2 years old) had a lower effect on parasitism than older flowering infrastructures (5-6 years old).

To conclude, we demonstrated great differences between the tested flowering plants in flower visiting arthropods, parasitoid abundance and parasitoid community composition. However, the proportion of parasitoid species attacking RAA was relatively small (6% of the total abundance). Consequently, the differences in RAA parasitism were only significant between the control plots without vegetation and the sown plant species with highest parasitoid abundance (*V. persica*). These results show that detailed identification of parasitoid wasps visiting flowering plant species is needed to assess the recruitment of parasitoid taxa involved in target pest parasitism and thus to better evaluate the efficacy of flowering plant species in promoting pest regulation.

Acknowledgements

We thank Mathieu Gales for technical assistance in setting up the experiment. We are grateful to Nicolas Borowiec for his valuable help with the identification of parasitoid wasps.

Author contributions

LL, PF, AB and FL conceived and designed the study; LL and DM performed field work; BR, JO, DM and JYR identified parasitoid wasps; DM and LL analysed data and LL drafted the manuscript. All authors revised critically and approved the final manuscript.

Funding

LL's PhD grant was funded by INRAE (SPE department), and by the Region Sud Provence-Alpes-Côte d'Azur. Additional fundings were obtained by the 2P3P (SFR Tersys) and the FRAMEwork (European Union's Horizon H2020 research and innovation programme under grant agreement No 862731) projects.

Supplementary tables and figures

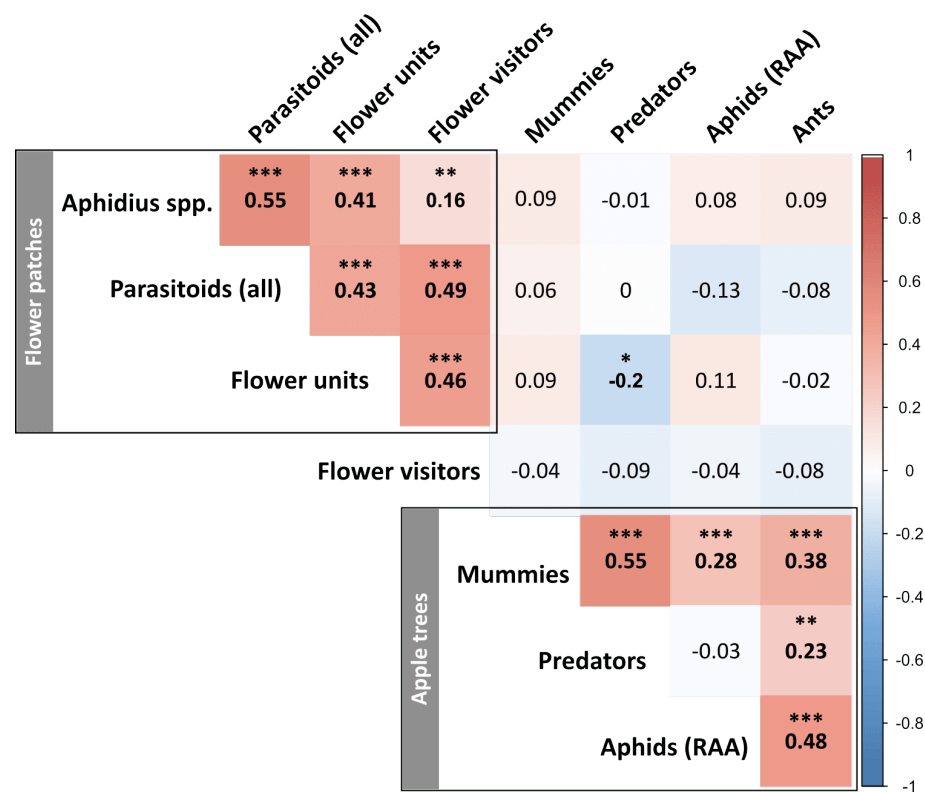


FIGURE 3.S1 – Spearman’s rho correlation matrix of all measured variables. Positive correlations are in red and negative correlations are in blue. The colour intensity is proportional to the correlation coefficient. Stars indicate significant relationships (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$). Boxes indicate where the variables were measured (on the flower patches or in the apple trees).

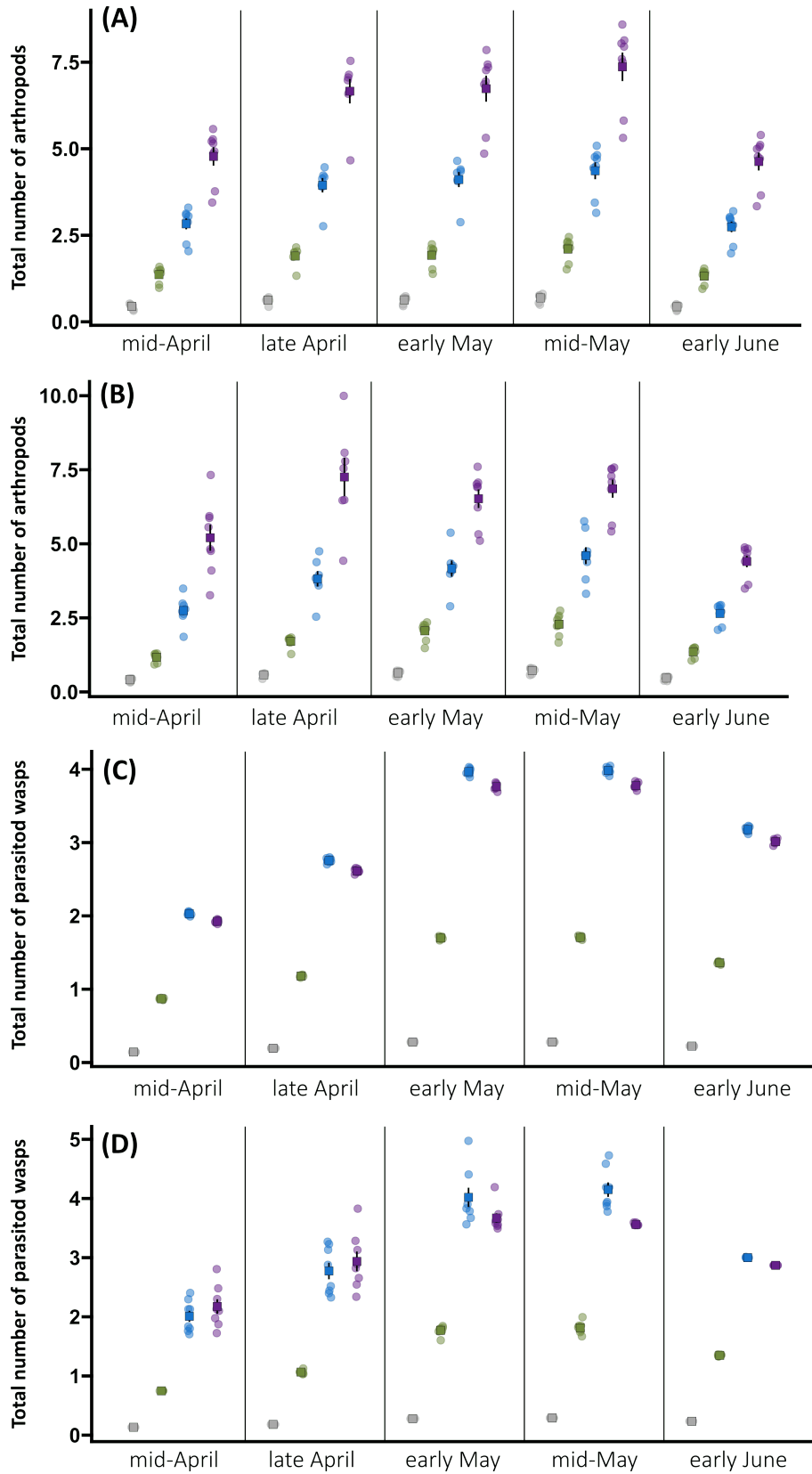


FIGURE 3.S2 – **Model-averaged predictions of the effect of plant treatments** on (A and B) the number of arthropods observed per plot per session and (C and D) on the number of parasitoid wasps collected per plot per session. Plots A and C include no correction and plots B and D include correction by the number of floral units. Squares represent the mean value for each session and bars represent standard errors.

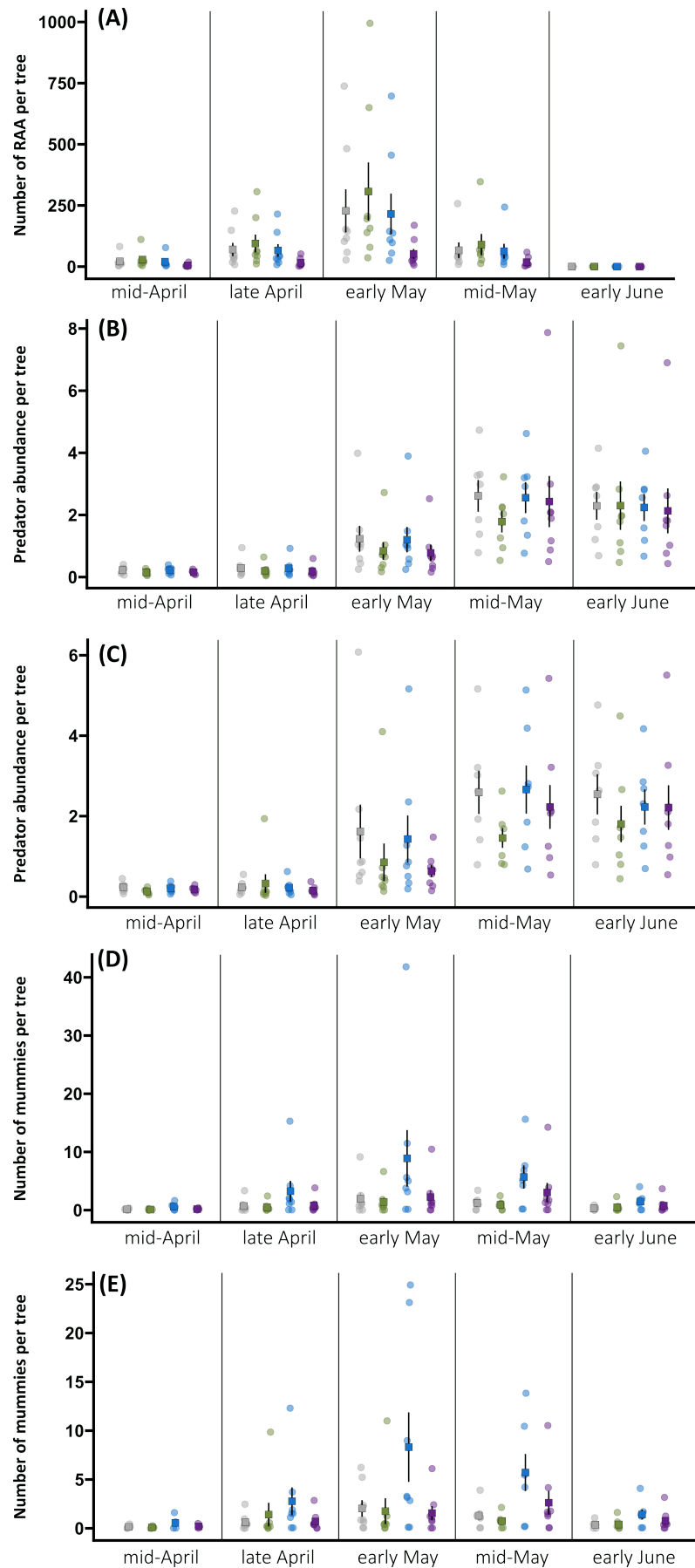


FIGURE 3.S3 – **Model-averaged predictions of the effect of plant treatments on** (A) the number of RAA per tree, (B and C) the number of generalist predators per tree and (D and E) the number of mummies per tree. Plots A, B and D include no correction and plots C and E include correction by the number of RAA per tree. Squares represent the mean value for each session and bars represent standard errors.

TABLE 3.S1 – **Results of multilevel analysis of pattern per plot (all sessions) and per plot per session.** Analyses were performed using the ‘multpatt’ function (R package : indicpecies), with 9999 permutations. The ‘multpatt’ function shows parasitoid taxa that are significantly associated with flowering plant species or flowering plant species combinations ($p < 0.05$).

	Taxa	Groups	Indicator value	p
Per plot (all sessions)	Pteromalidae	<i>V. persica</i> and <i>V. sativa</i>	0.87	0.01
	Ichneumonidae	<i>V. persica</i> and <i>V. sativa</i>	0.77	0.04
	<i>Chorebus</i>	<i>V. sativa</i>	0.86	<0.001
Per plot per session	<i>Chorebus</i>	<i>V. sativa</i>	0.56	0.003
	<i>Aphidius</i>	<i>V. persica</i> and <i>C. bursa-pastoris</i>	0.71	0.009

TABLE 3.S2 – List of parasitoid wasp taxa collected on each treatment over the whole season. CTRL : Bare soil, CBUR : *C. bursa-pastoris*, VPER : *V. persica* and VSAT : *V. sativa*.

Famille	Sous-famille	Genre	Species	CTRL	CBUR	VPER	VSAT
Ceraphronidae				0	1	1	0
				0	0	1	0
Eulophidae	Entedoninae			1	7	8	10
				1	3	1	6
				1	0	0	0
				0	0	1	1
				0	0	0	2
				0	1	0	2
	Eulophinae			0	3	5	3
				0	3	4	3
				0	0	1	0
	Tetrastichinae			0	0	2	0
				0	0	2	0
Eurytomidae	Eurytominae		<i>Eurytoma</i> Illiger, 1807	0	0	0	1
Mymaridae				0	1	1	1
				0	1	0	0
				0	0	1	1

Table 3.S2 continued from previous page

Perilampidae	Perilampinae	<i>Perilampus</i> Latreille, 1809	<i>P. tristis</i> Mayr, 1905	0	0	0	1
Pirenidae	Trydiminae	<i>Gastrancistrus</i> Westwood, 1833		0	0	0	1
Pteromalidae				0	2	10	19
	Miscogastrinae			0	0	6	12
		<i>Seladerma</i> Walker, 1834		0	0	0	2
		<i>Sphegigaster</i> Spinola, 1811		0	0	0	1
		<i>Sphaeripalpus</i> Förster, 1841	<i>S. viridis</i> Förster, 1840	0	0	0	2
		<i>Stictomischus</i> Thomson, 1875		0	0	5	7
	Pteromalinae			0	2	4	5
		<i>Mesopolobus</i> Westwood, 1833		0	1	0	2
		<i>Trichomalus</i> Thomson, 1878		0	1	4	2
			<i>T. campestris</i> Walker, 1834	0	1	1	2
Tetracampidae				0	0	1	2
	Tetracampinae	<i>Epiclerus</i> Haliday, 1844		0	0	1	2
			<i>E. panyas</i> Walker, 1839	0	0	0	1
			<i>E. nomocerus</i> Masi, 1934	0	0	1	1
Dryinidae				0	0	0	1
Figitidae				3	6	18	9
	Charipinae			0	2	1	1
		<i>Alloxysta</i> Förster, 1869		0	2	1	1

Table 3.S2 continued from previous page

		<i>A. victrix</i> Westwood, 1833	0	1	0	0
	<i>Phaenoglyphis</i> Förster, 1869	<i>P. villosa</i> Hartig, 1841	1	0	0	0
Eucoilinae			0	0	4	3
	<i>Kleidotoma</i> Westwood, 1833		0	0	1	0
		<i>K. tetratoma</i> Thomson, 1862	0	0	1	0
	<i>Trybliographa</i> Förster, 1869		0	0	3	1
Diapriidae			2	7	6	6
	Belytinae		0	0	0	2
	Diapriinae		2	7	6	4
	<i>Spilomicrus</i> Westwood, 1832		0	1	0	0
Evaniidae			0	1	0	0
Braconidae			3	29	63	58
	Alysiinae		0	7	19	22
	<i>Asobara</i> Förster, 1862		0	0	3	3
	<i>Chorebus</i> Haliday, 1833		0	1	1	12
		<i>C. bathyzonus</i> Marshall, 1895	0	0	1	0
		<i>C. misellus</i> Marshall, 1895	0	0	0	1
	<i>Dacnusa</i> Haliday, 1833		0	5	12	3
		<i>D. macrospila</i> Haliday, 1839	0	0	2	0
	<i>Dinotrema</i> Förster, 1862		0	1	1	1

Table 3.S2 continued from previous page

	<i>Exotela</i> Förster, 1862		0	0	2	1
	<i>Orthostigma</i> Ratzeburg, 1844		0	0	0	1
Aphidiinae			0	13	30	9
	<i>Aphidius</i> Nees, 1819		0	13	30	9
		<i>A. avenae</i> Haliday, 1834	0	1	0	0
		<i>A. eadyi</i>	0	0	0	1
		<i>A. ervi</i> Haliday, 1834	0	1	0	3
		<i>A. funebris</i> Mackauer, 1961	0	0	5	2
		<i>A. matricariae</i> Haliday, 1834	0	5	10	2
		<i>A. microlophi</i>	0	0	0	1
		<i>A. rhopalosiphi</i> D-S Perez, 1902	0	5	12	0
		<i>A. sonchi</i> Marshall, 1896	0	0	1	0
		<i>A. urticae</i> Haliday, 1834	0	1	2	0
	<i>Ephedrus</i> Haliday, 1833	<i>E. persicae</i> Froggatt, 1904	0	0	1	1
	<i>Praon</i> Haliday, 1833		0	1	0	6
		<i>P. volucre</i> Haliday, 1833	0	1	0	2
		<i>P. yomenae</i> Takada, 1968	0	0	0	4
Braconinae	<i>Bracon</i> Fabricius, 1804		0	1	0	2
Cheloninae	<i>Ascogaster</i> Wesmael, 1835	<i>A. quadridentata</i> Wesmael, 1835	0	0	0	1
Euphorinae	<i>Leiophron</i> Nees, 1819		0	0	1	1

Table 3.S2 continued from previous page

Microgastrinae		<i>Cotesia</i> Cameron, 1891	0	0	0	1
Opiinae			2	3	1	1
		<i>Opius</i> Wesmael, 1835	2	1	0	0
		<i>Phaedorotoma</i> Förster, 1862	0	2	1	1
Ichneumonidae			0	1	7	15
	Campopleginae		0	0	2	2
		<i>Bathyplectes</i> Förster, 1869	0	0	0	1
		<i>Campoletis</i> Förster, 1869	0	0	1	0
		<i>Olesicampe</i> Förster, 1869	0	0	1	1
	Cryptinae		0	0	1	2
		<i>Bathythrix</i> Förster, 1869	0	0	0	1
		<i>Phygadeuon</i> Gravenhorst, 1829	0	0	1	1
	Diplazontinae		0	0	0	5
		<i>Diplazon</i> Nees, 1818	0	0	0	2
			0	0	0	1
		<i>Syrphophilus</i> Dasch, 1964	0	0	0	1
		<i>Woldstedtius</i> Carlsson, 1979	0	0	0	1
	Orthocentrinae		0	0	0	1
		<i>Stenomacrus</i> Förster, 1869	0	0	0	1
Platygastridae	Platygastrinae	<i>Platygaster</i> Latreille, 1809	0	1	3	5

Table 3.S2 continued from previous page

Scelionidae	0	0	1	0
Proctotrupidae	1	0	1	0



4 Des plantes aromatiques pour améliorer le parasitisme du carpocapse

Résumé

Ce chapitre constitue un pas de côté : il s'agit cette fois non plus d'étudier l'effet d'espèces végétales communes ou spontanées, mais l'effet de plantes aromatiques. L'article présenté ci-après correspond à la valorisation de données acquises au sein de l'unité PSH en 2019, dans le cadre du projet API-Tree.

L'étude concerne les effets de deux plantes aromatiques, le basilic (*Ocimum basilicum*) et les tagètes (*Tagetes patula*), sur le parasitisme du carpocapse. Des plants de basilic et de tagètes ont été disposés en pied d'arbres, dans un verger expérimental. Le ray-grass (*Lolium perenne*) servait de témoin négatif. Chaque semaine, de juin à octobre 2019, les larves de carpocapse ont été collectées à l'aide de bandes-pièges sur les arbres suivis. Leur émergence a ensuite été suivie jusqu'au printemps suivant.

Dans nos analyses, nous avons utilisé deux proxys pour mesurer le parasitisme du carpocapse : la proportion de petites larves au moment des collectes et la proportion de parasitoïdes adultes à l'émergence. Ces deux proxys sont significativement plus élevés sur les pommiers associés au basilic par rapport aux pommiers témoins. Le basilic semble donc favoriser le parasitisme des larves de carpocapse. Néanmoins, cela ne se traduit pas par une réduction des dégâts associés au carpocapse.

Ce chapitre a été publié dans *Insects*.

Laffon, L., Bischoff, A., Gautier, H., Gilles, F., Gomez, L., Lescourret, F. & Franck, P. (2022). Conservation Biological Control of Codling Moth (*Cydia pomonella*) : Effects of Two Aromatic Plants, Basil (*Ocimum basilicum*) and French Marigolds (*Tagetes patula*). *Insects*, Oct 6,13(10) :908. doi : 10.3390/insects13100908

Conservation biological control of codling moth : effects of two aromatic plants, basil (*Ocimum basilicum*) and Tagetes (*Tagetes patula*).

Ludivine Laffon ^{1,*}, Armin Bischoff ², Hélène Gautier ¹, Florent Gilles ¹, Laurent Gomez ¹, Françoise Lescourret ¹ and Pierre Franck ¹

¹PSH, National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment, INRAE, 84000 Avignon, France

²Mediterranean Institute of Biodiversity and Ecology, IMBE, Avignon University, CNRS, IRD, Aix-Marseille University, IUT, Agroparc, 84000 Avignon, France

*Corresponding author : ludivine.laffon1@gmail.com

Abstract

The addition of flowering companion plants within or around crop fields is a promising strategy to strengthen pest regulation by their natural enemies. Aromatic plants are frequently used as companion plants, but their effects on natural enemies remain unclear under field conditions. Here, we evaluated the effects of two aromatic plant species on the parasitism of the codling moth (*Cydia pomonella*) and the recruitment of predatory arthropods (spiders, earwigs) in a factorial field experiment. Apple trees were intercropped with basil (*Ocimum basilicum*), French marigolds (*Tagetes patula*), or ryegrass (*Lolium perenne*). The association between apple trees and *O. basilicum* increases codling moth parasitism, but does not affect arthropod predator abundances. Furthermore, we find a general negative effect of *T. patula* on arthropod diversities and abundances, including the pest and its natural enemies. Finally, changes in the parasitism rate and arthropod community structure due to the aromatic plants do not reduce codling moth density or associated apple damage. Further experiments are needed to determine the mechanisms involved in aromatic plant effects on pest repellence and on natural enemy recruitment (volatile organic compound composition, floral resource supply, or pest density dependence).

Keywords : conservation biological control, companion plants, parasitism, apple orchards

1. Introduction

Over the last decades, agricultural intensification led to an erosion of biodiversity (Dudley & Alexander, 2017). Notably, herbicide use and landscape simplification resulted in a loss of floral resources and homogenization of plant assemblages (Baude et al., 2016). The loss in plant diversity affects the structure and composition of arthropod communities involving a decline in abundance and diversity at higher trophic levels (Barnes et al., 2020). This decline led to a degradation of associated ecological functions such as pest biological control (Meehan et al., 2011). Conservation biological control approaches attempt to counterbalance this general trend through a change in farming practices and habitat management in order to improve the regulation of pest insects by their natural enemies. Adding flowering companion plants within and around crop fields is a promising strategy to strengthen pest regulation. First, flowering plant species provide food resources (nectar, pollen, alternative prey), shelter, and overwintering sites for natural enemies of pests (Gontijo, 2019). An increase in floral resources has repeatedly been shown to promote natural enemy abundance (Gontijo, Beers & Snyder, 2013; Tschumi et al., 2016). Second, pests may have more difficulties in finding crop plants because companion plants may disrupt host plant detection by visual or chemical masking (Ratnadass et al., 2012). Yet, flowering habitats are not always efficient in pest regulation (Campbell et al., 2017; McKerchar et al., 2020). The suitability and attractiveness of potential companion plants need to be carefully verified (F. L. Wäckers & van Rijn, 2012).

Aromatic plants are commonly used as companion plants. They do not represent a homogeneous taxonomic group, but are defined by their chemical properties, in particular volatile compounds corresponding to odors that may be used in medicine, food, or plant protection (Karpiński, 2020; Xie et al., 2021). They also have the agronomic advantage of being potentially marketable, contrary to other wildflower species (Hogg, 2011). The most studied aromatic plant species belong to the families of Apiaceae, Asteraceae, and Lamiaceae (Hatt et al., 2019).

Some aromatic plants are known to reduce pest populations on crop plants. In particular, plant species of Lamiaceae and Asteraceae families have been shown to act as a repellent for insect pests (Adeleye et al., 2021) or to reduce their fecundity (Jankowska, Poniedziałek & Jędruszczak, 2009) through the emission of volatile organic compounds. For example, the association between basil (*Ocimum basilicum* L.) and fava beans (*Vicia faba* L.) is a deterrent for the black bean aphid (*Aphis fabae* Scopoli) and reduces aphid abundance (Basedow, Hua & Aggarwal, 2006). Similarly, French marigolds (*Tagetes patula* L.) hamper whitefly (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood) population development on tomato plants

(Conboy et al., 2019).

Furthermore, aromatic plants can affect the recruitment of beneficial insects. Their volatile organic compounds may be attractive to natural enemies and their flowers may provide food resources (Togni et al., 2016). In several studies, aromatic plant species increase the abundance of predators (Fang et al., 2022) or pollinators in arable fields (Barbir et al., 2016). In particular, *O. basilicum* and *T. patula* are found to enhance arthropod predators' abundance and species richness in apple orchards, which contributes to improved regulation of aphid populations (Song et al., 2013).

In this study, we focus on the biological control of the codling moth *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera : Tortricidae), a pest causing high damage to various perennial crops worldwide, particularly in apple orchards (Blommers, Helsen & Vaal, 2004). It is a multi-voltine species, with several generations occurring during one year, depending on weather conditions and the host plant (Shel'Deshova, 1967). Females lay eggs on foliage. Larvae tunnel into apple fruits towards the seeds, feeding on fruit flesh and leaving frass on the surface (Audemard, 1991). Attacked fruits become unmarketable and usually fall on the ground before maturity.

Different taxa of arthropods contribute to the regulation of codling moths, starting with generalist predators such as spiders, earwigs, or carabid beetles (Unruh et al., 2016). Additionally, several parasitoid species (Hymenoptera) attacking different lifecycle stages of the codling moth have been identified (Cross et al., 1999). In Europe, the dominant parasitoid species are *Ascogaster quadridentata* Wesmael (Hymenoptera : Braconidae), *Pristomerus vulnerator* Panzer (Hymenoptera : Ichneumonidae), and *Trichomma enecator* Rossi (Hymenoptera : Ichneumonidae) (Cross et al., 1999).

Codling moth control by parasitoid wasps provides encouraging results under reduced pesticide use (Lacey & Unruh, 2005). Several factors may influence the parasitism rate, such as the provision of adequate nectar resources to adults (Mátray & Herz, 2022). Planting nectar-producing companion plants within orchards may increase parasitoid density and, thus, codling moth regulation. Aromatic plants such as Lamiaceae and Asteraceae species attract Braconidae and Ichneumonidae parasitoids (Belz, Kölliker & Balmer, 2013). Furthermore, laboratory experiments show a positive effect of *O. basilicum* and *T. patula* on parasitoid longevity (Rahat et al., 2005). However, the effects of aromatic plants on parasitoids have rarely been tested under field conditions (Hatt et al., 2019).

In our study, we aimed to evaluate the effect of basil (*O. basilicum*) and French marigolds (*T. patula*) on codling moth regulation. We addressed the following research questions : Does the addition of aromatic plants affect the abundance of codling moth larvae on apple

trees? Do aromatic plants increase codling moth parasitism rates? Do the tested aromatic plants affect other natural enemies in apple orchards?

2. Material & methods

2.1. Study site and experimental setup

The study was conducted in 2019, in an experimental apple orchard in Avignon, south-eastern France. The orchard (0.2 ha) was planted in 2007 and had six rows of apple trees (Ariane variety) irrigated by a sprinkler system. The inter-row distance was 4 m and the inter-tree distance was 1.5 m. The orchard is located in a peri-urban area. It is surrounded by other experimental sites (orchards, field crops, grassed area). No pesticides were applied during the experiment.

Two aromatic plant species were tested in association with apple trees : basil (*Ocimum basilicum* L., variety pistou à petites feuilles) and French marigolds (*Tagetes patula* L., variety nana). Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), which does not produce characteristic volatile organic compounds, was used as a negative control. Furthermore, it does not produce nectar as a food resource for adult parasitoids and is commonly sown to orchard inter-rows and margins. The three species were sown in November 2018 and grown in a greenhouse. Individual plants were first grown in small (7×7 cm) pots with a peat substrate, then transplanted in larger 4 L pots that were finally moved to the orchard in late March 2019. Pots were replaced during summer.

The effect of the treatment by aromatic companion plants on the biological control of codling moths was tested using a randomized block design (Fig. 4.1). Plots corresponded to two adjacent apple trees framed by 50 pots of one plant species, arranged on both sides along the row. The minimum distance between two plots was 4 m. Apple trees with homogeneous trunk circumference were selected to limit vigor heterogeneity among plots. The orchard was divided into six blocks to account for spatial heterogeneity within the orchard, such as distance to the hedgerow and differences in microclimate, which may affect the distribution of codling moth larvae and densities of arthropod predators (Ricci et al., 2011). Each block comprised three plots corresponding to companion plant treatments and treatments were randomized within blocks. In total, there were eighteen plots including thirty-six monitored apple trees (Fig. 4.2).

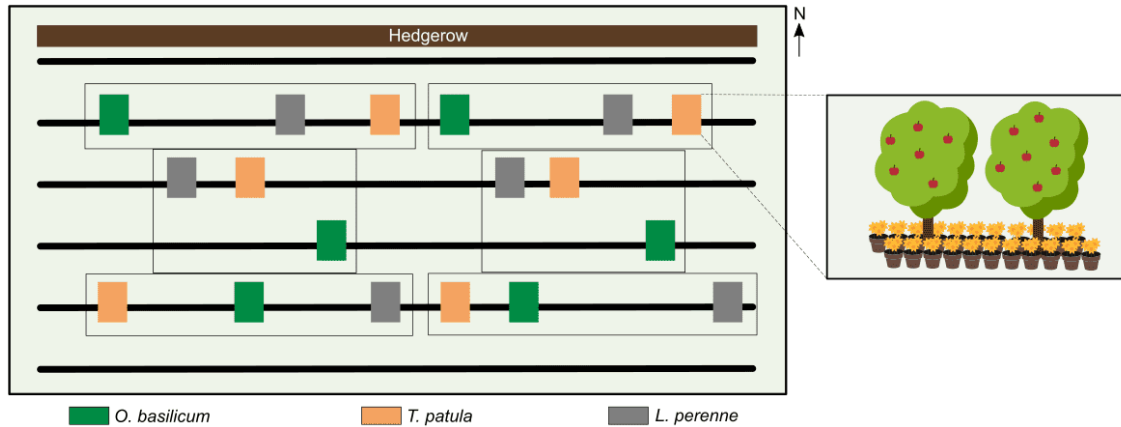


FIGURE 4.1 – **Experimental design.** The two aromatic plant species *Ocimum basilicum* and *Tagetes patula* were intercropped with apple trees in an experimental apple orchard (six replicate plots per treatment in a randomized block design). *Lolium perenne* was used as negative control. Each plot comprised two apple trees framed by 50 companion plants arranged on both sides.

2.2. Field surveys

The abundance of codling moth larvae and their predators was monitored throughout the season. Surveys were weekly conducted from May to October 2019 on all 36 trees (19 weeks in total). Codling moth larvae were collected with traps of 20 cm wide corrugated cardboard bands wrapped around the trunk of the apple trees (Maalouly, Franck & Lavigne, 2015). The cardboard was positioned about 50 cm from the ground, under the first scaffold branches. These traps intercept mature larvae moving along the trunk to search for pupation shelter or overwintering. Cardboard traps were removed, unfolded, and replaced every week. Codling moth larvae and pupae were counted in each cardboard trap.

Small larvae (<30 mg) were separated from big larvae. Small larva size is a reliable indicator of codling moth parasitism (Franck, Maalouly-Matar & Olivares, 2017). The proportion of small larvae was used as a proxy of parasitism rate.

Major predatory arthropods of codling moth were counted in cardboard traps (Happe et al., 2019; Lefebvre et al., 2017). All collected arthropod predators were identified to family level. All individuals in each arthropod family were counted. Forficulidae abundance was recorded using three abundance classes (A = 0–10, B = 10–20, and C = more than 20 individuals).

To estimate the proportion of apple damage caused by codling moth at harvest, all apples were counted on each tree, as well as apples with signs of codling moth damage (e.g., feeding holes, frass). Apples fallen on the ground at harvest were also counted.

2.3. Adult emergence monitoring

All collected codling moth larvae and pupae were placed in individual vials (2×2 cm) with a piece of cardboard and stored at 25 °C. Adult emergence was monitored daily from June until December 2019. The larvae that did not emerge in late fall (i.e., potentially diapausing larvae) were stored in an outdoor insectarium. Their emergence was monitored from April to June 2020. Emerging individuals may be either adult codling moths or parasitoids. Adult parasitoids were identified at species level using a specific determination key for larval parasitoids of codling moth (Athanasov et al., 1997).

2.4. Statistical analyses

All analyses were conducted using R version 4.0.3 (2020-10-10). All figures were made with *ggplot* and *ggprism* packages.

Generalized linear mixed models (GLMM) (R packages *lme4* and *MASS*) were used to test the effect of companion plants on the abundance of codling moth larvae, the proportion of small larvae, the ratio of adult parasitoids to adult codling moths, and the abundance of emerging parasitoids species. Companion plants (*O. basilicum*, *T. patula*, and *L. perenne*) intercropped with apple trees were considered as fixed factors. Block and sampling date were fitted as random factors. To account for possible density-dependence effects, GLMM included the quantity of available resources. When the response variable was the abundance of codling moth larvae, the number of apples per tree was included as an offset. For the ratio of adult parasitoids to adult codling moths and *A. quadridentata* abundances, total codling moth larvae abundance was used as a co-variable. As *P. tristis* is a hyperparasitoid, the number of small larvae was used as a co-variable.

In the same way, GLMMs were applied to estimated earwig abundance, spider abundance, and abundance of other predators. As earwig abundance was recorded using classes, the median of each interval class was used to obtain an estimated abundance. The taxonomic diversity (level : family) of arthropod predators captured in cardboard traps was evaluated using the Shannon–Wiener diversity index (without earwigs). Model family and link function were the same as those specified for parasitoids.

A linear mixed model (LMM) was used to test the effect of companion plants on codling moth damage percentage. Again, the effect of the companion plants was fitted as a fixed factor, and blocks as a random factor.

3. Results

3.1. Codling moth larvae and damages

In total, 1506 codling moth larvae are collected and 725 adult codling moths are recorded during emergence monitoring (Table 4). The total number of larvae collected per tree varies from 10 to 112, with an average of 41.8 (± 3.67) larvae. Codling moth abundance per tree and week varies significantly according to companion plant treatment ($\chi^2 = 8.85$, $df = 2$, $p = 0.012$). Multiple comparisons do not show significant differences between the control treatment and both tested aromatic plants. However, there is a significant difference between *T. patula* and *O. basilicum* treatments (Table 4). The average number of larvae per tree and week is 25% higher for apple trees near *O. basilicum* than on apple trees located near *T. patula* (Fig.4.2). On average, 53% of apples per tree have codling moth damage. Companion plants do not significantly affect the proportion of damaged apples by the codling moth at harvest ($\chi^2 = 5.18$, $df = 2$, $p = 0.075$, Fig. 4.2).

Three emerging parasitoid species are identified : *A. quadridentata*, *P. vulnerator*, and the hyperparasitoid *Perilampus tristis* Mayr (Hymenoptera : Perilampidae). *Ascogaster quadridentata* is the main species involved in codling moth parasitism (69% of emerging adults parasitoids). *Perilampus tristis* and *P. vulnerator* represent 27% and 4% of emerging adult parasitoids, respectively (4). In total, 469 larvae do not give rise to either adult codling moths or parasitoids. This represents a mortality rate of 31%.

3.2. Codling moth parasitoids

In total, 470 small (<30mg) and 1036 large larvae are collected (Table 4). The proportion of small larvae indicates an average parasitism rate of 31.2% per tree and week. The proportion of small larvae is significantly affected by companion plant treatment ($\chi^2 = 10.92$, $df = 2$, $p = 0.004$). It is 45% higher on trees near *O. basilicum* than on control trees. Small larvae proportion in *T. patula* plots is not significantly different from control treatment (Figure4.2). In total, 312 adult parasitoids emerge from codling moth larvae. The ratio of adult parasitoids to adult codling moths varies significantly depending on the companion plant ($\chi^2 = 15.64$, $df = 2$, $p < 0.001$). It is significantly higher on apple trees near *O. basilicum* than on apple trees near *T. patula* or *L. perenne* (Table 4).

Companion plants have a significant overall effect on adults *A. quadridentata* abundance ($\chi^2 = 6.34$, $df = 2$, $p = 0.042$). Multiple comparisons reveal marginally significant differences between *T. patula* and *O. basilicum* treatments (Table 4). Companion plants do not affect *P. tristis* abundance ($\chi^2 = 4.51$, $df = 2$, $p = 0.105$). The total abundance of codling moth larvae significantly affects *A. quadridentata* abundance ($\chi^2 = 145.98$, $df =$

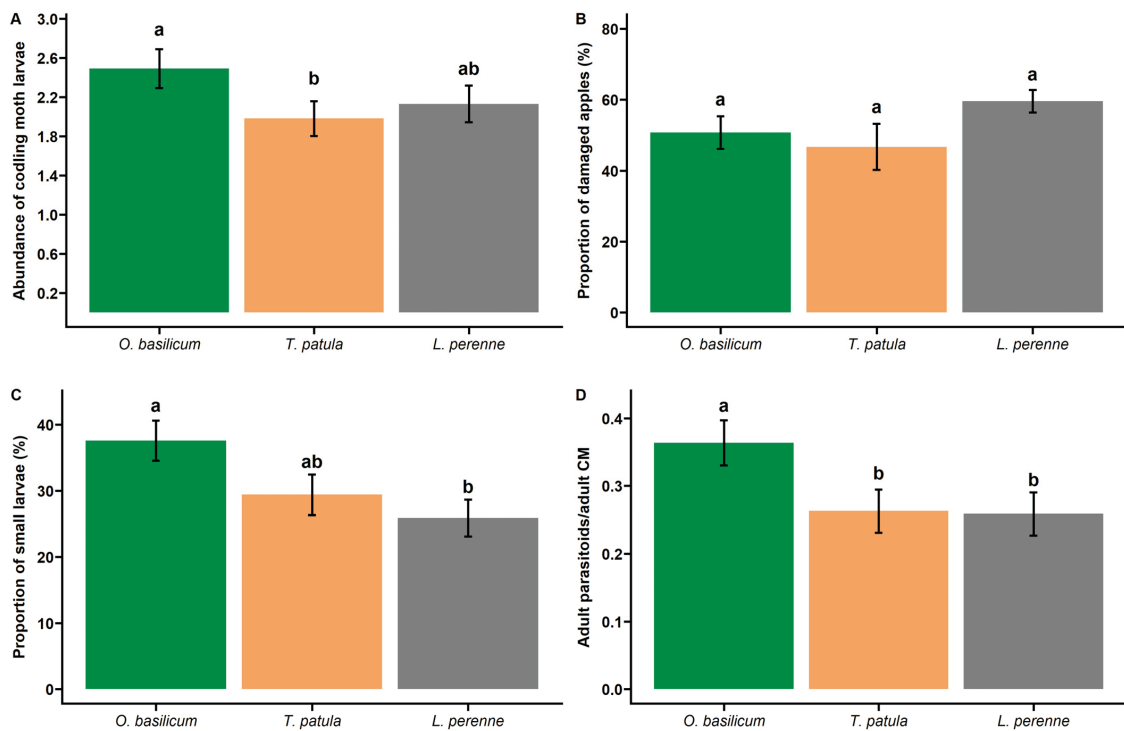


FIGURE 4.2 – Comparison of (A) the mean number of codling moth larvae per apple tree and week, (B) the mean proportion of apples with codling moth damage per tree, (C) the mean proportion of small codling moth larvae (<30 mg) per apple tree and week, and (D) the mean ratio of adult parasitoids to adult codling moths in *Ocimum basilicum*, *Tagetes patula*, and *Lolium perenne* inter-cropping plots. Bars represent standard errors. Different letters indicate significant differences between aromatic plants ($p < 0.05$).

1, $p < 0.001$), and the abundance of small larvae significantly affects *P. tristis* abundance ($\chi^2 = 130.76$, $df = 1$, $p < 0.001$).

3.3. Arthropod predators

Apart from Forficulidae, 809 arthropod predators are captured in cardboard traps, belonging to six families. Cumulated over the season, the estimated abundance of Forficulidae is about 14 000 individuals. On average, $17.70 (\pm 0.31)$ earwig individuals are collected and $1.18 (\pm 0.05)$ other arthropod predators per tree and week. Taxonomic diversity (Shannon index) is similar in the three treatments : $0.17 (\pm 0.02)$ for *O. basilicum*, $0.14 (\pm 0.02)$ for *T. patula*, and $0.16 (\pm 0.02)$ for *L. perenne* (Table 4).

Companion plants significantly affect estimated earwig abundance ($\chi^2 = 9.34$, $df = 2$, $p = 0.009$), being lower on trees associated with *T. patula* than on trees associated with *O. basilicum* (18.48 ± 0.53). Multiple comparisons also reveal marginally significant differences between *T. patula* and control treatments (Table 4). The effect of companion plants on the abundances of spiders ($\chi^2 = 2.71$, $df = 2$, $p = 0.258$) and other arthropods ($\chi^2 = 2.66$, $df = 2$, $p = 0.26$) is not significant.

4. Discussion

Our study reveals a significant influence of aromatic plants on codling moth parasitism and natural enemy recruitment. In particular, *O. basilicum* increases the proportion of small larvae and the ratio of adult parasitoids to adult codling moths. The increase in parasitism and adult parasitoids in basil plots does not translate into a lower codling moth larval density or a reduction in damaged apples. On the contrary, codling moths are more abundant on apple trees close to *O. basilicum* than on those close to *T. patula*. Furthermore, *O. basilicum* does not affect the recruitment of predatory arthropods, but earwig abundance is significantly lower on apple trees close to *T. patula*.

Over the whole season, the proportion of small larvae indicates a parasitism rate of about 30% at orchard level. Similar parasitism rates are observed in low-input systems such as cider apple orchards (Martínez-Sastre et al., 2021). However, the parasitism rate in our study is relatively high compared to observations in conventional orchards with regular pesticide use (Maalouly, Franck & Lavigne, 2015). Three parasitoid species emerge from codling moth larvae : *A. quadridentata*, *P. vulnerator*, and the hyperparasitoid *P. tristis*. This parasitoid species composition is similar to that previously reported in apple orchards by Maalouly, Franck et Lavigne, 2015 in the same study area. In our study, *A. quadridentata* is the main parasitoid species. Similarly, Martínez-Sastre et al., 2021 found

that *A. quadridentata* represents 66.3% of emerging adult parasitoids in cider apple orchards. However, *P. tristis* is more frequent in our study (9% compared to 5% according to Martínez-Sastre et al., 2021).

In agreement with other studies, the results show a positive effect of *O. basilicum* on parasitism rate. Tang et al., 2013 found that adding aromatic plant species increases the cumulative abundance of parasitoids in pear orchards and, more precisely, that *O. basilicum* is associated with a higher and larger abundance peak of parasitoids. Adding *O. basilicum* also increases parasitoid abundance in sweet pepper plantings (Souza et al., 2019).

The increase in codling moth parasitism close to *O. basilicum* stands may be due to the attraction of parasitoids to floral resources. Nectar provided by *O. basilicum* increases the longevity and fecundity of parasitoid wasps (Foti et al., 2017; Rahat et al., 2005). *O. basilicum* leaves are also attractive to a lacewing species (*Ceraeochrysa cubana* Hagen, 1861 (Neuroptera : Chrysopidea), but only the presence of *O. basilicum* flowers improves larval and adult survival (Batista et al., 2017). The higher parasitoid recruitment in basil plots may also be due to the emission of volatile organic compounds. *Ocimum basilicum* produces a relatively high amount of essential oils (López, Jordán & Pascual-Villalobos, 2008) that may be attractive to natural enemies. For example, two main compounds emitted by *O. basilicum*, (Z)-3-hexenyl acetate and linalool, are associated with a strong antennal response of the parasitoid *Trissolcus basalis* Wollaston, 1858 (Hymenoptera : Scelionidea) (Foti et al., 2017).

Basil essential oils have a complex composition (45 to 48 identified compounds), varying between cultivars (López, Jordán & Pascual-Villalobos, 2008). Inference of the organic compounds involved in the attraction of codling moth natural enemies remains speculative in the absence of complementary bioassay. Natural enemies may also be attracted by minor volatile compounds, and parasitoids may respond to a mixture of volatile compounds rather than to one specific molecule (Clavijo McCormick, Gershenson & Unsicker, 2014).

In previous studies, the control effect of aromatic plants on insect pests was mainly related to an increased ratio of predators to pests and not to the attraction of parasitoids. Specifically, *O. basilicum* plantation close to crop plants improves predator-mediated biological control (Song et al., 2013; Wan et al., 2015). Furthermore, Song et al., 2013 showed that peak abundance of arthropod predators occurs during the flowering period of *T. patula*, suggesting a positive effect of this aromatic plant species. Intercropping with *O. basilicum* does not affect arthropod predator recruitment in our study. However, earwig abundance is lower in *T. patula* plots than in both *O. basilicum* and control plots suggesting a repellent

effect. Parasitoid recruitment in *O. basilicum* plots does not lead to a reduction in codling moth density or codling moth damage. The higher codling moth abundance in our *O. basilicum* plots compared to *T. patula* may be explained by a direct positive effect, such as an attraction to volatile compounds. Indeed, volatile organic compounds emitted by aromatic plants are shown to change the spatial distribution of Lepidoptera insects in field crops (Huang et al., 2020). An increased codling moth attraction to trees near *O. basilicum* may also explain the higher recruitment of natural enemies. Song et al., 2017 show, for example, that natural enemies are not only attracted by the volatile organic compounds of aromatic plants, but also by the combination with compounds emitted by aphid-infested apple trees. More specific experiments excluding natural enemies are required to disentangle indirect effects mediated by natural enemies and direct repellent/attraction effects of aromatic plants on codling moth.

Our results are encouraging in terms of the beneficial effects of aromatic plants on the codling moth parasitism, but are less consistent in terms of generalist predator attraction. Aromatic plants do not significantly affect codling moth damage. The optimum conditions for aromatic plant use still need to be specified. Observations over several years are required to evaluate the robustness of the effects observed here. Long-term dynamics may strengthen the effects of aromatic companion plants on natural enemy recruitment. For example, Boetzel et al., 2021 show that the richness of beneficial insects increases with temporal continuity of agri-environment schemes such as flower strips. Further experiments are also required to identify volatile organic compounds that are attractive to codling moth enemies and repellent to pest arthropods, in order to better target aromatic plants species for pest control services.

Acknowledgments

We are grateful to Michel Pradier for growing our aromatic plants and to Mélanie Cabrol for field assistance.

TABLE 4.S1 – **Abundance of emerging adults of codling moth and parasitoids.** N indicates the number of codling moth larvae collected over the whole season (independently from emergence). CM : Codling moth, Asco. : *Ascogaster quadridentata*, Peri : *Perilampus tristis* and Prito. : *Pristomerus vulnerator*.

		<i>Ocimum basilicum</i>				<i>Tagetes patula</i>				<i>Lolium perenne</i>			
		N=574				N=446				N=486			
	Total	<i>Asco.</i>	<i>Peri.</i>	<i>Prito.</i>	<i>CM</i>	<i>Asco.</i>	<i>Peri.</i>	<i>Prito.</i>	<i>CM</i>	<i>Asco.</i>	<i>Peri.</i>	<i>Prito.</i>	<i>CM</i>
Small CM N = 470	292	88	32	3	10	56	20	1	3	56	14	4	5
Large CM N = 1036	745	4	10	4	229	3	3	0	228	7	7	0	250

TABLE 4.S2 – **Effects of companion plants on codling moth and natural enemies’ abundances and on small larvae and damaged apple proportions.** Presented values are mean ($\pm$ SE) per tree per week. Letters indicate significant differences between companion plants, according to post-hoc tests (p-value <0.05).

	Companion plants		
	<i>O. basilicum</i>	<i>T. patula</i>	<i>L. perenne</i>
CM larvae abundance	2.49 ($\pm$ 0.20) b	1.98 ($\pm$ 0.19) a	2.13 ($\pm$ 0.18) ab
Proportion of small larvae (<30mg)	0.37 ($\pm$ 0.03) a	0.29 ($\pm$ 0.03) ab	0.26 ($\pm$ 0.03) b
Ratio parasitoid/codling moth (adults)	0.36 ($\pm$ 0.03) a	0.26 ($\pm$ 0.03) b	0.26 ($\pm$ 0.03) b
<i>A. quadridentata</i>	0.40 ($\pm$ 0.05) a	0.26 ($\pm$ 0.05) a	0.28 ($\pm$ 0.04) a
<i>P. tristis</i>	0.18 ($\pm$ 0.03) a	0.11 ($\pm$ 0.03) a	0.09 ($\pm$ 0.02) a
Forficulidae	18.48 ($\pm$ 0.53) b	16.62 ($\pm$ 0.56) a	18.0 ($\pm$ 0.54) ab
Araneae	1.04 ($\pm$ 0.08) a	0.95 ($\pm$ 0.79) a	1.11 ($\pm$ 0.09) a
Other arthropods	1.24 ($\pm$ 0.10) a	1.07 ($\pm$ 0.09) a	1.23 ($\pm$ 0.10) a
Proportion of damaged apple	0.51 ($\pm$ 0.05) a	0.47 ($\pm$ 0.06) a	0.63 ($\pm$ 0.04) a

TABLE 4.S3 – **Cumulative number of arthropods collected per tree along the sampling period in *O. basilicum*, *T. patula*, and *L. perenne* inter-cropping plots.** Forficulidae cumulative numbers were estimated based on median values of interval abundance classes. The Shannon–Wiener diversity index measured the taxonomic diversity of the predator families (without earwigs).

	<i>O. basilicum</i>		<i>T. patula</i>		<i>L. perenne</i>		Total
	Total	mean ($\pm$ SE)	Total	mean ($\pm$ SE)	Total	mean ($\pm$ SE)	Total
Araneae (all)	236	19.67 ($\pm$ 2.46)	216	18.0 ($\pm$ 2.18)	251	20.91 ($\pm$ 1.94)	703
Miturgidae	21	1.75 ($\pm$ 0.56)	12	1.00 ($\pm$ 0.33)	14	1.17 ($\pm$ 0.40)	47
Salticidae	148	12.33 ($\pm$ 2.12)	126	10.5 ($\pm$ 1.55)	157	13.08 ($\pm$ 1.77)	431
Gnaphosidae	27	2.25 ($\pm$ 0.33)	21	1.75 ($\pm$ 0.39)	39	3.25 ($\pm$ 0.64)	87
Thomisidae	17	1.42 ($\pm$ 0.38)	17	1.42 ($\pm$ 0.26)	11	0.92 ($\pm$ 0.26)	45
Other Araneae	23	1.92 ($\pm$ 0.29)	40	3.33 ($\pm$ 0.75)	30	2.5 ($\pm$ 0.45)	93
Coccinellidae	32	2.67 ($\pm$ 0.78)	19	1.58 ($\pm$ 0.76)	18	1.5 ($\pm$ 0.53)	69
Carabidae	14	1.17 ($\pm$ 0.40)	11	0.92 ($\pm$ 0.31)	12	1.00 ($\pm$ 0.27)	37
Forficulidae	5090	349.58 ($\pm$ 16.09)	4280	315.83 ($\pm$ 11.33)	4860	342.08 ($\pm$ 16.00)	14230
Shannon index	-	1.36 ($\pm$ 0.08)	-	1.21 ($\pm$ 0.12)	-	1.23 ($\pm$ 0.10)	-



Relations trophiques des syrphes avec les plantes à fleurs et les pucerons

Résumé

Dans ce chapitre, nous avons cherché à étudier plus précisément les relations que les syrphes aphidiphages entretiennent à la fois avec la flore et les pucerons en vergers de pommiers, en s'appuyant sur des analyses de *metabarcoding*. Nous présentons ici l'élaboration et le test de la méthode de séquençage *metabarcoding*, puis son application pour explorer les relations entre les syrphes, la flore et les pucerons à partir de syrphes collectés au printemps 2022 dans deux vergers de la Basse Vallée de la Durance.

Nos résultats montrent que la majorité des syrphes collectés sur la flore sont aphidiphages. Trois genres – *Episyrphus*, *Syrphus*, *Epistrophe* - ont été identifiés comme contribuant majoritairement à la régulation du puceron cendré, car observés à la fois au stade adulte sur la flore et au stade larvaire dans des colonies de pucerons. Ces trois taxons représentaient 20% de l'abondance totale de syrphes collectés sur la flore des vergers. Des études ont cependant montré que les larves de certains taxons recensés ici uniquement sur la flore au stade adulte peuvent aussi contribuer à la prédation du puceron cendré (e.g. *Sphaerophoria* spp., *Meliscaeva* spp. ou *Paragus* spp.).

Les syrphes adultes ont un comportement plutôt généraliste vis-à-vis des fleurs. Nous n'avons pas observé de différences importantes dans la composition des communautés végétales associées aux taxons de syrphe contribuant majoritairement à la prédation du puceron cendré et les autres taxons. Favoriser la présence d'espèces végétales communes et spontanées dans les vergers de pommiers peut donc bénéficier aux syrphes aphidiphages de manière générale, incluant des taxons de syrphe prédatant efficacement les pucerons du pommier.

Sur le plan méthodologique, cette étude souligne l'apport du *metabarcoding* pour étudier les relations entre plantes et syrphes aphidiphages. En revanche, l'identification d'ADN de puceron à partir de syrphes adultes est moins concluante. Identifier la gamme de pucerons prédatés au stade larvaire et la gamme de plantes visitées au stade adulte reste donc difficile à mettre en œuvre pour un même individu.

Mots-clés : syrphes, pucerons, pollen, metabarcoding, interactions plantes-insectes

Utilisation du metabarcoding pour explorer les relations entre les syrphes, les pucerons et la flore en vergers de pommiers : développement méthodologique et mise en pratique

Ludivine Laffon¹, Jérôme Olivares¹, Armin Bischoff², Françoise Lescourret¹, Pierre Franck¹

¹PSH, Institut national de recherche pour l’agriculture, l’alimentation et l’environnement, INRAE, 84000 Avignon, France

²Institut Méditerranéen de Biodiversité et d’Ecologie marine et continentale, IMBE, Avignon Université, CNRS, IRD, Aix-Marseille Université, IUT, Agroparc, 84000 Avignon, France

1. Introduction

Au stade adulte, les syrphes (Diptera : Syrphidae) s’alimentent principalement de ressources florales (Doyle et al., 2020). Le nectar est leur principale source d’énergie et le pollen joue un rôle important dans leur reproduction, notamment dans le développement ovarien (Doyle et al., 2020). Les Syrphidae sont, après les Apoidea, la famille la plus fréquemment impliquée dans le service de pollinisation (Rader et al., 2011). Contrairement aux abeilles sociales, les syrphes n’alimentent pas leur progéniture en nectar et pollen et ne sont donc pas centrés autour d’un site de nidification. Ils peuvent donc transporter le pollen sur de grandes distances (Rader et al., 2011 ; Wotton et al., 2019). La sous-famille des Syrphinae comprend de nombreuses espèces dont les larves s’alimentent de pucerons et d’autres insectes phytophages à corps mous (Rodríguez-Gasol et al., 2020). Les larves de ces syrphes peuvent consommer plusieurs dizaines de pucerons par jour (Tenhumberg, 1995), et contribuent ainsi à leur régulation. Les syrphes aphidiphages jouent donc un double rôle dans les agroécosystèmes et favoriser leur présence dans les parcelles agricoles pourrait renforcer les services de pollinisation et de contrôle biologique (Dunn et al., 2020).

Fournir des ressources florales accessibles, en quantité suffisante et aux périodes adéquates est un point clé pour attirer les syrphes aphidiphages et renforcer leur activité. De nombreuses études ont cherché à identifier les espèces végétales qui leur sont le plus favorables. Les préférences des syrphes aphidiphages vis-à-vis des fleurs sont le plus souvent évaluées sur la base d’observations de visites de fleurs (Barbir et al., 2016 ; Hogg, 2011 ; van Rijn & Wäckers, 2016) ou de tests de choix en laboratoire (Amorós-Jiménez et al., 2014). Seulement, ces observations sont souvent restreintes à un petit nombre d’espèces de plantes et/ou de syrphes (e.g. Laubertie, Wratten & Hemptinne, 2012 ; Pinheiro et al., 2013 ; van Rijn, Kooijman & Wäckers, 2013). Une autre approche consiste à analyser et identifier les grains de pollen présents sur le corps des syrphes ou dans leur jabot, pour identifier les

espèces végétales effectivement visitées ou consommées par les syrphes, et ce pour un plus grand nombre de taxons. L'identification du pollen peut être réalisée par microscopie (e.g. Ballantyne, Baldock & Willmer, 2015 ; Gervais, Chagnon & Fournier, 2018 ; Rader et al., 2011 ; Vialatte et al., 2017 ; Villa et al., 2021), mais la résolution taxonomique reste faible car les grains de pollen ne présentent parfois que peu de variations morphologiques au sein d'un même genre, voire d'une même famille (Bell et al., 2016). Même si des méthodes plus automatisées ont été développées (Holt & Bennett, 2014), le processus reste relativement chronophage et l'expertise nécessaire est rare (Bell et al., 2016).

Le développement du *metabarcoding* ouvre de nouvelles possibilités pour étudier les relations entre les syrphes aphidiphages et les plantes, sur la base du pollen consommé (Lowe, Jones, Witter et al., 2022). Rendu possible par le séquençage de nouvelle génération (NGS), le *metabarcoding* permet d'identifier simultanément plusieurs taxons à partir d'un unique échantillon environnemental (Evans & Kitson, 2020). Le principe est d'amplifier et de séquencer en masse un ou plusieurs marqueurs génétiques suffisamment discriminants pour identifier ensuite les différents taxons, par comparaison avec des bases de données de référence. Cette approche a déjà été utilisée pour explorer les relations entre syrphes et plantes mais c'est généralement le rôle de pollinisateur des syrphes qui est questionné et rarement leur contribution au service de contrôle biologique (Table 5.S1). Le *metabarcoding* peut aussi faciliter l'étude des relations entre espèces de syrphes et espèces de pucerons. De l'ADN de puceron peut par exemple être détecté à partir de larves de syrphes (Gomez-Polo et al., 2015 ; Hodgkiss et al., 2022). Par ailleurs, les travaux de Rougerie et al., 2011 ont montré la possibilité de détecter des traces d'ADN de l'hôte chez les hyménoptères parasitoïdes adultes après leur métamorphose. La possibilité d'identifier de l'ADN de puceron à partir de syrphes adultes n'a toutefois pas encore été étudiée. Cela permettrait d'identifier, pour un même individu, la gamme de pucerons prédatés au stade larvaire et la gamme d'espèces végétales visitées ou consommées au stade adulte.

Nous nous sommes ici focalisés sur les syrphes aphidiphages impliqués dans la régulation des pucerons du pommier. Plusieurs espèces de pucerons se développent sur les pommiers, les plus fréquentes étant *Dysaphis plantaginea* Passerini, *Aphis pomi* De Geer, *Aphis spiraeicola* Patch et *Eriosoma lanigerum* Haussmann. Les larves des syrphes aphidiphages sont actives tôt dans l'année, par rapport à d'autres groupes de prédateurs. Ce sont ainsi les premiers prédateurs observés dans les colonies de pucerons cendrés (Dib et al., 2010 ; Miñarro, Hemptinne & Dapena, 2005 ; Rodríguez-Gasol et al., 2019). Leur implication dans la régulation des pucerons du pommier a le plus souvent été étudiée pour *D. plantaginea* (e.g. Albert et al., 2017 ; Cahenzli et al., 2019). Dib et al., 2010 ont ainsi recensé une dizaine d'espèces de syrphes présentes dans les colonies de puceron cendré, dominées par

Episyrphus balteatus De Geer, *Syrphus vitripennis* Meigen, *Pipiza luteitarsis* Zetterstedt et *Eupeodes luniger* Meigen. Certaines espèces de syrphes aphidiphages sont également impliquées dans la prédation d'*A. pomi* (Wojciechowicz-Żytka & Jankowska, 2017) et d'*E. lanigerum* (Gontijo, Beers & Snyder, 2013). Concernant les syrphes adultes, la majorité des syrphes collectés sur la flore des vergers de pommiers semblent être des espèces aphidiphages (Rossi et al., 2006 ; Wojciechowicz-Żytka & Jankowska, 2017). Néanmoins, peu d'études ont comparé les espèces de syrphes retrouvées dans la végétation des vergers et les espèces de syrphes véritablement impliquées dans la régulation des pucerons du pommier.

L'objectif de ce chapitre est d'étudier les relations que les syrphes aphidiphages entretiennent à la fois avec les plantes et les pucerons en vergers de pommiers, par *metabarcoding*. Nous cherchons à déterminer, d'une part, si les espèces de syrphes visitant les plantes présentes en vergers de pommiers sont aussi impliquées dans la régulation des pucerons du pommier et, d'autre part, quelles sont les espèces végétales préférentiellement visitées par les espèces de syrphes effectivement impliquées dans la régulation des pucerons du pommier, en particulier de *D. plantaginea*. Ce chapitre se divise en deux parties. La première partie expose l'élaboration et le test de la méthode de séquençage *metabarcoding* utilisée. La seconde partie présente l'application de cette méthode pour explorer les relations entre les syrphes, les plantes et les pucerons à partir d'échantillonnages réalisés dans deux vergers de la Basse Vallée de la Durance.

2. Elaboration de la méthode

2.1. Objectifs et matériel biologique utilisé

Une première expérimentation visait à évaluer l'identification du pollen consommé par des syrphes adultes et à tester la possibilité de détecter des traces d'ADN de puceron sur ces mêmes syrphes. Nous avons évalué l'ensemble de l'approche de *metabarcoding*, de l'extraction ADN à l'analyse des relations trophiques des syrphes avec les pucerons et les plantes. Pour cela, différents échantillons ont été utilisés :

- Dix syrphes collectés dans les vergers expérimentaux du site INRAE Saint-Paul en juin 2021. Ces syrphes ont été capturés sur la flore du rang ou de l'inter-rang des vergers, placés individuellement dans des tubes contenant de l'éthanol à 70°C, puis conservés à -20°C. Ils ont été utilisés pour tester l'identification du pollen. Dans la suite, ils sont appelés "syrphes sauvages".
- Dix syrphes adultes élevés à partir de larves prélevées dans des colonies de puceron cendré (*D. plantaginea*) dans les vergers du site INRAE Saint-Paul, au printemps 2022. Ces larves ont été placées individuellement dans des cages insect-proofs, et

nourries exclusivement avec des pucerons cendrés jusqu'à leur transformation en pupes. Tous les deux jours, chaque larve a reçu une vingtaine de pucerons cendrés et a été humidifiée. Après leur métamorphose, les adultes ont été placés individuellement dans de l'éthanol à 70°C et conservés à -20°C. Ces syrphes nous ont permis de tester la capacité de détection d'ADN de puceron à partir de syrphes adultes. Dans la suite, ils sont appelés "syrphes d'élevage".

- De l'ADN extrait à partir de deux espèces de pucerons (*D. plantaginea* et *E. lanigerum*), qui nous a permis de tester la sensibilité des amorces conçues pour amplifier une région du gène *COI* générique aux pucerons.
- Du pollen collecté sur *Malva sylvestris* et *Convolvulus arvensis* en juin 2022 et de l'ADN extrait à partir de *Capsicum annuum*. Ces échantillons nous ont permis de tester la sensibilité des amorces utilisées pour l'amplification d'ADN de plantes et le niveau de discrimination taxonomique associé.

2.2. Evaluation *in silico* de la capacité des marqueurs à discriminer les espèces de syrphes, de plantes et de pucerons

2.2.1. Conception des amorces

Notre objectif était d'identifier chaque syrphe adulte, le pollen qu'il a consommé et les espèces de pucerons qu'il a prédatées au stade de larve. Nous avons donc utilisé trois marqueurs différents (Table 5.1). Le marqueur *COI* est utilisé pour identifier les syrphes et les pucerons, grâce à deux paires d'amorces différentes. L'une a été conçue pour amplifier une région du gène *COI* ciblant les syrphes (*COI-Syrphes*) et l'autre les pucerons (*COI-Pucerons*). Dans la suite, nous considérons qu'il s'agit de deux marqueurs différents. Pour identifier les plantes, nous avons choisi les marqueurs *rbcl* et *ITS2*. La combinaison de ces deux marqueurs est en effet recommandée pour l'identification de pollen (Bell et al., 2017; Lowe, Jones, Witter et al., 2022).

Les amorces ont été définies en compilant des séquences correspondant aux différents taxons d'intérêt, pour les syrphes (*COI-syrphes*), les pucerons (*COI-pucerons*) et les plantes (*rbcl* et *ITS2*). Pour les plantes, nous nous sommes appuyés sur les espèces susceptibles d'être rencontrées dans les vergers de la Basse Vallée de la Durance (Chapitre 2).

TABLE 5.1 – Marqueurs et amorces utilisés et tailles attendues des amplicons.

	Amorce Forward	Amorce Reverse	Taille de l'amplicon
<i>COI-Syrphes</i>	CAGYCTTGATCGK TAYAARGG	CGWCCATACTTGT TCAATTTATCTC	274 pb
<i>COI-Pucerons</i>	ACCSCCATCATTA ATAATAATAATTT GT	AATTGCTGTAATT AARATTGAT CAWGG	264 pb
<i>rbcL</i>	GTTTTTGGACTAYT ACCTCCTTCWYTA AC	GATCAAACAAAT AAAGGTATTTCG ATC	259 pb
<i>ITS2</i>	CCATCGAGTTTTT GAACGCAAG	GCCTGACCTGGGG TCDC	~310 pb

2.2.2. Niveau de discrimination taxonomique

Nous avons ensuite évalué le niveau de discrimination entre espèces, pour chaque marqueur, à l'aide de deux méthodes : la construction d'arbres phylogénétiques et l'estimation du *barcode gap*. Les arbres phylogénétiques (*neighbour joining tree*) sont établis à partir de la matrice de distances (Kimura à 2 paramètres) entre paires de séquences avec 1000 répétitions (de Vere et al., 2012 ; Saddhe, Jamdade & Kumar, 2017). Les arbres ont été construits avec le logiciel MEGA (version 11). Une espèce a été considérée comme discriminée avec succès d'une autre espèce lorsque toutes les séquences correspondantes à cette espèce formaient un clade monophylétique, pour au moins 80% des arbres. L'estimation du *barcode gap* est fondée sur les matrices de distance génétique (distance de Kimura à 2 paramètres, 1000 répétitions). Pour chaque espèce, nous avons comparé la distance interspécifique minimale et la distance intraspécifique maximale (Raskoti & Ale, 2021). Les diagrammes de dispersion correspondants ont été construits avec R 4.2.0 (package : *ggplot2*). Sur ces diagrammes, chaque point représente une espèce. La position des points par rapport à la droite 1 :1 permet d'attester de la présence ou de l'absence d'un *barcode gap*. Pour chaque diagramme, nous avons ensuite calculé la proportion d'espèces présentant un *barcode gap*.

Pour *COI-Syrphes*, huit espèces correspondent à un groupe monophylétique sur l'arbre phylogénétique et présentent un barcode gap (Fig. 5.1 et 5.S1). Deux espèces appartenant à un même genre (*Melanostoma scalare* et *Melanostoma mellinum*) sont confondues sur l'arbre phylogénétique, et aucun barcode gap n'apparaît clairement. Pour *COI-Pucerons*, l'arbre phylogénétique montre des groupes monophylétiques correspondant à neuf des dix espèces analysées (Fig. 5.S2). La présence d'un *barcode gap* est détectée pour les dix espèces (Fig. 5.1).

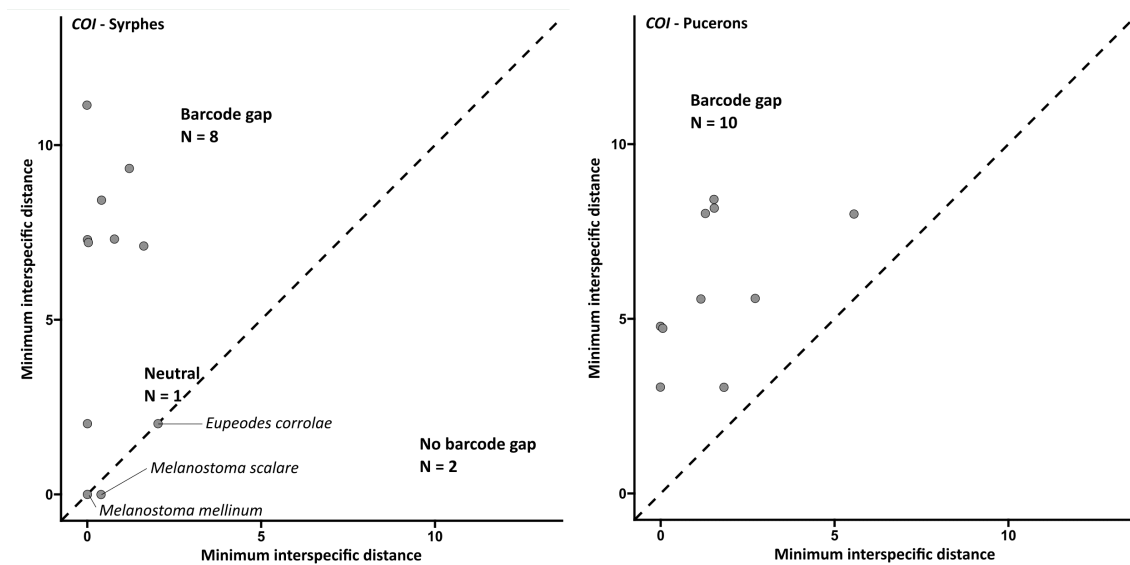


FIGURE 5.1 – Évaluation du barcode gap pour les amplicons théoriquement obtenus avec les amorces *COI-Syrphes* et *COI-Pucerons*. Comparaison de la distance maximale intraspécifique et de la distance minimale interspécifique pour chaque espèce. Les distances de Kimura à 2 paramètres ont été utilisées. La position des points par rapport à la diagonale 1 :1 permet d'établir la présence ou l'absence d'un barcode gap.

TABLE 5.2 – Taux de discrimination des espèces pour chaque méthode utilisée (*neighbour joining tree* (NJT) et estimation de la présence d'un *barcode gap*). Les espèces représentées par une seule séquence ne sont pas incluses dans le calcul des taux de discrimination.

	Nb d'espèces	Nb de séquences	NJT (%)	Barcode-gap (%)
<i>COI - Syrphes</i>	16	44	72	73
<i>COI - Pucerons</i>	10	50	90	100
<i>rbcl - Asteraceae</i>	15	126	13	40
<i>ITS2 - Asteraceae</i>	15	70	46	75
<i>rbcl - Fabaceae</i>	7	103	71	86
<i>ITS2 - Fabaceae</i>	7	66	100	100
<i>rbcl - Rosaceae</i>	13	64	46	46
<i>ITS2 - Rosaceae</i>	8	36	50	50
<i>rbcl - Poaceae</i>	22	244	30	41
<i>ITS2 - Poaceae</i>	20	102	70	70

Pour *rbcL* et *ITS2*, les analyses ont été menées pour les quatre familles présentant le plus grand nombre d'espèces (Asteraceae, Rosaceae, Poaceae et Fabaceae), en utilisant toutes les séquences disponibles. La capacité de discrimination des espèces varie selon la famille considérée (Fig. 5.2 et Fig. 5.3). Ainsi, pour *rbcL*, 86% des espèces présentent un *barcode gap* tandis que pour les Poaceae le *barcode gap* n'est observé que pour 41% des espèces. La capacité de discrimination semble meilleure pour *ITS2*, bien qu'établie avec un plus petit nombre de séquences (Table 5.2). Les distances génétiques interspécifiques sont également de plus grande amplitude pour *ITS2* (0 à 37%) par rapport à *rbcL* (0 à 10%).

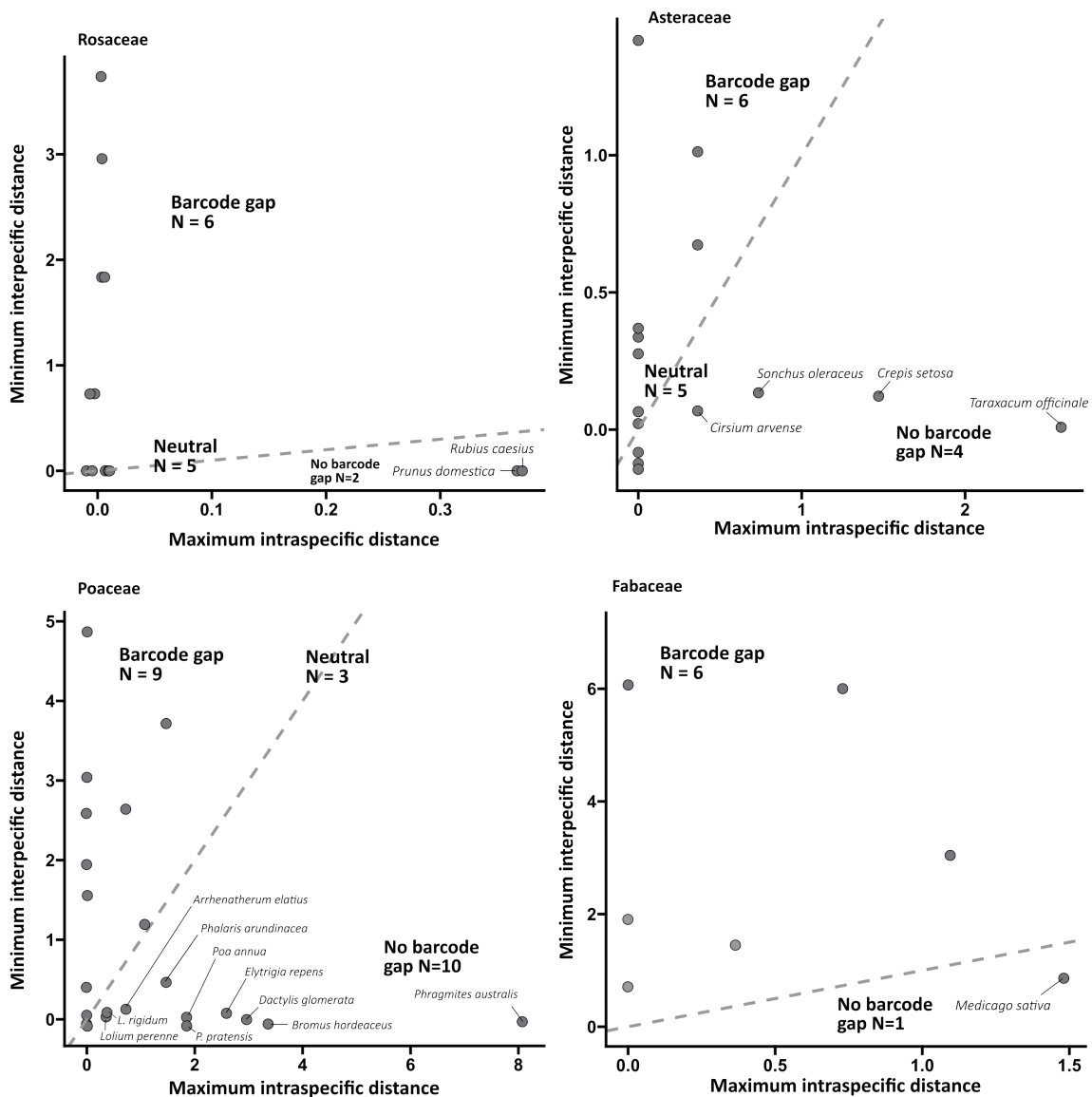


FIGURE 5.2 – Évaluation du *barcode gap* pour les amplicons théoriquement obtenus avec les amorces *rbcL*. Comparaison de la distance maximale intraspécifique et de la distance minimale inter-spécifique entre les espèces de quatre familles (Rosaceae, Asteraceae, Poaceae et Fabaceae). La position des points par rapport à la diagonale 1 : 1 permet d'établir la présence ou l'absence d'un *barcode gap*.

Les espèces pour lesquelles une absence de *barcode gap* est détectée ne sont pas toujours les mêmes selon le marqueur considéré. Par exemple, pour la famille des Rosaceae il y a une absence de *barcode gap* pour *Rubus caesius* avec le marqueur *rbcL* mais pas avec *ITS2*, et inversement pour *Crataegus monogyna*. En revanche, pour certaines espèces (s. *Prunus domestica*, *Sonchus oleraceus* ou *Lolium perenne*) aucun *barcode gap* n'est détecté, quel que soit le marqueur utilisé. Les deux marqueurs *rbcL* et *ITS2* sont donc relativement complémentaires, mais ne permettent pas d'identifier tous les taxons au niveau de l'espèce.

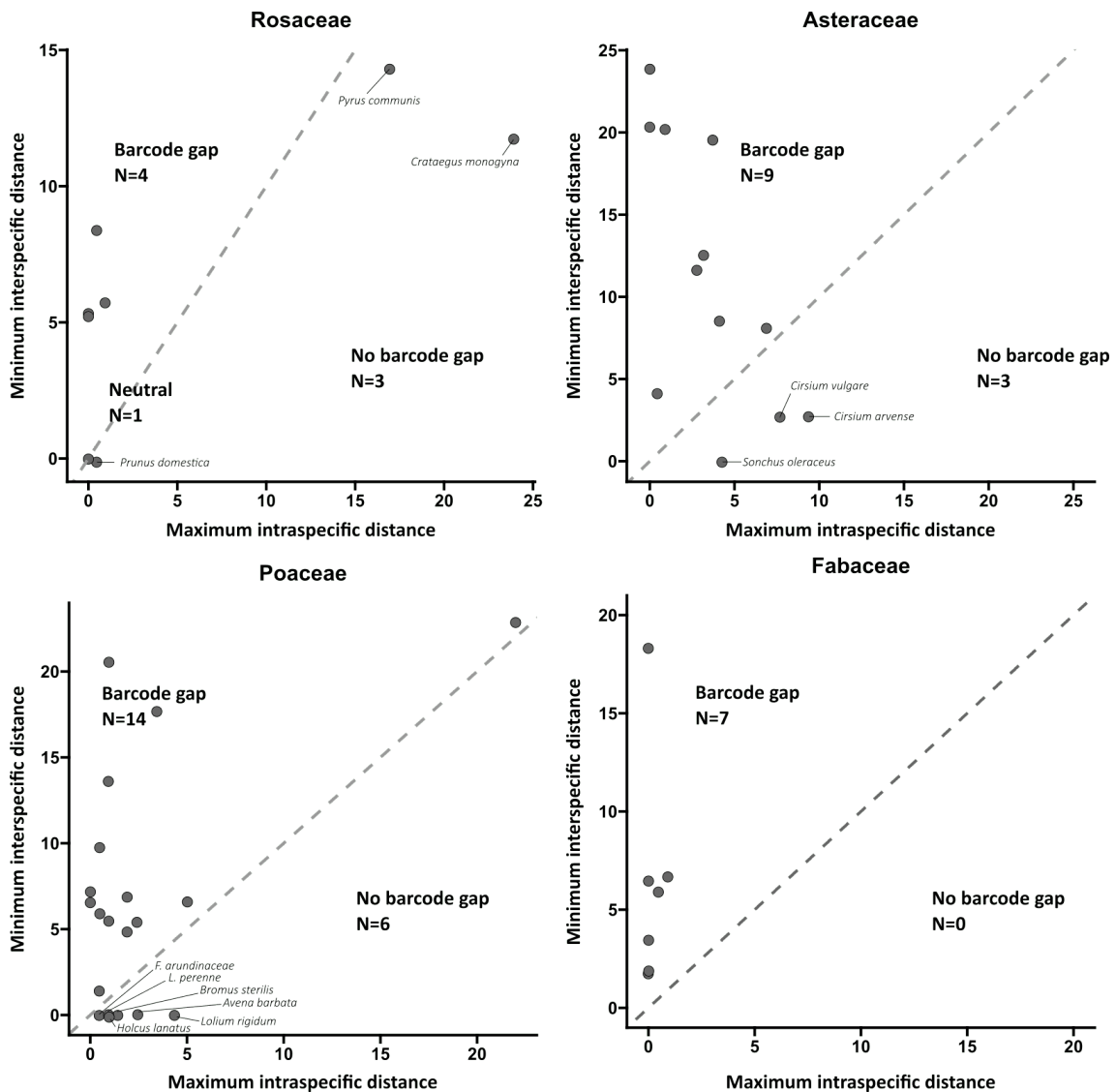


FIGURE 5.3 – Évaluation du *barcode gap* pour les amplicons théoriquement obtenus avec les amorces *ITS2*. Comparaison de la distance maximale intraspécifique et de la distance minimale inter-spécifique entre les espèces de quatre familles (Rosaceae, Asteraceae, Poaceae et Fabaceae). La position des points par rapport à la diagonale 1 :1 permet d'établir la présence ou l'absence d'un *barcode gap*.

2.3. Evaluation empirique

2.3.1. *Extraction, amplification et séquençage*

L'ADN des syrphes sauvages et des syrphes d'élevage a été extrait à partir de l'abdomen pour huit individus ou à partir du syrphe entier pour deux individus. L'ADN de chaque syrphe a été extrait à l'aide du kit d'extraction d'ADN Qiagen DNeasy 96 plant. Pour cela, chaque syrphe a été placé dans un puits avec une bille d'acier, 420µL de tampon AP1, 78µL de protéinase K, 1µL de réactif DX, puis broyé pendant 15s (1500 rpm) et centrifugé 1 min (6000 rpm). Les échantillons ont ensuite été mis à incuber pendant 1h à 56°C, puis 1h à 65°C. Nous avons ajouté 160µL de tampon P3 dans chaque puits, et fait une incubation 15 minutes à -20°C. Ensuite, nous avons transféré 400µL de surnageant clair avec 600 µL de tampon AW1 dans une nouvelle plaque. Après centrifugation, le contenu de chaque puits (1 mL) a été transféré sur une plaque de filtration (centrifugation pendant 5 min, 6200 rpm). Nous avons ajouté 800 µL de tampon AW2, et centrifugé pendant 15 min (6200 rpm). Finalement, les colonnes ont été placées dans une plaque d'élution avec 100 µL de tampon AE, et incubées pendant 5 min à température ambiante. L'ADN de pollen de *M. sylvestris* et de *C. arvensis* a été extrait de la même manière. La concentration de chaque extraction d'ADN a été mesurée par fluorescence (PicoGreen) et les ADN extraits ont été conservés à -20°C.

Une première PCR a été réalisée avec chaque paire d'amorces : *COI-syrphes*, *COI-pucerons*, *rbcL* et *ITS2*. Chaque réaction PCR (30 µL) contenait 6µL de Buffer Taq [5X], 1,60µL de dNTPs [4mM], 2,40µL de MgCl₂ [25mM], 0,30µL de BSA [10mg/ml], 0,5 µL d'amorce forward et reverse [25 µM], 15,5µL d'eau, 0,20µL de Taq-polymérase [5 U/µL] et 3 µL d'ADN de chaque échantillon. Les conditions de PCR pour les amorces *COI-syrphes*, *rbcL* et *ITS2* étaient : 95 °C pendant 3 min pour la dénaturation initiale, suivie de 35 cycles enchaînant 95 °C pendant 30 s, puis 56 °C pendant 45 s et 72 °C pendant 1 min, et une extension finale à 72 °C pendant 2 min. Pour les PCR réalisées avec les amorces *COI-pucerons*, nous avons utilisé un T_m plus bas (52°C). Lors de chaque PCR, deux témoins négatifs d'extraction et deux témoins négatifs de PCR ont été intégrés. Les produits PCR ont été contrôlés sur gel d'agarose pour chaque marqueur, pour vérifier l'intensité et la taille des amplicons obtenus. Pour un même échantillon, les amplicons issus des quatre marqueurs ont ensuite été poolés. Une seconde PCR, correspondant à l'indexation spécifique par échantillon, a été réalisée par la plateforme génomique et transcriptome de Bordeaux (PGTB). Le séquençage (2x150 pb) a ensuite été effectué avec un séquenceur Illumina MiSeq Micro V2.

2.3.2. Traitement des séquences

Le traitement bioinformatique des données issues de séquençage a été réalisé à l'aide de FROGS (*Find Rapidly OTU with Galaxy Solution*, Escudié et al., 2018), sur la plateforme Galaxy Genotoul. Sauf indication contraire, les données ont été traitées en utilisant les paramètres par défaut. Une première étape permet de filtrer les séquences par marqueur et d'éliminer les séquences ayant une taille inférieure à celle attendue. Les séquences restantes sont regroupées en unités taxonomiques opérationnelles (OTU pour *Operational Taxonomic Units*), en utilisant une distance d'agrégation maximale d'une mutation, avec l'algorithme SWARM (Mahé et al., 2015). Les séquences chimériques (séquences artificielles formées par la combinaison de plusieurs séquences biologiques) sont ensuite supprimées en utilisant VSEARCH (Rognes et al., 2016). Enfin, un filtrage est appliqué pour éliminer les OTUs contenant moins de 0,00005% du nombre total de séquences et considérés comme du bruit de fond (Escudié et al., 2018).

Les séquences obtenues avec les amorces *ITS2* sont traitées de manière un peu différente (Bernard et al., 2021). Lors de la première étape, les amplicons pouvant être joints deux à deux sont traités de manière conventionnelle, les autres sont conservés et considérés comme des amplicons artificiels. Les deux *reads* sont alors joints par l'ajout d'une séquence artificielle contenant 100 N. Ces séquences regroupées artificiellement sont par la suite appelées séquences "combinées". L'outil ITSx permet ensuite d'éliminer les séquences qui ne sont pas des *ITS*.

2.3.3. Attribution taxonomique des OTU

Pour le marqueur *COI* (*COI-Pucerons* et *COI-Syrphes*), nous avons utilisé la base de données de référence disponible dans FROGS (BOLD_1percentN_2019) pour réaliser les attributions taxonomiques. Pour *rbcL* et *ITS2*, nous avons réalisé deux types d'attribution : l'une avec les bases de données déjà disponibles dans FROGS (KBell_plant_rbcL et ITS_Unite_Euka) et l'autre avec des bases de données locales. Pour construire ces bases locales, nous nous sommes basés sur les 112 espèces végétales recensées dans les vergers de la Basse Vallée de la Durance en 2021 (Chapitre 2). Des espèces végétales ligneuses ont été ajoutées ($n = 49$). Elles ont été recensées lors de précédents projets dans les haies bordant les vergers du site atelier. Pour chaque espèce, les séquences de référence ont été extraites à partir de BOLD (Ratnasingham & Hebert, 2007). Les séquences ont été alignées et vérifiées manuellement avec le logiciel UGENE (Okonechnikov et al., 2012). Deux bases de données ont ainsi été construites, l'une pour *ITS2* (1094 séquences), l'autre pour *rbcL* (1014 séquences).

Elles sont utilisables via la plateforme Galaxy Genotoul¹.

Pour les marqueurs *COI* et *rbcL*, les assignations taxonomiques des OTU ont été réalisées via FROGS avec l’algorithme BLASTN+, qui trouve un alignement entre chaque séquence majoritaire par OTU et la base de données de référence. Pour *ITS2*, l’ajout de 100 N dans les séquences “combinées” réduit le score BLAST obtenu avec l’algorithme BLASTN+. Pour pallier cela, les séquences combinées sont traitées avec l’algorithme needleall (Bernard et al., 2021). Les autres séquences sont traitées de manière conventionnelle, avec BLASTN+. Seules les assignations avec au moins 98% d’identité ont été conservées.

Si plusieurs résultats issus du *blast* ont des scores identiques pour un OTU donné, la valeur “multi-assignation” est attribuée au premier niveau de conflit et à tous les niveaux inférieurs. Par exemple, pour un OTU donné, les résultats du *blast* peuvent attribuer plusieurs espèces d’un même genre avec un même niveau de confiance. Dans ce cas, le nom de genre est renseigné, mais le nom d’espèce prend la valeur “multi-assignation”. Les détails de l’assignation de tous les OTU ayant des taxonomies ambiguës sont disponibles et permettent de valider manuellement les assignations.

2.3.4. Filtrage et validation des OTU

Les faux-positifs désignent des taxons détectés dans des échantillons où ils ne sont pas susceptibles de se trouver au moment des collectes (Darling, Jerde & Sepulveda, 2021). Ces détections sont souvent liées à des contaminations lors de l’échantillonnage, de l’extraction d’ADN ou des PCR ou bien à un manque de spécificité des marqueurs et amorces utilisés. En raison de la grande sensibilité de la méthode d’analyse, il est très probable que des faux-positifs persistent même si l’expérimentation est menée avec de nombreuses précautions (Drake et al., 2022). Pour détecter et éliminer les OTU correspondant à des faux-positifs pour un échantillon donné, des seuils peuvent être définis à partir d’un nombre ou d’une proportion minimum de séquences par OTU. Seulement, il n’existe pas de méthode consensus pour définir ces seuils (Arstingstall et al., 2023 ; Drake et al., 2022).

Dans cette expérimentation, un OTU était systématiquement majoritaire parmi les séquences obtenues pour le marqueur *COI-Syrphes*. L’OTU majoritaire représentait en moyenne 93% du nombre total de séquences obtenues par échantillon. Nous avons donc considéré que l’identification de chaque syrpe correspondait au taxon assigné à l’OTU majoritaire dans chaque échantillon.

1. Les bases de données sont disponibles au téléchargement ici : http://genoweb.toulouse.inra.fr/frogs_databanks/assignation/PSH_Laffon/

Pour les autres marqueurs (*COI-pucerons*, *rbcL* et *ITS2*), plusieurs OTU sont susceptibles d'être détectés pour chaque échantillon. Deux types de filtres ont été appliqués et comparés :

- A. **Valeur seuil basée sur les témoins négatifs** : Une méthode possible est de se fonder sur les OTU détectés dans les témoins négatifs (i.e. témoins d'extraction et de PCR, Drake et al., 2022). Nous avons comparé deux méthodes possibles pour définir la valeur seuil : utiliser la valeur maximale détectée dans les témoins négatifs (Drake et al., 2022) ou bien se baser sur la moyenne et l'écart-type du nombre de séquences des OTU détectés dans les témoins négatifs (Arstingstall et al., 2023). Dans ce cas, la valeur seuil est calculée ainsi : $\text{moyenne} + 1.645 \times \text{écart-type}$. Ici, les deux méthodes donnent des résultats identiques pour *COI-pucerons* et *rbcL* et des résultats similaires pour *ITS2* (deux interactions supplémentaires détectées avec la seconde méthode, Fig. 5.S3). Dans la suite, seuls les résultats obtenus avec la seconde méthode sont utilisés.
- B. **Proportion seuil par échantillon basée sur les témoins positifs** : Une autre possibilité, est de se baser sur les témoins positifs (Drake et al., 2022 ; Tercel et al., 2022), en déterminant la proportion de séquences visiblement aberrantes qui y sont détectées. Pour *rbcL* et *ITS2*, cela correspond aux séquences assignées à une autre espèce que *M. sylvestris* ou *C. arvensis*, qui ont été utilisés comme témoins positifs (soit une proportion de 3% pour *rbcL* et de 0.1% pour *ITS2*). Pour *COI-pucerons*, cela correspond aux séquences assignées à une autre espèce que *E. lanigerum* ou *D. plantaginea*, dans les témoins positifs respectifs (soit une proportion seuil de 0.02%).

2.4. Résultats des pré-tests

Au total, 3 787 625 séquences ont été obtenues grâce au séquençage et 3 443 119 séquences ont été conservées après les différents traitements appliqués via FROGS (1 784 317 pour *COI-syrphes*, 511 076 pour *COI-pucerons*, 326 074 pour *rbcL* et 822 926 pour *ITS2*). Selon le marqueur considéré, les négatifs PCR comptaient pour 0.002% (pour *ITS2*) à 0.02% du total (pour *rbcL*) et les négatifs d'extraction pour 0.8 (pour *rbcL*) à 6% (pour *ITS2*). Les taxons identifiés pour les témoins positifs correspondent aux espèces effectivement utilisées (*D. plantaginea* et *E. lanigerum* pour les pucerons ; *M. sylvestris*, *C. arvensis* et *C. annuum* pour les plantes). Lorsque l'assignation est faite à partir de bases de données incluses dans FROGS, le niveau d'identification des témoins positifs 'plantes' varie de l'espèce à la famille. Ils sont identifiés au niveau de l'espèce avec les bases de données taxonomiques locales. *C. annuum* n'est pas identifié *via* les bases de données locales (cette espèce n'en fait pas partie) et les séquences correspondantes ne sont attribuées à aucune autre espèce.

2.4.1. Niveau d'identification des syrphes et capacité à détecter l'ADN de puceron

Deux espèces de syrphes ont été identifiées parmi les syrphes d'élevage (*Episyrphus balteatus* et *Syrphus ribesii*) et cinq parmi les syrphes sauvages (*E. balteatus*, *Eupeodes luniger*, *Helophilus trivittatus*, *Melanostoma mellinum* et *Syritta pipiens*). Trois individus appartenant au genre *Sphaerophoria* n'ont pas pu être identifiés au niveau de l'espèce.

Concernant la détection d'ADN de puceron à partir de syrphes adultes, un signal positif est obtenu pour le marqueur *COI-pucerons* pour 0 à 6 syrphes d'élevage selon le filtre utilisé et un signal positif est détecté pour 0 à 4 syrphes sauvages (Table 5.3). Ces OTU sont majoritairement identifiés comme *D. plantaginea*, mais un OTU détecté sur un syrphes d'élevage est identifié comme *Brachycaudus helichrysi*.

TABLE 5.3 – **Détection d'ADN de puceron à partir des syrphes d'élevage ou sauvages.** Pour les syrphes 1 à 8, l'ADN a été extrait à partir de l'abdomen des syrphes. Pour les syrphes 9 et 10, le syrphes entier a été utilisé. La valeur 1 indique la présence d'un OTU identifié comme *D. plantaginea* et la valeur 0 indique qu'aucun OTU n'a été détecté et/ou n'a été retenu par le filtre. Filtre A : 'Maximum de contamination basée sur les témoins négatifs' et Filtre B : 'Proportion seuil par échantillon basée sur les témoins positifs'.

Elevage	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Filtre A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Filtre B	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1
Sauvage	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Filtre A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Filtre B	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0

2.4.2. Niveau d'identification du pollen à partir des syrphes sauvages

Sans application de filtre, le nombre de taxons et le niveau d'identification des plantes varient selon la base de données utilisée. Au total, 19 taxons ont été identifiés avec la base *rbcL* locale, 22 avec la base *ITS2* locale, 24 avec la base *rbcL* incluse dans FROGS et 10 avec la base *ITS2* incluse dans FROGS. Le niveau d'identification est meilleur pour les bases de référence locales, avec une plus grande proportion d'OTU identifiés à l'espèce et aucun OTU sans identification (Table 5.4). Cinq OTU n'ont pas pu être discriminés au-delà du genre (*Cirsium*, *Crepis*, *Rubus*, *Sonchus* et *Festuca*) avec les bases locales. Avec *rbcL*, les taxons de Rosaceae sont difficiles à différencier.

TABLE 5.4 – Proportion (%) d’OTU assignés à une seule espèce, à plusieurs espèces d’un même genre ou d’une même famille selon la base de données utilisée pour réaliser les assignations.

	Espèce	Genre	>Genre	Sans-assignation
<i>rbcl_FROGS</i>	20,51	33,33	46,15	0
<i>rbcl_locale</i>	79,49	7,69	12,82	0
<i>ITS2_FROGS</i>	82,86	0	0	17,14
<i>ITS2_locale</i>	93,06	6,94	0	0

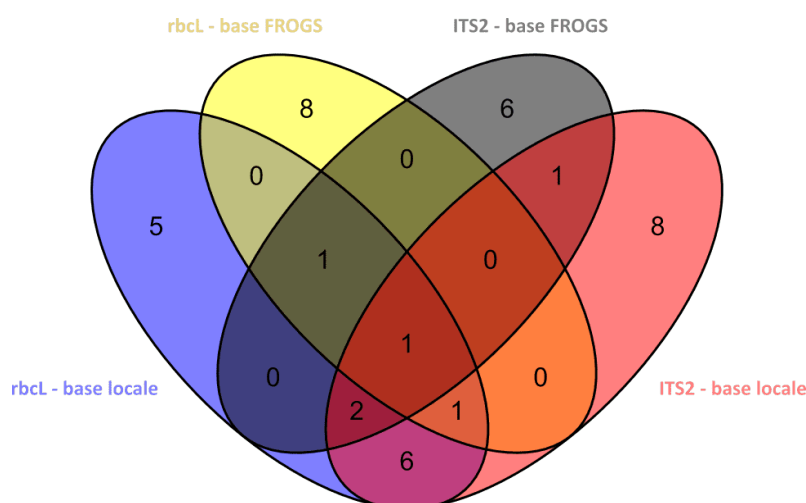


FIGURE 5.4 – Diagramme de Venn des espèces identifiées avec les quatre bases de données employées pour l’assignation des OTU obtenus avec les marqueurs *rbcl* ou *ITS2*.

En considérant uniquement les OTU identifiés à l’espèce, nous pouvons voir qu’il n’y a que peu de similitudes entre les assignations obtenues avec les quatre bases de données. Les deux bases locales sont celles partageant le plus grand nombre d’espèces communes (Fig. 5.4). Enfin, certaines assignations faites au niveau du genre ou de l’espèce avec les bases de données incluses dans FROGS sont peu probables (e.g. *Citronella moorei*, *Durio singaporensis*, *Petenaea cordata*). L’utilisation des bases de référence locales est donc à privilégier.

Nous avons ensuite comparé différents filtres pour éliminer les OTU correspondant à des faux-positifs, en utilisant les assignations réalisées avec les bases locales (Fig. 5.5). Avec le premier filtre basé sur les témoins négatifs, 9 associations syrphes-plantes sont conservées pour *rbcl* et 14 pour *ITS2*. Le second filtre est plus large et conserve 30 associations syrphes-plantes avec *rbcl* et 49 avec *ITS2*. Ces signaux correspondent parfois à des OTU de très petite taille (< 10 séquences).

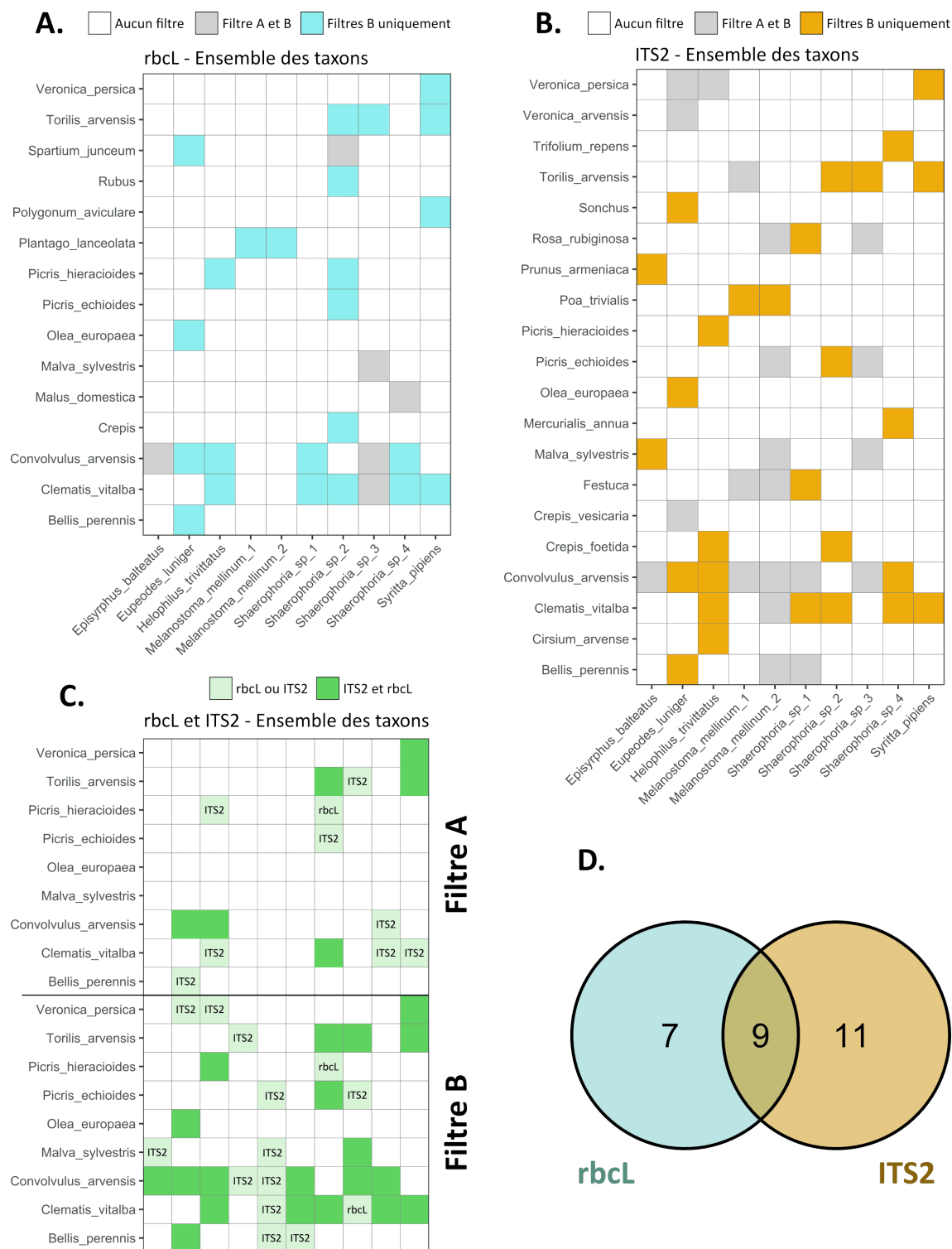


FIGURE 5.5 – Application de différents filtres pour éliminer les OTU faux-positifs. Les données utilisées proviennent des assignations réalisées avec les bases de données locales. Les figures A et B présentent les associations syrphes-plantes conservées par un à deux filtres, pour chaque marqueur. La figure C montre les associations syrphes-plantes identifiées par un ou deux marqueurs et pour chaque filtre. La figure D est un diagramme de Venn montrant le nombre d'espèces identifiées avec chacun des deux marqueurs en utilisant les bases locales. Filtre A : 'Maximum de contamination basée sur les témoins négatifs', Filtre B : 'Proportion seuil par échantillon basée sur les témoins positifs'.

2.5. Apports pour l'analyse globale

L'objectif de cette première partie était d'évaluer la possibilité d'identifier par *metabarcoding* du pollen consommé par des syrphes adultes et, si possible, des traces d'ADN de puceron. Plusieurs éléments se dégagent de ces pré-tests et permettent d'améliorer le protocole en vue d'une expérimentation plus large.

Tout d'abord, il est possible d'identifier la majorité des syrphes à l'espèce, mais cela reste difficile pour certains genres, notamment *Sphaerophoria*. Une solution est de photographier les syrphes adultes avant l'extraction ADN, afin de confirmer les identifications obtenues ensuite et éventuellement de discriminer deux espèces du même genre. Ensuite, la détection et l'identification d'ADN de puceron à partir de syrphes adultes n'est pas totalement satisfaisante, puisqu'un signal est détecté pour au maximum 6 syrphes d'élevage sur 10. Or, ces syrphes ont été mis en alcool dès leur émergence. Le taux de détection pourrait donc être plus bas pour des syrphes adultes collectés sur la végétation. De plus, le nombre de signaux détectés varie selon le filtre utilisé, et certains pourraient donc être de faux-positifs. Une autre approche pour étudier les relations que les syrphes entretiennent à la fois avec les plantes et les pucerons pourrait être de collecter des larves de syrphes dans les colonies de puceron cendré, en parallèle des captures de syrphes adultes sur la végétation. Il serait ainsi possible de comparer les communautés de syrphes visitant la flore des vergers aux communautés de syrphes présents dans les colonies de puceron cendré. Dans ce cas, les relations entre syrphes, plantes et pucerons sont étudiées au niveau de l'espèce de syrphes, et non pas de l'individu.

Concernant l'identification du pollen à partir de syrphes adultes, les bases de données construites localement donnent de meilleurs résultats (pas d'identification aberrante, plus grande proportion d'identification à l'espèce). Néanmoins, bien qu'une majorité de taxons soient identifiés à l'espèce, certaines espèces d'un même genre restent difficiles à discriminer. Nous avons également constaté que le choix des filtres utilisés pour éliminer les faux-positifs peut fortement impacter les résultats et les conclusions de l'étude. S'appuyer sur les témoins négatifs pour définir une valeur seuil semble être la méthode la plus appropriée (Arstingstall et al., 2023). Il est donc nécessaire d'inclure plusieurs témoins négatifs, d'extraction et de PCR, pour définir ces valeurs seuils. Inclure des témoins positifs (par exemple, de l'ADN d'espèces végétales clairement identifiées) peut aussi permettre de valider la méthode de filtrage. Enfin, les résultats ne diffèrent pas entre les échantillons dont l'ADN a été extrait à partir du syrpe entier ou à partir du thorax et de l'abdomen. Dans la suite, nous utiliserons uniquement des syrphes disséqués pour minimiser la quantité d'ADN provenant des syrphes.

3. Application : explorer les relations entre les syrphes aphidiphages, les plantes et les pucerons

Les résultats de cette première expérimentation ont permis la mise en place d’une étude plus large afin d’étudier les relations entre les syrphes, les plantes et les pucerons en verger de pommiers.

3.1. Collecte des syrphes adultes et des larves

Des syrphes ont été collectés en 2022, dans deux vergers de la Basse Vallée de la Durance sélectionnés sur la base de l’abondance de syrphes observés en 2021. Dans chaque verger, nous avons réalisé trois sessions de collecte (fin avril, mi-mai et mi-juin). Les échantillonnages consistaient à parcourir le verger en zig-zag pendant 2h (deux personnes) et à collecter au filet tous les syrphes adultes observés sur la végétation du rang, de l’inter-rang et des bordures. Chaque syrphe a été collecté individuellement, stocké en alcool à 70° et conservé à -20°C. En parallèle, nous avons prélevé des larves de syrphes dans des colonies de pucerons cendrés (30 min de recherche/verger). Les captures de syrphes ont été réalisées entre 9h et 12h, lors de journées ensoleillées et avec un vent faible. Au total, nous avons collecté 178 syrphes : 118 adultes (29 en avril, 59 en mai et 30 en juin) et 60 larves (22 fin avril et 38 en mai, Table 5.1).

3.2. Extraction, amplification et séquençage

Avant l’extraction de l’ADN, tous les syrphes adultes ont été photographiés, puis disséqués pour ne conserver que le thorax et l’abdomen, en utilisant du matériel stérile pour chaque échantillon. Les larves de syrphes ont été utilisées entières. Les extractions et les PCR1 ont été réalisées de la même manière que lors des pré-tests. En plus des syrphes, quatre témoins négatifs d’extraction, deux témoins négatifs de PCR et deux témoins positifs ont été inclus. Pour les témoins positifs, nous avons utilisé de l’ADN extrait à partir de pollen collecté sur deux espèces végétales, *Malva sylvestris* et *Convolvulus arvensis*. Pour chaque échantillon, les produits issus des quatre PCR (*COI-syrphes*, *COI-pucerons*, *rbcL* et *ITS2*) ont été poolés selon ces proportions : 2µL pour *COI-syrphes*, 10 µL pour *COI-pucerons*, 8 µL pour *ITS2* et 10 µL pour *rbcL*. La PCR2 a été réalisée en utilisant des combinaisons uniques d’index (index combinatoires Nextera) et le séquençage (2x150pb) a été réalisé avec le système NextSeq 2000 P1 par la PGTB.

3.3. Traitement et analyse des données

3.3.1. Assignment taxonomique et élimination des faux-positifs

Le traitement bioinformatique des données issues de séquençage a été réalisé à l'aide de FROGS, en suivant la procédure présentée dans la première partie. Pour l'assignation des marqueurs *COI-syrphes* et *COI-pucerons*, nous avons à nouveau utilisé la base BOLD_1percentN_2019 disponible dans FROGS et pour *rbcL* et *ITS2*, nous avons utilisé les bases de références locales. L'assignation a été considérée comme valide pour une valeur de BLAST > 98%.

Pour les syrphes, l'identification se fonde sur l'assignation taxonomique de l'OTU majoritaire obtenu pour chaque échantillon avec le marqueur *COI-syrphes* (>90% des séquences). Pour les adultes, les identifications ont de plus été confirmées grâce aux photographies prises avant extraction. Néanmoins, pour certains genres, une ambiguïté persiste entre plusieurs espèces. Si l'ambiguïté concerne seulement deux espèces, elles sont indiquées (e.g. *Spaherophoria scripta/rueppellii*). Si l'ambiguïté concerne un plus grand nombre d'espèces, seul le nom du genre est indiqué (e.g. *Pipiza* spp.). Quatre syrphes adultes et deux larves n'ont pu être identifiés au-delà de la sous-famille.

De la même manière, concernant les plantes et les pucerons, dans le cas où deux espèces du même genre sont attribuées à un même OTU, les deux espèces sont indiquées (e.g. *Lolium perenne/rigidum*, *Crepis vesicaria/setosa* ou *Aphis pomi/spiraecola*). Dans le cas où plus de deux espèces du même genre sont associées à un même OTU, seul le nom de genre est indiqué dans la suite des analyses (e.g. *Poa* spp., *Ranunculus* spp. ou *Megoura* spp.). Pour le marqueur *rbcL*, deux OTU sont assignées à plusieurs genres d'une même famille. Nous avons donc conservé le niveau famille pour ces deux OTU (i.e. Rosaceae et Asteraceae). Enfin, quatre OTU n'ont reçu aucune assignation avec le marqueur *ITS2*. Les séquences correspondantes ont donc été identifiées via BOLD et assignées au niveau du genre ou de l'espèce avec une valeur seuil au-dessus de 98%. Quatre taxons ont ainsi été identifiés : *Achillea* spp., *Capsella bursa-pastoris*, *Ranunculus* et *Sisymbrium officinale*.

Pour les marqueurs *COI-pucerons*, *rbcL* et *ITS2*, un filtre est ensuite appliqué pour éliminer les faux-positifs. La valeur seuil est basée sur le nombre de séquences des OTU détectés dans les témoins négatifs d'extraction et de PCR. Elle est calculée d'après la méthode proposée par (Arstingstall et al., 2023) : moyenne + 1.645 × écart-type. Les valeurs seuils ainsi définies sont de 160 séquences pour *COI-pucerons*, 1186 séquences pour *rbcL* et 2261 séquences pour *ITS2*. Une fois les OTU filtrés, les tables d'abondance ont été converties en présence-absence : les OTU contenant un nombre de séquences supérieur à la valeur seuil prennent la valeur 1, les autres la valeur 0.

3.3.2. Analyse des relations syrphes-pucerons

Nous avons d'abord comparé les taxons de syrphes collectés sur la végétation aux taxons de syrphes identifiés à partir des larves prélevées dans les colonies de *D. plantaginea*. Nous avons ensuite construit deux réseaux bipartites à partir des signaux détectés avec le marqueur *COI-pucerons* sur les syrphes adultes et sur les larves de syrphes (package : *bipartite*, fonction *plotweb*, Dormann, 2011).

3.3.3. Analyse des relations syrphes-plantes

Pour chaque échantillon, nous avons combiné les taxons détectés avec les marqueurs *rbcL* et *ITS2*. Si un taxon est détecté avec les deux marqueurs, sa présence n'est comptabilisée qu'une fois. Nous avons construit un réseau d'interactions représentant les relations entre taxons de syrphes et taxons de plantes (package : *bipartite*). Deux métriques ont ensuite été calculées : le nombre moyen de liens par taxon de syrphes et le nombre moyen de liens par taxon de plante pour l'ensemble de la saison et par session, pour évaluer le caractère généraliste des syrphes vis-à-vis des plantes (Zemenick et al., 2019). Nous avons examiné si les valeurs obtenues différaient de celles attendues sous l'hypothèse que les relations entre syrphes et fleurs soient basées sur leurs abondances relatives. Nous avons donc généré 1000 matrices aléatoires (package : *bipartite*, fonction : *nullmodel*, méthode : *r2d*), puis comparé la valeur observée pour chaque métrique à la distribution des valeurs issues de 1000 itérations (Zemenick et al., 2019). Si la mesure observée se situe hors de l'intervalle de confiance à 95% des modèles nuls, alors elle est considérée comme significativement différente des résultats du modèle nul. Une valeur observée supérieure aux valeurs prédites traduit un comportement généraliste, tandis qu'une valeur observée inférieure correspond à un comportement spécialiste.

Nous avons ensuite comparé les communautés végétales associées à chaque taxon de syrphes, en considérant uniquement les taxons de syrphes les plus abondants (i.e. ayant un nombre d'individus supérieur à 3). Les différences dans la composition des communautés de plantes associées à chaque taxon de syrphes ont été visualisées par positionnement multidimensionnel non-métrique (NMDS), basé sur les matrices de dissimilarité de Bray-Curtis. Les différences dans les communautés de plantes ont ensuite été testées à l'aide d'une analyse de similarité (ANOSIM) avec 1000 permutations (package R : *vegan*, Oksanen et al., 2022). Le nombre de liens par individu a été comparé entre ces taxons ainsi qu'entre les deux vergers grâce à des modèles linéaires généralisés (GLM), en utilisant une distribution de poisson ou une distribution binomiale négative (package : *MASS*, Venables et Ripley, 2002). Enfin, la proportion d'individus présentant un signal positif pour chaque taxon de plantes a été calculée et représentée sous forme de matrice (package : *ggplot2*).

3.4. Résultats

Au total, 99 704 026 séquences ont été obtenues grâce au séquençage et 93 542 427 séquences ont été conservées après les différents traitements appliqués via FROGS (62 516 478 pour *COI-syrphes*, 10 033 761 pour *COI-pucerons*, 4 703 530 pour *rbcL* et 16 288 658 pour *ITS2*). Les négatifs d'extraction comptaient, en moyenne, pour 0,23% du total des *reads* finaux (0,28% pour *COI-syrphes*, 0,001% pour *COI-pucerons*, 0,03% pour *rbcL* et 0,6% pour *ITS2*) et les négatifs de PCR pour 0,06% du total (0,001% pour *COI-syrphes*, 0,002% pour *COI-pucerons*, 0,02% pour *rbcL* et 0,23% pour *ITS2*).

3.4.1. Identification des syrphes

Au total, nous avons identifié 8 espèces et 13 genres de syrphes (Table 5.1). Les taxons identifiés sont principalement carnivores et aphidiphages au stade larvaire (Table 5.2). Parmi les syrphes adultes collectés sur la végétation, le genre *Sphaerophoria* est majoritaire et représente 47% du total (Figure 5.6). Trois genres - *Episyrphus*, *Epistrophe* et *Syrphus* - représentent la majorité des larves de syrphes collectées dans les colonies de *D. plantaginea*. Bien que dominant parmi les syrphes adultes, le genre *Sphaerophoria* n'est pas détecté parmi les larves de syrphes (Figure 5.6). Les syrphes adultes ont été majoritairement collectés dans le premier verger, tandis que les larves ont majoritairement été collectées dans le second verger (Table 5.1). Néanmoins, la répartition taxonomique entre les deux stades est la même dans les deux vergers : les genres *Episyrphus*, *Epistrophe* et *Syrphus* sont dominants parmi les larves et le genre *Sphaerophoria* est dominant parmi les adultes collectés sur la végétation (Table 5.1).

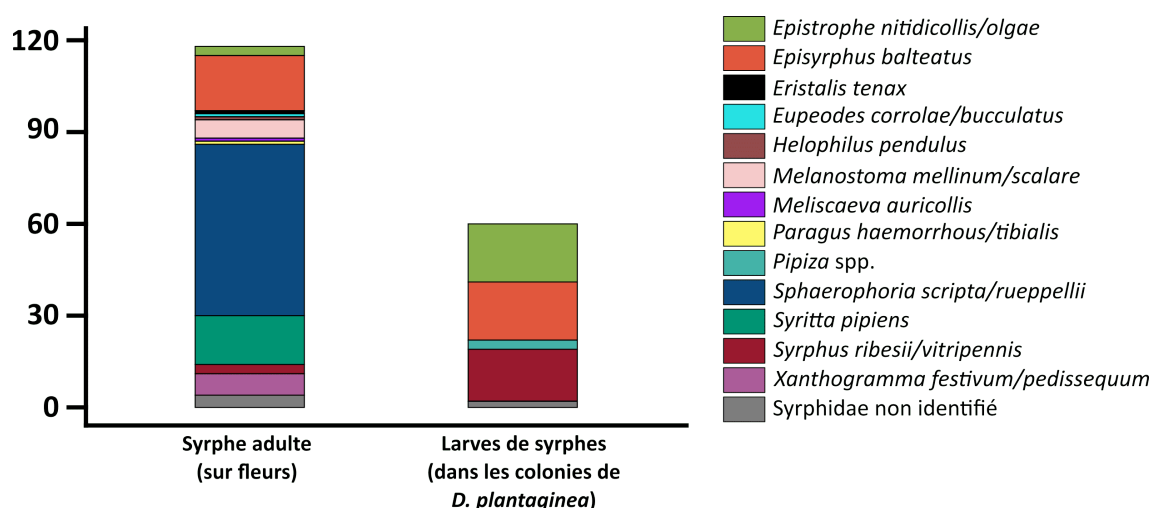


FIGURE 5.6 – Nombre de syrphes adultes collectés sur la végétation des vergers et nombre de larves collectées dans les colonies de *D. plantaginea*, pour chaque taxon. Quatre adultes et deux larves n'ont pas pu être identifiés au-delà de la famille.

3.4.2. Relations syrphes-pucerons

Avec le marqueur *COI-pucerons*, les signaux détectés à partir des larves de syrphes correspondent uniquement à des espèces de pucerons ravageurs du pommier (*D. plantaginea* et *A. spiraecola/pomi*, Figure 5.7). Un signal positif pour *D. plantaginea* est détecté pour l'ensemble des larves, et 10% présentent en plus un signal positif pour *A. pomi/spiraecola*. Des signaux positifs sont également détectés pour 34% des syrphes adultes, avec un à quatre taxons de pucerons identifiés par syrphe. Les espèces majoritaires correspondent à des pucerons attaquant le pommier. Un signal correspondant à *D. plantaginea* est ainsi détecté pour 25% des syrphes adultes et un signal correspondant à *A. spiraecola* et/ou *A. pomi* pour 6% des syrphes adultes. Les autres taxons de pucerons détectés sont polyphages et peuvent avoir des plantes hôtes variées (Encyclo'Aphid, 2023). Par exemple, les pucerons du genre *Acyrtosiphon* colonisent surtout des Fabaceae et le genre *Sitobion* est principalement inféodé aux Poaceae (Encyclo'Aphid, 2023). Enfin, il est à noter que des signaux positifs ont été détectés sur 31% des syrphes adultes appartenant à l'espèce *Syrpitta pipiens* (5 individus sur 16). Or, cette espèce est détritivore au stade larvaire, et ne consomme a priori pas de pucerons (Magni et al., 2013; Speight & Sarthou, 2017).

3.4.3. Relations syrphes-plantes

Nous avons identifié 39 taxons de plantes (18 taxons avec les deux marqueurs, 9 avec *rbcL* uniquement, 12 avec *ITS2* uniquement), en combinant les marqueurs *rbcL* et *ITS2*. Un plus grand nombre de taxons de plantes est détecté dans le premier verger par rapport au second (37 contre 17, Figure 5.S4). Les OTU ont principalement été assignés à l'espèce mais 10% sont assignés au genre, avec une confusion le plus souvent entre deux espèces, et 5% sont identifiés à la famille (Figure 5.8). Pour treize syrphes adultes (soit 11% du total), aucun OTU n'a été détecté ou conservé avec les marqueurs *ITS2* et *rbcL*. A noter que des signaux ont également été détectés avec les marqueurs *rbcL* et *ITS2* pour 60% des larves de syrphes. Les taxons détectés sont majoritairement *Malus domestica* ou des espèces anémogames (e.g. *Avena barbata*, *Festuca pratensis*, *Holcus lanatus*, *Juglans regia*, *Poa trivialis* ou *Quercus ilex*).

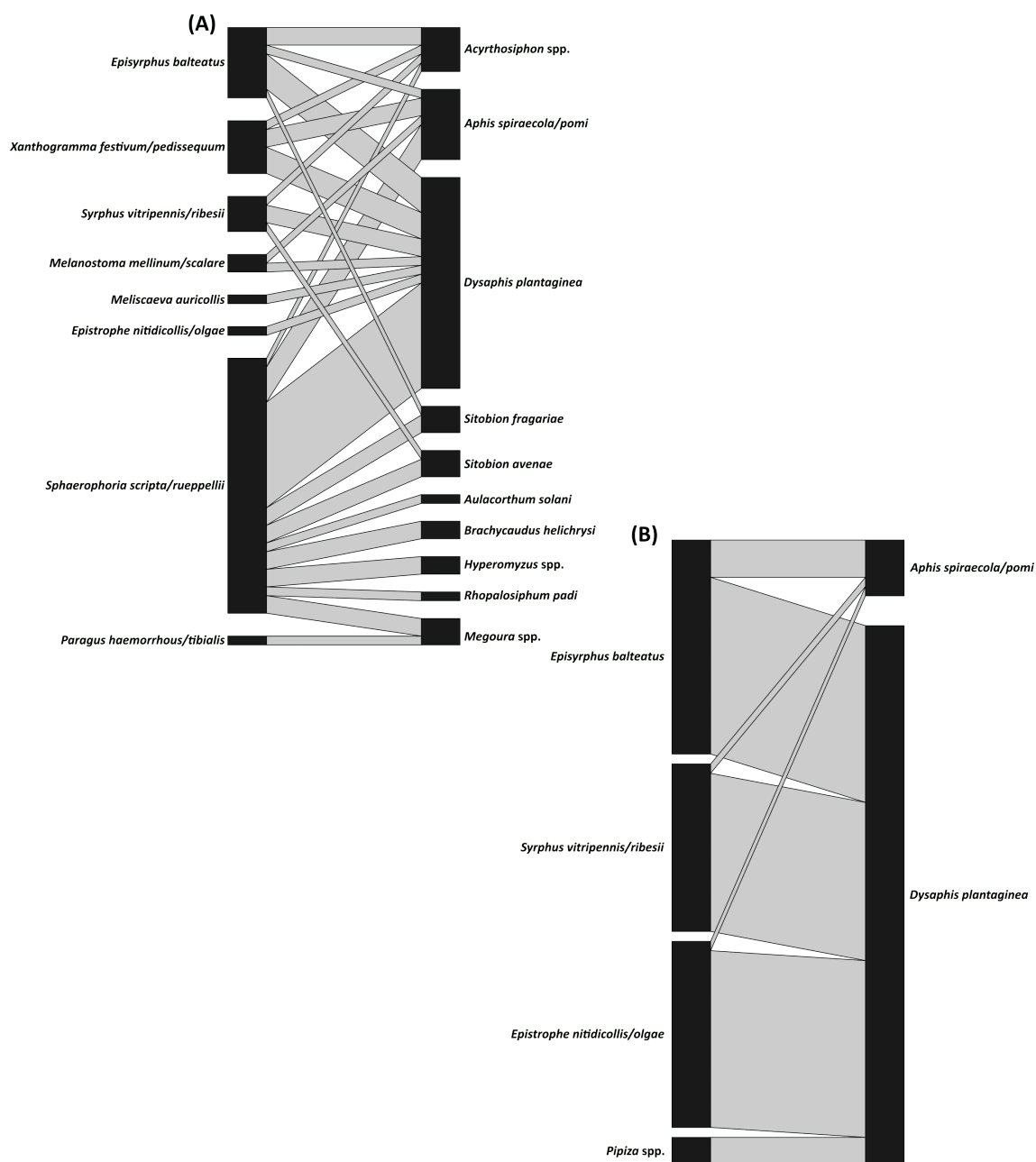


FIGURE 5.7 – Réseaux d'interactions bipartite entre les syrphes et les pucerons construits sur la base des signaux positifs détectés avec le marqueur *COI-pucerons*. A : signaux détectés sur les syrphes adultes collectés sur la végétation et B : signaux détectés sur les larves de syrphes prélevées dans des colonies de *D. plantaginea*. Pour les syrphes, la hauteur des barres indique l'abondance relative de chaque taxon, et la largeur des liens indique le nombre d'individus présentant un signal positif pour un taxon de puceron donné. Pour les pucerons, la hauteur de la barre indique le nombre de syrphes sur lesquels chaque taxon a été détecté, et la largeur du lien indique la proportion appartenant à chaque taxon de syrpe.

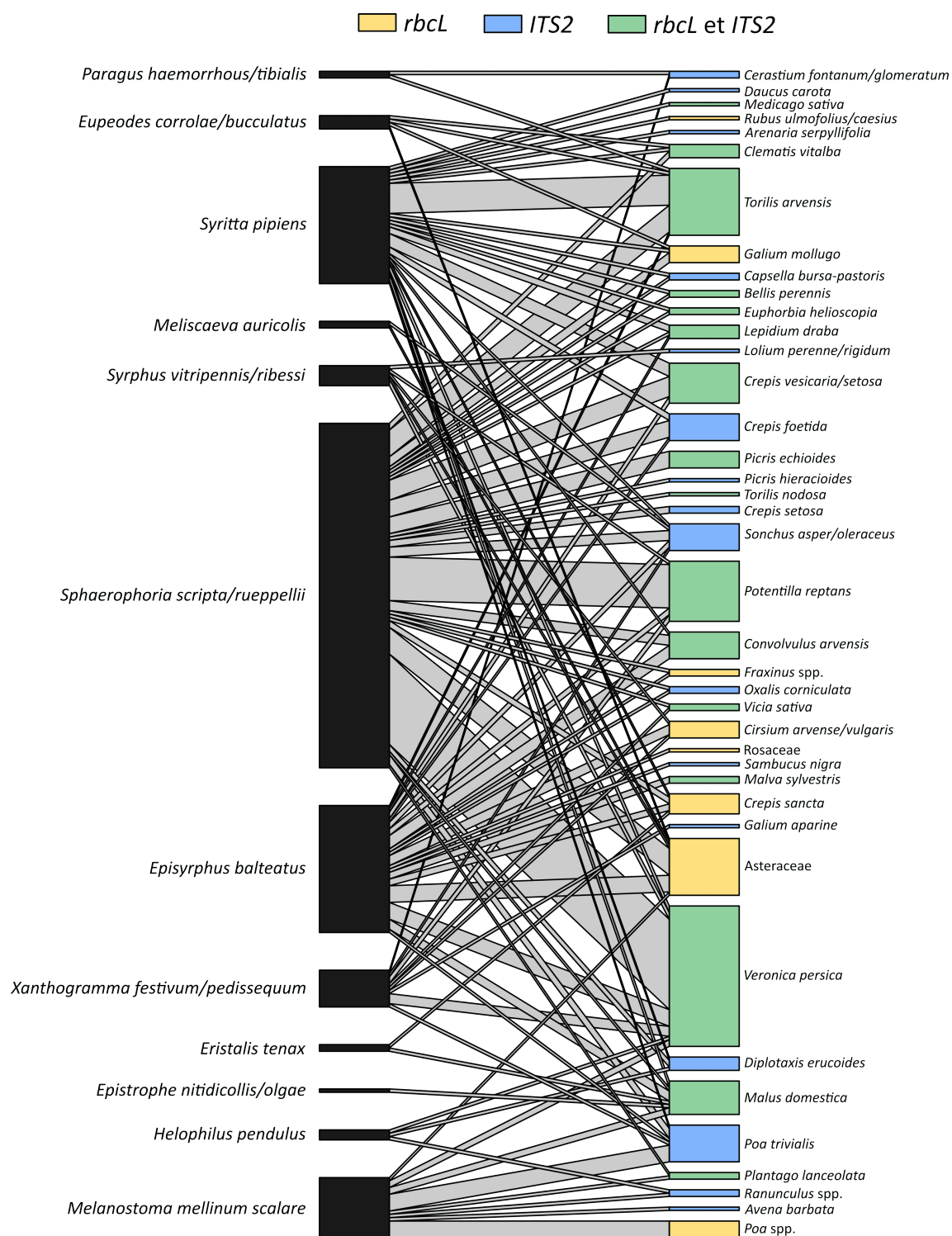


FIGURE 5.8 – Réseau construit à partir des OTU détectés sur les syrphes adultes (n=114) avec les marqueurs *rbcL* et *ITS2*. Pour les syrphes, la hauteur des barres indique l'abondance relative de chaque taxon, et la largeur des liens indique le nombre d'individus porteurs de pollen de chaque taxon de plantes. Pour les plantes, la hauteur de la barre indique le nombre de syrphes sur lesquels chaque taxon a été détecté, et la largeur du lien indique la proportion appartenant à chaque taxon de syrphes. Pour les plantes, la couleur indique si le taxon est identifié avec un ou deux marqueurs.

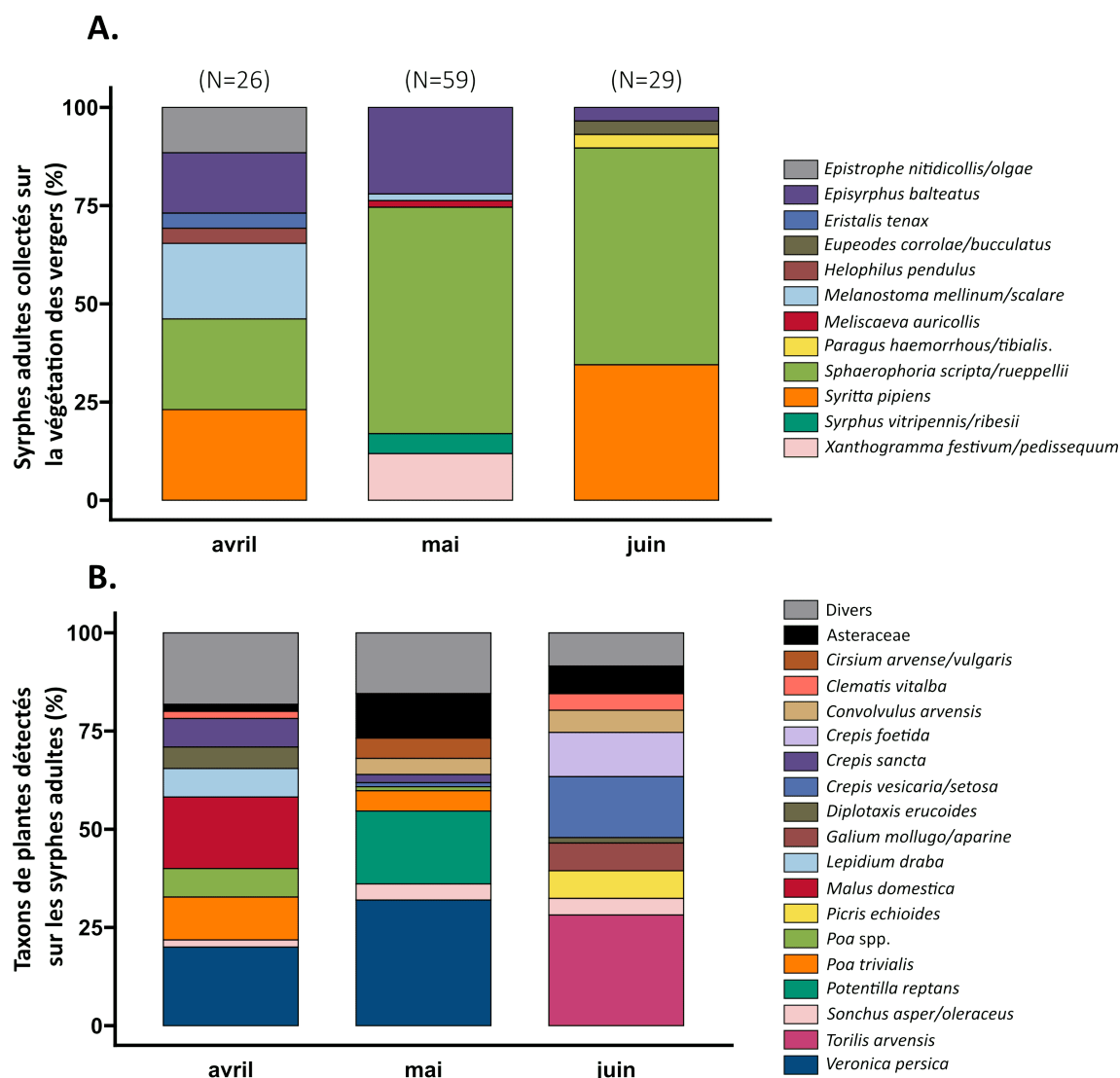


FIGURE 5.9 – **Composition des communautés de syrphes visitant la flore des vergers et des communautés végétales associées aux syrphes.** **A.** Proportion relative de chaque taxon de syrpe collecté sur la flore des deux vergers, pour chaque session d'échantillonnage et **B.** proportion relative des taxons de plantes associés aux syrphes adultes, tout taxon confondu, pour chaque session d'échantillonnage. Les résultats obtenus avec les deux marqueurs (*rbcL* et *ITS2*) ont été combinés.

En considérant l'ensemble des syrphes adultes, le pollen détecté provient principalement de *V. persica* et *Malus domestica* en avril, de *V. persica* et *Potentilla reptans* en mai et de *Torilis arvensis* et *Cirsium* spp. en juin (Figure 5.9). En moyenne, 16.1 taxons de plante sont détectés pour chaque taxon de syrpe et 3.5 taxons de syrpe sont associés à chaque taxon de plante. Ces valeurs sont supérieures aux valeurs prédites par les modèles nuls basés sur l'abondance relative de chaque taxon (Table 5.5). Les syrphes étudiés ici présentent donc un comportement généraliste vis-à-vis des plantes.

TABLE 5.5 – **Généralité des syrphes vis-à-vis des plantes.** Deux métriques ont été calculées : le nombre moyen de liens par taxon de plante et le nombre moyen de liens par taxon de syrphe. Les valeurs observées sont comparées aux valeurs obtenues avec un modèle nul (intervalle de confiance à 95%). Les modèles nuls ont été générés de manière à tenir compte des abondances relatives de chaque taxon de syrphe et de plantes (fonction “nullmodel”, method = “r2d”, 1000 répétitions).

		Valeur observée	IC 95% estimé
Nombre moyen de liens vers les plantes	Trois sessions	3.54	[2.65; 4.67]
	Avril	3.27	[2.38; 2.41]
	Mai	2.87	[2.15; 2.17]
	Juin	2.56	[1.88; 1.90]
Nombre moyen de liens vers les syrphes	Trois sessions	16.08	[15.12; 15.19]
	Avril	7.78	[5.83; 5.89]
	Mai	9.31	[7.28; 7.34]
	Juin	8.94	[6.65; 6.72]

Au niveau individuel, le nombre de taxons de plante détectés par syrphe adulte est, en moyenne, de 1.97 ($\pm$ 1.4). Onze taxons de plantes n’ont été détectés que pour un seul individu. Le nombre de liens par individu ne varie pas selon le taxon de syrphe considéré ($F=0.54$, $df=4$, $p=0.7$) ou selon le verger ($F=1.72$, $df=1$, $p=0.19$). Le nombre de taxons de plantes détectés par individu varie de 0 à 6 dans les deux vergers, avec 1.8 ($\pm$ 1.4) liens observés par individu dans le premier verger et 2.3 ($\pm$ 1.5) dans le second verger (Figure 5.S4).

Deux espèces végétales - *Veronica persica* et *Poa trivialis* - sont communes aux cinq taxons de syrphe majoritaires (Figure 5.1). Toutefois, la proportion d’individus présentant un signal positif pour ces deux espèces est variable. Par exemple, un signal correspondant à *V. persica* est détecté pour 5,7% des *S. pipiens*, tandis que cette proportion s’élève à 26,2% pour *S. scripta/rueppellii* et à 27,3% pour *X. festivum/pedissequum*.

L’ordination NMDS montre de légères différences dans la composition des communautés végétales associées aux taxons de syrphe majoritaires, qui sont détectées comme significatives par le test ANOSIM (Figure 5.10). Par exemple, le genre *Melanostoma* est principalement associé à *M. domestica* et à des Poaceae (*Poa* spp., *Avena barbata*). *Torilis arvensis* est observée comme étant fréquemment visitée par *Syrpitta pipiens* et est à l’inverse peu fréquente pour *Episyrphus balteatus* (Figure 5.1).

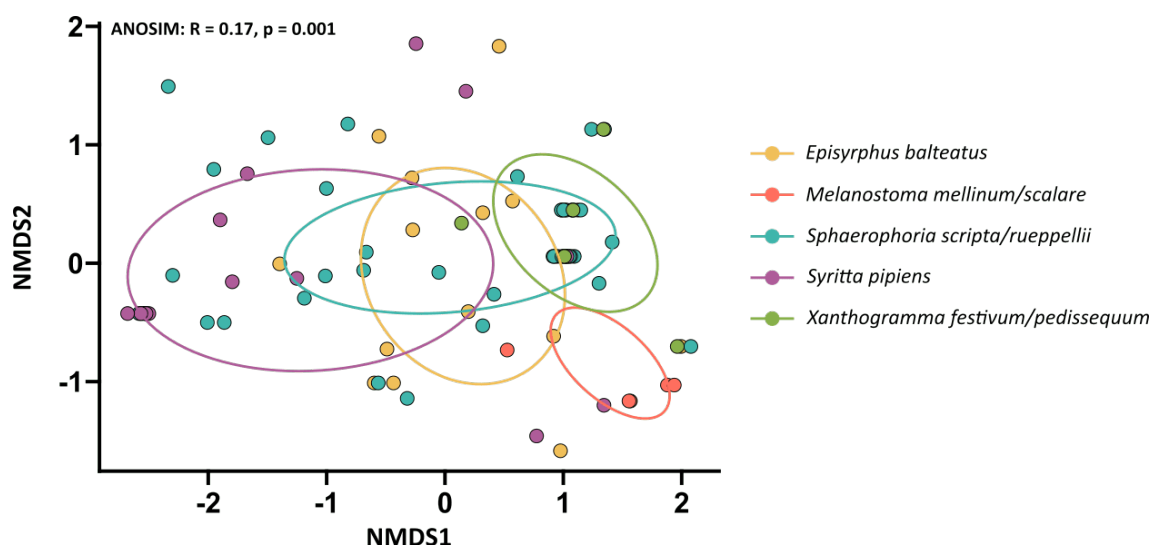


FIGURE 5.10 – Positionnement non-métrique multidimensionnel de la divergence des communautés végétales entre les cinq taxons de syrpe majoritaires.

Ces différences peuvent, en partie, s'expliquer par la phénologie des plantes et la période de collecte des différents taxons de syrpe. Ainsi, *T. arvensis* fleurit, en théorie, à partir de juin (Table A.2) et *S. pipiens* et *Sphaerophoria* ont en grande partie été collectés en juin - 60% des individus identifiés comme *S. pipiens* et 40% des individus du genre *Sphaerophoria*, contre seulement 5% pour *E. balteatus*. Si l'on considère uniquement la session de mai (i.e. 50% des individus collectés), des différences sont également observées. Par exemple, *P. reptans* et *V. persica* dominent les communautés végétales associées à *Sphaerophoria* spp. tandis que les Asteraceae, notamment *Sonchus asper/oleraceus* et *Cirsium arvense* sont principalement associées à *E. balteatus*.

Néanmoins, peu de taxons de plantes sont associés à un unique taxon de syrpes. Si l'on considère les taxons de syrpes les plus abondants, nous pouvons observer que la majorité des taxons de plantes sont associés à au moins deux taxons de syrpe, même si la proportion d'individus visitant chaque plante peut varier (Figure 5.1). Nous n'observons pas de différences majeures dans la composition des communautés végétales associées à *Episyrrhus balteatus* (Figure 5.10), qui est principalement impliquée dans la régulation de *D. plantaginea*, par rapport aux autres taxons de syrpe collectés sur la végétation. Ainsi, seules deux espèces - *Sambucus nigra* et *Malva sylvestris* - sont associées uniquement à *E. balteatus* (Figure 5.1).

4. Discussion

Dans cette dernière partie, nous revenons sur les deux questions posées au cours de ce chapitre et synthétisons les réponses apportées par nos résultats. Nous discuterons ensuite des apports méthodologiques développés dans cette étude, des voies d'améliorations possibles et des perspectives ouvertes.

4.1. Les syrphes visitant les espèces végétales des vergers de pommier sont-ils impliqués dans la régulation des pucerons du pommier, notamment de *D. plantaginea* ?

Nous avons identifié 13 genres et 8 espèces de syrphes visitant la flore du rang et de l'inter-rang des vergers de pommiers, dominés par le genre *Sphaerophoria* et l'espèce *Episyrphus balteatus*. De manière similaire, Rossi et al., 2006 ont identifié 17 espèces de syrphes en vergers de pommiers. *Sphaerophoria scripta* et *Eupeodes corollae* étaient les espèces dominantes. Wojciechowicz-Żytka et Wilk, 2023 ont identifié 26 espèces de syrphes, collectés dans des vergers de pommiers et les habitats adjacents. *Episyrphus balteatus* était l'espèce dominante, suivie de *Eupeodes corollae* et *Sphaerophoria scripta*.

Parmi les larves collectées dans les colonies de *D. plantaginea*, nous avons identifié quatre genres : *Episyrphus*, *Syrphus*, *Epistrophe* et *Pipiza*. Les genres *Episyrphus* et *Syrphus* ont également été observés comme dominants parmi les larves collectées dans les colonies de puceron cendré dans d'autres études (Dib et al., 2020 ; Miñarro, Hemptinne & Dapena, 2005 ; Wojciechowicz-Żytka & Wilk, 2023). Toutefois, les travaux de Dib et al., 2020 ont recensé 8 genres de syrphes impliqués dans la prédation de *D. plantaginea*. Notamment, certains genres recensés uniquement sur la végétation dans notre étude ont été observés par ces auteurs dans les colonies de puceron cendré (e.g. *Meliscaeva*, *Paragus*, Dib et al., 2020). Le genre *Sphaerophoria* a également été recensé dans des colonies de pucerons cendrés par Wojciechowicz-Żytka et Wilk, 2023. Les résultats obtenus avec le marqueur *COI-pucerons* vont dans le même sens, avec des signaux correspondant à *D. plantaginea* détectés sur des taxons de syrphe adultes non identifiés parmi les larves dans les colonies de pucerons cendrés (e.g. *Xanthogramma*, *Meliscaeva*, *Paragus* ou *Sphaerophoria*). Parmi les syrphes visitant la flore des vergers de pommiers, certains genres - *Episyrphus* et *Syrphus* - apparaissent donc comme les principaux contributeurs à la prédation de *D. plantaginea*, mais d'autres genres tels que *Meliscaeva*, *Paragus* ou *Sphaerophoria* peuvent également y contribuer.

De plus, nos résultats montrent que les syrphes prédatant *D. plantaginea* peuvent également prédateur d'autres pucerons du pommier tels que *Aphis spiraeicola* ou *A. pomi*.

Pour ces deux espèces de pucerons, des signaux positifs ont été détectés avec le marqueur *COI-pucerons* sur différents taxons de syrphe (*Episyrphus balteatus*, *Syrphus* spp. ou *Sphaerophoria* spp.), au stade adulte et larvaire. En revanche, aucun signal correspondant à *Eriosoma lanigerum* n'a été détecté. Enfin, 15% des syrphes adultes collectés sur la végétation appartiennent aux espèces *Eristalis tenax* et *Syrirta pipiens*, qui ne sont pas prédatrices au stade larvaire mais détritivores.

Une limite, néanmoins, est que les syrphes adultes ont été majoritairement collectés dans le premier verger, tandis que les larves ont majoritairement été collectées dans le second verger. La dynamique spatio-temporelle des relations entre les syrphes et les pucerons devrait donc être étudiée par la suite dans un plus grand nombre de vergers, pour confirmer nos observations.

4.2. Les plantes consommées diffèrent-elles selon le taxon de syrphe considéré ?

Certaines différences dans la composition des communautés végétales associées à chaque taxon de syrphe peuvent être notées. Par exemple, le genre *Melanostoma* est principalement associé à des Poaceae. *Potentilla reptans* fait partie des espèces les plus visitées par le genre *Xanthogramma* alors que d'autres taxons ne la visite pas (e.g. *Melanostoma* et *Syrirta pipiens*). A l'inverse, *Torilis arvensis* est l'espèce principalement associée à *S. pipiens* mais aucune relation n'est observée avec les genres *Xanthogramma* et *Melanostoma*. Ces différences s'expliquent en partie par la phénologie des plantes et la période de collecte des différents taxons de syrphe, ainsi que par la morphologie des fleurs, en relation avec les pièces buccales des syrphes (Rodríguez-Gasol et al., 2020). La consommation de pollen issu d'espèces anémogames, notamment de Poaceae, a ainsi été documentée pour les syrphes de petite taille tels que *Melanostoma* et *Platycheirus* (Branquart & Hemptine, 2000).

Néanmoins, nos résultats montrent que les syrphes collectés dans les vergers de pommiers ont un comportement généraliste vis-à-vis des fleurs. Ce caractère généraliste a déjà été montré (Horiuchi et al., 2022), notamment pour la sous-famille des Syrphinae (Klecka et al., 2018). De plus, sur l'ensemble de la saison, la composition des communautés végétales associées aux syrphes majoritairement impliqués dans la régulation de *D. plantaginea* (i.e. *Syrphus* spp. et *Episyrphus balteatus*) est globalement similaire aux autres taxons. Seules deux espèces végétales sont associées uniquement à *Episyrphus balteatus*.

Privilégier des espèces végétales visitées et consommées par une majorité d'espèces de syrphes aphidiphages apparaît comme la meilleure stratégie pour favoriser les syrphes prédatant les pucerons du pommier. Certaines espèces végétales communément présentes

dans les parcelles agricoles sont une source de pollen importante pour les syrphes aphidiphages, y compris pour les taxons impliqués dans la régulation de *D. plantaginea*. Deux espèces végétales - *Veronica persica* et *Poa trivialis* - sont visitées par la majorité des taxons de syrphes, même si la proportion d'individus présentant un signal positif pour ces deux espèces est variable au sein de chaque taxon. Il s'agit également des seules espèces végétales recensées dans l'ensemble des vergers suivis en 2021 (Chapitre 2). *Potentilla reptans*, *Torilis arvensis* et certaines Asteraceae (*Sonchus* spp., *Cirsium* spp.) occupent également une proportion importante des espèces végétales associées aux syrphes. Nos résultats rejoignent d'autres études démontrant l'importance des espèces végétales communes et spontanément présentes dans les parcelles agricoles pour promouvoir les insectes auxiliaires (Aviron et al., 2023; Balfour & Ratnieks, 2022; Wignall et al., 2023).

Le rôle des pommiers dans la fourniture de ressources florales est aussi à questionner. Ici, nous avons vu que *M. domestica* est l'une des principales sources du pollen détecté sur les syrphes collectés au mois d'avril. Plusieurs espèces de syrphes ont effectivement été documentées comme étant d'importants pollinisateurs des fleurs de pommiers, notamment les genres *Episyrphus* et *Syrphus* (Pardo & Borges, 2020), qui sont également impliqués dans la régulation de *D. plantaginea*. Lors de l'échantillonnage d'avril, les pommiers étaient en fin de floraison, ce qui laisse penser que la proportion occupée par le pollen de *M. domestica* pourrait être encore plus élevée lorsque les pommiers sont en pleine floraison. De futures études pourraient étudier l'importance relative de la culture principale, de la flore spontanée en intra-parcellaire et d'éventuels aménagements fleuris (e.g. bandes fleuries, plantes de services) dans la fourniture en ressources florales pour les syrphes aphidiphages. Il serait intéressant de questionner la complémentarité entre ces trois éléments vis-à-vis de la quantité et de la temporalité des ressources florales offertes. Ces questions peuvent également s'appliquer à d'autres cultures entomophiles comme le colza ou la féverole (Seree, 2022).

Par ailleurs, le pollen consommé par les syrphes adultes provient également d'espèces végétales associées à des habitats arborés (e.g. *Rubus* spp., *Sambucus nigra* ou *Fraxinus* spp.), mais ces taxons représentent seulement 3,5% du total des interactions syrphes-plantes détectées. Cela suggère que les syrphes présents dans les vergers de pommiers consomment principalement du pollen issu d'espèces végétales herbacées, et notamment de la flore adventice. De manière similaire, Vialatte et al., 2017 ont montré que les bandes enherbées et la flore spontanée des parcelles agricoles fournissaient la majorité du pollen consommé par des syrphes collectés dans des parcelles de céréales, tandis qu'une faible proportion du pollen consommé provenait d'habitats boisés. D'autres études soulignent en revanche l'importance des habitats arborés (haies, bois) pour les syrphes, abritant une abondance et une

richesse spécifique de syrphes plus élevées par rapport aux habitats herbacés (e.g. Pfister et al., 2017; Schirmel et al., 2018). Le rôle des habitats arborés semble surtout important en hiver et au début du printemps, car ils offrent des sites d’hivernation pour plusieurs espèces de syrphes (Alignier et al., 2014). L’importance relative des habitats semi-naturels adjacents aux vergers de pommiers et la diversité des ressources qu’ils fournissent aux syrphes aphidiphages méritent donc d’être mieux documentées.

Enfin, nous avons ici évalué les préférences florales des syrphes vis-à-vis des fleurs par l’identification du pollen, ce qui ne traduit pas nécessairement la consommation de nectar (Rodríguez-Gasol et al., 2020). Il serait donc intéressant de détailler les traits floraux des espèces végétales recensées, en particulier l’accessibilité et la qualité de nectar. L’accessibilité peut être étudiée en comparant la taille de la tête et des pièces buccales des syrphes à l’ouverture et à la profondeur de la corolle des fleurs (van Rijn & Wäckers, 2016; Zucchetta, 2018). La qualité du nectar peut, par exemple, être évaluée en comparant la quantité de sucres fournie par les différentes espèces végétales (Baude et al., 2016).

4.3. Apports méthodologiques et voies d’amélioration

4.3.1. Caractériser les relations entre syrphes aphidiphages et plantes

La pertinence du *metabarcoding* pour étudier les relations entre plantes et insectes avait déjà été montrée pour plusieurs groupes d’insectes floricoles (e.g Bell et al., 2016; Macgregor et al., 2019), mais rarement pour les syrphes aphidiphages. L’utilisation du *metabarcoding* nous a ici permis de caractériser les relations que les syrphes entretiennent avec les espèces végétales, et de mettre en évidence les espèces les plus fréquemment exploitées pour la consommation de pollen par les syrphes aphidiphages. Les deux marqueurs utilisés (*rbcL* et *ITS2*) se sont révélés complémentaires, et leur utilisation a permis d’identifier un plus grand nombre de taxons qu’avec un unique marqueur. Soixante pour cent des taxons sont en effet uniquement identifiés avec un seul des deux marqueurs. Par ailleurs, le niveau d’identification est meilleur avec *ITS2*, avec une plus grande proportion de taxons identifiés au niveau de l’espèce.

Toutefois, des améliorations sont encore possibles, en commençant par la méthode d’échantillonnage. Nous avons ici collecté les syrphes individuellement au filet. Cette méthode est employée dans d’autres études portant sur l’identification de pollen par *metabarcoding* (e.g Arstingstall et al., 2023; Bänsch et al., 2020; Kilian et al., 2023), mais des contaminations ne peuvent être totalement exclues. Utiliser un filet à usage “unique” pour chaque syrphe collecté pourrait réduire les potentielles contaminations (Lowe, Jones, Brennan et al., 2022). Une autre méthode consiste à collecter les insectes un à un en utilisant des tubes Falcon stériles (Galliot et al., 2017). Cette approche peut toutefois être difficile à

mettre en œuvre pour collecter des organismes aussi mobiles que les syrphes.

Des signaux positifs ont été détectés avec les marqueurs *rbcL* et *ITS2* pour 60% des larves, correspondant principalement à *M. domestica* et à des espèces anémogames. Ces signaux peuvent résulter d’une acquisition passive d’ADN végétal, déposé sur le corps des larves par le vent ou par contact avec les feuilles de pommiers. Il s’agit d’une autre source de contamination, qui peut aussi concerner les syrphes adultes (Milla et al., 2022 ; Pornon et al., 2017). Nous avons considéré que la majorité du pollen présent sur l’extérieur du corps des syrphes avait été enlevé par l’éthanol (comme dans Michelot-Antalik et al., 2021 ou Tommasi et al., 2022). Des méthodes de rinçage plus poussées existent (Lowe, Jones, Brennan et al., 2022) et pourraient permettre de réduire encore les risques de contamination pour s’assurer de n’obtenir que le pollen réellement consommé par les syrphes. Il pourrait également être pertinent d’amplifier et séquencer séparément l’ADN contenu dans le liquide de rinçage (éthanol ou autre) et l’ADN effectivement obtenu à partir du syrphes pour chaque échantillon. Cela permettrait de comparer le pollen effectivement consommé par les syrphes au pollen déposé sur leur corps, qui résulte de visites de fleurs ou de contaminations.

Enfin, la principale difficulté rencontrée durant l’analyse des données issues du séquençage a été de déterminer la manière de filtrer les OTU pour éliminer les faux-positifs, sans créer de faux-négatifs. Il n’existe pas de méthode consensus dans la littérature (Arstingstall et al., 2023 ; Tommasi et al., 2021). Nous avons ici déterminé une valeur seuil en nous basant sur les OTU détectés dans les témoins négatifs. Une alternative pourrait être d’utiliser des triplicats techniques et ne conserver que les OTU détectés dans au moins deux réplicats (Drake et al., 2022). Néanmoins, cette méthode ne résout pas complètement le problème des contaminations et augmente les coûts de l’analyse.

4.3.2. Caractériser les relations entre syrphes et pucerons

Nous avons testé la possibilité d’identifier de l’ADN de puceron sur des syrphes adultes, après métamorphose. Cette possibilité avait déjà été montrée chez des hyménoptères parasitoïdes, où des traces d’ADN de l’hôte étaient détectées sur des parasitoïdes adultes (Rougerie et al., 2011). Ici, les résultats des pré-tests et de l’expérimentation complète montrent qu’il n’est pas impossible de détecter de l’ADN de puceron sur des syrphes adultes, mais des incohérences sont notées.

Notamment, des signaux correspondant à de l’ADN de puceron sont détectés sur des syrphes appartenant à l’espèce *Syrirta pipiens*, qui n’est pas aphidiphage au stade larvaire. Ces signaux suggèrent que les syrphes adultes peuvent être en contact avec des

pucerons d'une autre manière que par la prédation au stade larvaire, par exemple via de l'ADN de puceron déposés sur les plantes qu'ils visitent. De plus, Owashi et Hayashi, 2022 ont récemment montré que des traces d'ADN de puceron peuvent être détectées dans le contenu stomacal de prédateurs n'ayant pas directement consommé des pucerons, mais seulement du miellat. Or, les syrphes adultes consomment du miellat, ce qui peut constituer une source de contamination (Pinheiro et al., 2015 ; van Rijn, Kooijman & Wäckers, 2013). Ainsi, les signaux détectés sur des syrphes adultes ne traduisent pas forcément un événement de prédation au stade larvaire.

De plus, durant les pré-tests, nous n'avons pas détecté d'ADN sur l'ensemble des syrphes adultes élevés. L'ADN se dégrade rapidement après la consommation d'une proie par un prédateur, et il est généralement possible d'en détecter des traces uniquement pendant les heures qui suivent l'événement de prédation. Par exemple, Paula et al., 2023 ont montré qu'il est possible de détecter de l'ADN de puceron dans le contenu stomacal de larves de coccinelles jusqu'à 6h après la prédation, et jusqu'à 3h dans le cas d'une prédation indirecte, où la coccinelle consomme un chrysope qui a prédaté des pucerons. La durée de détection de l'ADN de proie varie toutefois selon le groupe de prédateur considéré, et peut parfois s'étendre à plusieurs jours (Lefebvre et al., 2017 ; Waldner et al., 2013). Détecter de l'ADN de puceron à partir de syrphes adultes est donc, au mieux, envisageable dans un laps de temps très court après l'émergence et seulement si la larve a consommé des pucerons durant les derniers stades de son développement. Or, les larves de syrphes aphidiphages consomment des pucerons à des taux différents selon leur stade de développement, les derniers stades étant souvent les moins voraces (Hodgkiss et al., 2022).

Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer la précision et la fiabilité des signaux correspondant à de l'ADN de puceron détectés sur des syrphes adultes. Pour l'heure, identifier la gamme de pucerons prédatés au stade larvaire et la gamme de plantes visitées au stade adulte reste donc difficile à mettre en œuvre pour un même individu.

5. Conclusion

Notre objectif était d'étudier les relations que les syrphes aphidiphages entretiennent à la fois avec les plantes et les pucerons en vergers de pommiers grâce au *metabarcoding*. Malgré certaines limites, notre étude souligne l'apport du *metabarcoding* pour étudier les interactions entre les syrphes et les plantes, sur la base du pollen consommé. Nous avons pu montrer qu'une sous-partie des taxons de syrphe visitant la flore des vergers de pommiers participent à la prédation du puceron cendré. Les syrphes adultes ont un comportement plutôt généraliste vis-à-vis des fleurs, et nous n'avons pas observé de différences importantes dans la composition des communautés végétales visitées par les taxons de syrphe contribuant majoritairement à la prédation du puceron cendré et les autres taxons. Favoriser la présence d'espèces végétales communes et spontanées dans les vergers de pommiers peut donc bénéficier aux syrphes aphidiphages de manière générale, y compris à des taxons de syrphe prédatant efficacement les pucerons du pommier.

Nos résultats montrent également qu'il est difficile de déterminer la gamme d'espèces de pucerons prédatés et la gamme d'espèces végétales consommées ou visitées pour un unique syrphe. Pour étudier les relations existant entre les syrphes, les plantes et les pucerons, l'approche adoptée dans la seconde partie de ce chapitre est donc à privilégier. Elle implique d'identifier d'une part les larves de syrphes et les pucerons qu'elles prédatent et, d'autre part, les syrphes adultes et les espèces végétales qu'ils visitent ou consomment. Les outils de biologie moléculaire (*barcoding* et *metabarcoding*) peuvent faciliter la mise en œuvre de ces deux volets. Les réseaux syrphes-plantes-pucerons sont ensuite reconstitués en utilisant l'espèce de syrphes comme "unité", et non pas l'individu. De futures études pourraient aller plus loin, en tenant compte des espèces de pucerons présentes sur les espèces végétales visitées par les syrphes.

Tables et figures supplémentaires

TABLE 5.S1 – **Résumé comparatif d’articles sur les relations entre syrphes et plantes par metabarcoding.** Les 13 études ont été identifiées en septembre 2023 via Web of Science et Google Scholar en utilisant les mots-clés “metabarcoding”, “pollen”, “hoverflies” et/ou “syrphids”. Pour chaque étude, l’objectif, les méthodes et les groupes d’insectes ciblés sont résumés. Les gènes marqueurs utilisés pour le metabarcoding sont indiqués entre parenthèses.

Référence	Objectifs	Méthode	Groupes ciblés
Horiuchi et al., 2022	Évaluer le transport de pollen par les syrphes.	Microscopie et metabarcoding (<i>rbcL</i> , <i>trnL</i> , <i>ITS</i>).	Douze espèces de syrphes, aphidiphages et non-aphidiphages.
Kilian et al., 2023	Évaluer les réseaux de pollinisation du carvi (<i>Carum carvi</i>) dans un paysage agricole d’Europe centrale.	Microscopie et metabarcoding (<i>ITS2</i>).	Brachycères et Hyménoptères. Plusieurs espèces de syrphes aphidiphages et non-aphidiphages sont incluses dans le groupe des Brachycères.
Lowe, Jones, Witter et al., 2022	Étudier les préférences alimentaires de quatre groupes de pollinisateurs dans un paysage horticole et agricole.	<i>Metabarcoding</i> (<i>rbcL</i> , <i>ITS2</i>).	Abeilles domestiques, bourdons, abeilles sauvages, syrphes (carnivores, détritivores ou herbivores au stade larvaire).
LucasB et al., 2018	Étudier la structure des réseaux de transport de pollen à trois niveaux (communauté, espèce et individu) chez des Éristales.	<i>Metabarcoding</i> (<i>rbcL</i>).	Six espèces du genre <i>Eristalis</i> . Pas de syrphe aphidiphage.

Suite à la page suivante

Table 5.S1 – Suite de la page précédente

Référence	Objectifs	Méthode	Groupes ciblés
LucasA et al., 2018	Évaluer le transport de pollen par onze espèces de syrphes.	Metabarcoding (<i>rbcL</i>).	Onze espèces de syrphes appartenant à cinq genres (<i>Cheilosia</i> , <i>Eristalis</i> , <i>Rhingia</i> , <i>Sericomyia</i> , <i>Volucella</i>). Pas de syrphe aphidiphage.
Michelot-Antalik et al., 2021	Étudier les réseaux plantes-pollinisateurs dans 18 prairies expérimentales.	Observation de visites de fleurs et metabarcoding (<i>ITS2</i>).	Hyménoptères et diptères. Les syrphes incluent des espèces aphidiphages et non-aphidiphages, mais sont principalement étudiés comme un seul groupe.
Potter et al., 2019	Comparer les fleurs préférentiellement visitées par les pollinisateurs dans des bandes fleuries semées en zone urbaine.	Observation de visites de fleurs et metabarcoding (<i>rbcL</i>).	Hyménoptères et diptères. Les syrphes incluent des espèces aphidiphages et non-aphidiphages, mais sont principalement étudiés comme un seul groupe. L'étude est centrée sur les abeilles. Les syrphes sont inclus mais étudiés comme un seul groupe.
Biella et al., 2022	Étudier le transport de pollen par les pollinisateurs le long d'un gradient d'urbanisation.	Metabarcoding (<i>ITS2</i>).	Les insectes pollinisateurs sont considérés comme un seul groupe, incluant syrphes et abeilles.

Suite à la page suivante

Table 5.S1 – Suite de la page précédente

Référence	Objectifs	Méthode	Groupes ciblés
Pornon et al., 2017	Comparer les réseaux d'interactions entre plantes et pollinisateurs obtenus par observation de visites de fleurs et par metabarcoding.	Observation de visites de fleurs et metabarcoding (<i>trnL</i> , <i>ITS1</i>).	L'étude inclut des syrphes aphidiphages et non-aphidiphages, mais les syrphes sont souvent considérés comme un seul groupe.
Tommasi et al., 2022	Évaluer l'impact de l'intensification de l'usage des terres sur les interactions entre plantes et insectes pollinisateurs.	Observation de visites de fleurs et metabarcoding (<i>ITS2</i>).	Les syrphes sont inclus dans l'étude, mais les pollinisateurs sont considérés comme un seul groupe (syrphes et abeilles).
Galliot et al., 2017	Explorer la diversité des insectes pollinisateurs et leurs interactions avec les plantes dans les prairies semi-naturelles de montagne.	Observation de visites de fleurs et metabarcoding (<i>ITS2</i>).	Diptères, Hyménoptères, Lépidoptères et Coléoptères. Les syrphes sont inclus et considérés comme un seul groupe.

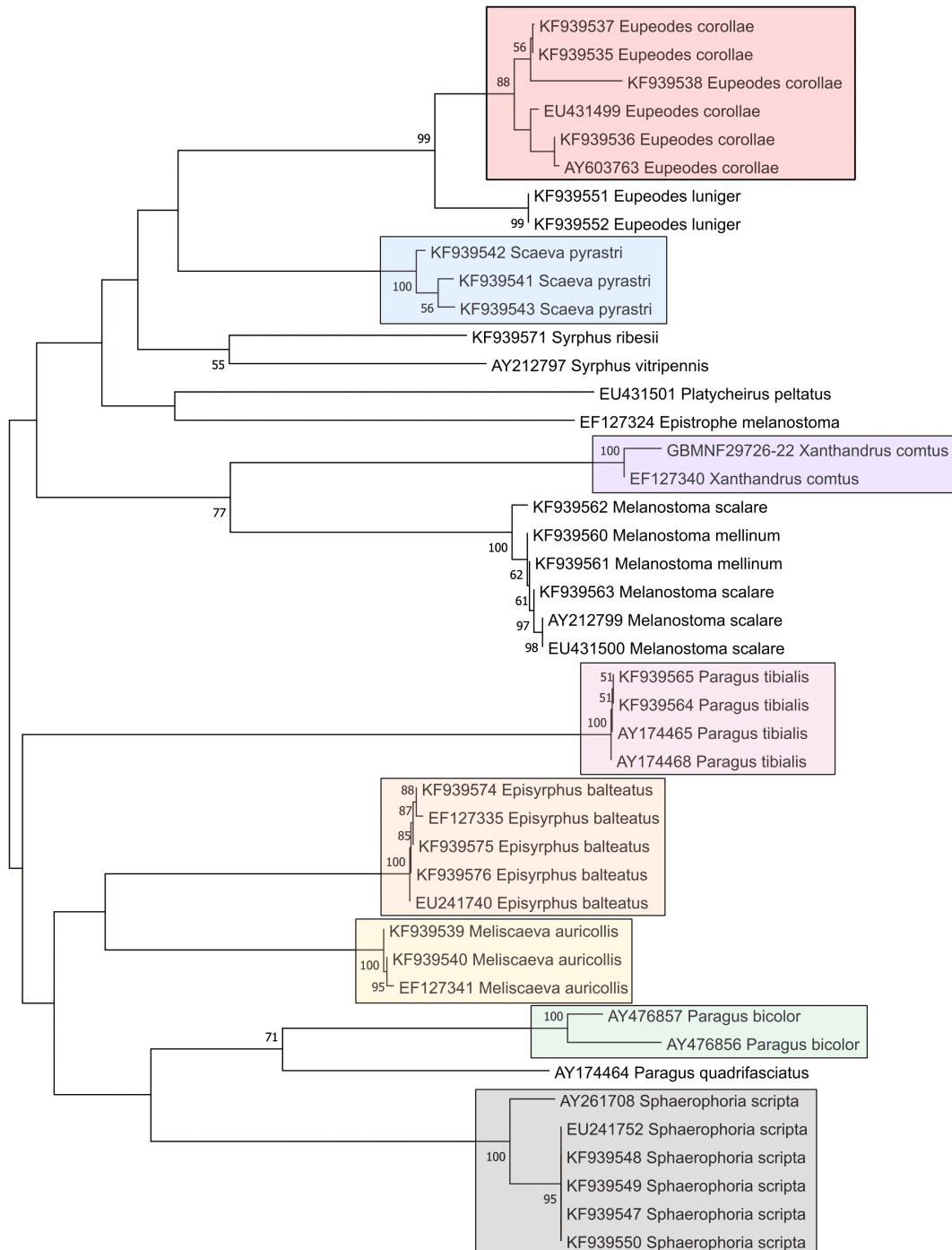


FIGURE 5.S1 – Arbre phylogénétique des amplicons théoriquement obtenus avec les amorces *COI-syrphes*. L'arbre est construit à partir de 44 séquences. Les distances de Kimura à deux paramètres ont été utilisées pour construire l'arbre phylogénétique (neighbour-joining tree). Les valeurs à la base des nœuds indiquent les % sur 1000 répétitions. Les groupes monophylétiques sont représentés par des rectangles colorés (valeurs des nœuds >80% des répétitions).

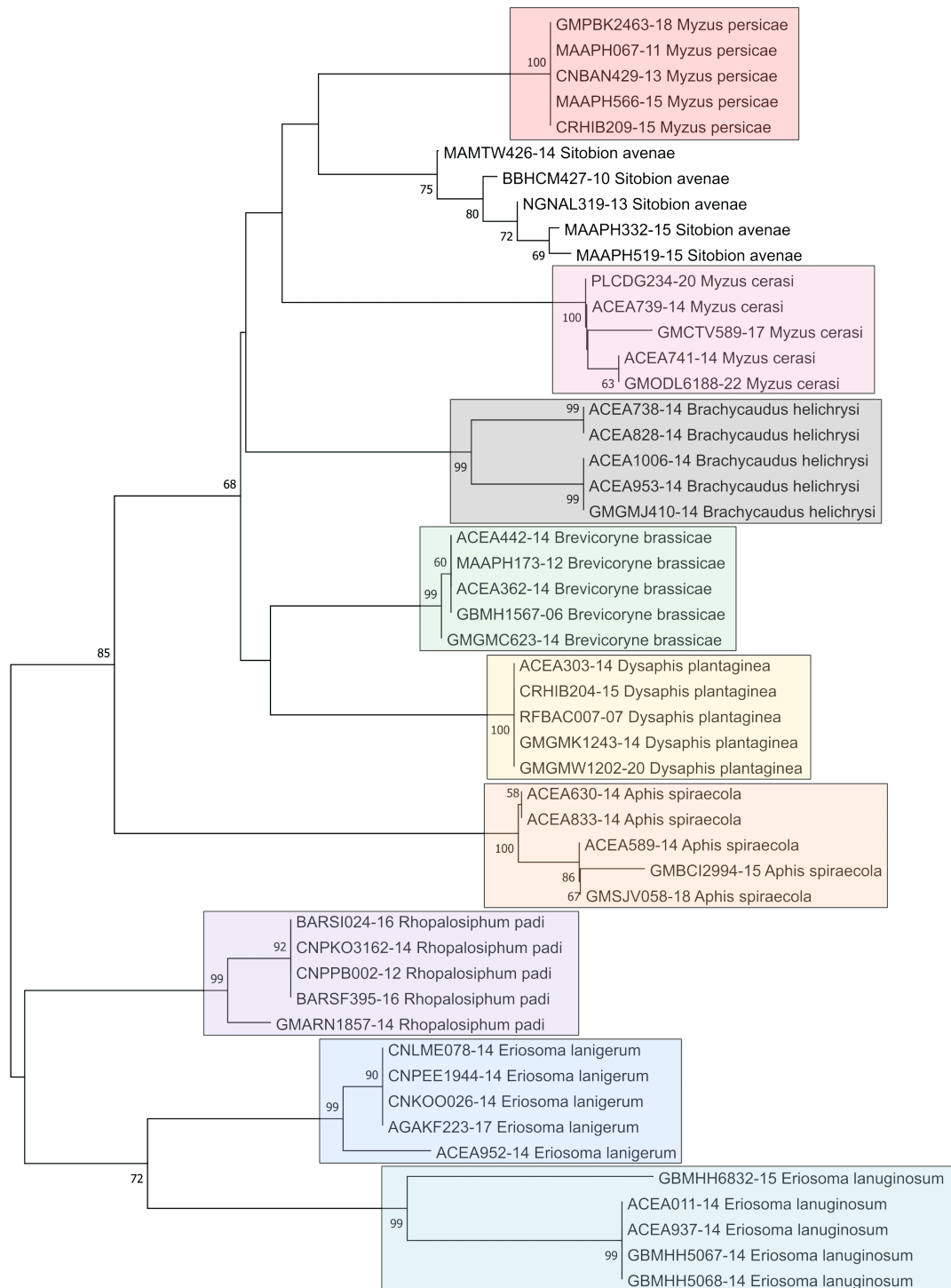


FIGURE 5.S2 – **Arbre phylogénétique des amplicons théoriquement obtenus avec les amorces *COI-pucerons*.** L'arbre est construit à partir de 54 séquences pour 11 espèces. Les distances de Kimura à deux paramètres ont été utilisées pour construire l'arbre phylogénétique (neighbour-joining tree). Les valeurs à la base des nœuds indiquent les % sur 1000 répétitions. Les groupes monophylétiques sont représentés par des rectangles colorés (valeurs des nœuds >80% des répétitions).

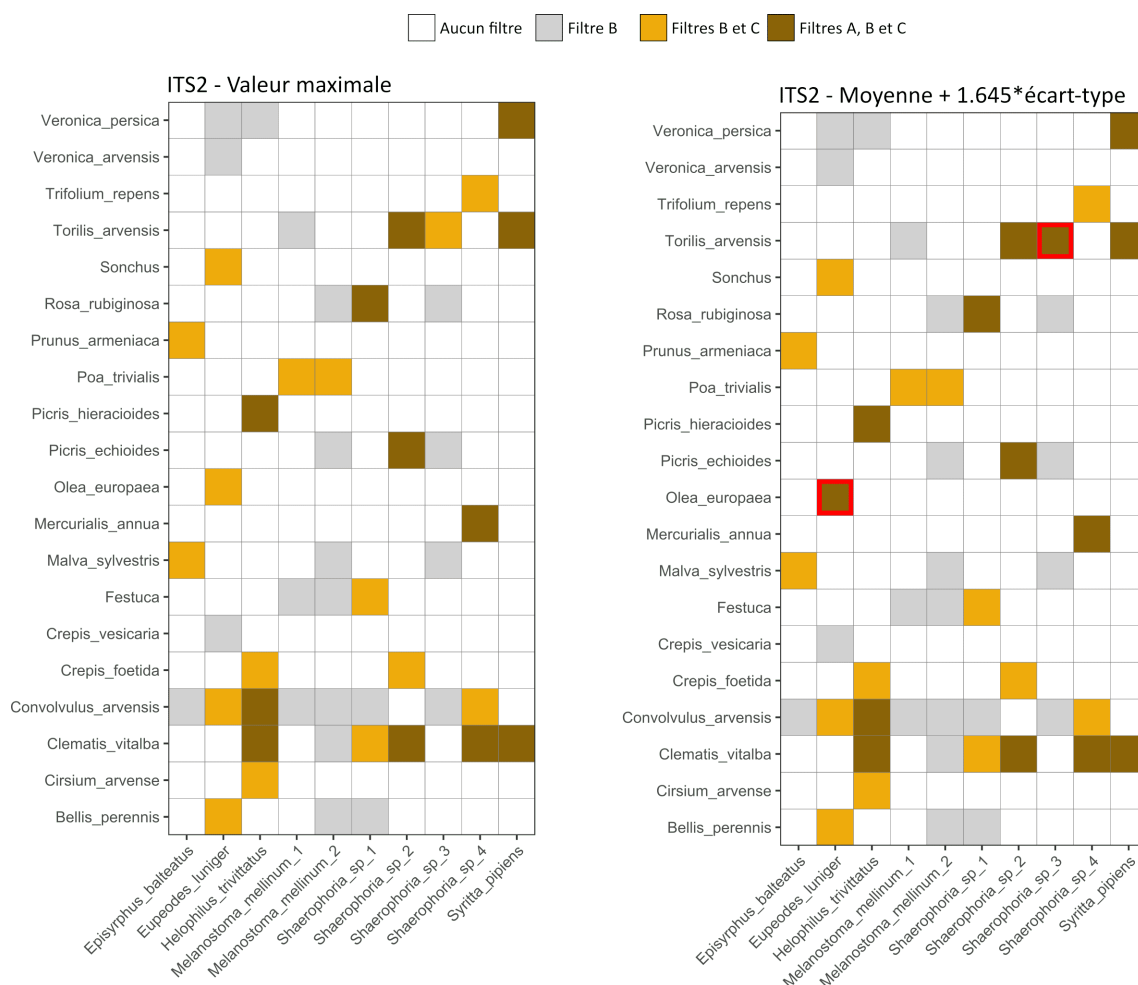


FIGURE 5.S3 – Interactions détectées avec le marqueur *ITS2* selon les deux méthodes de construction du filtre A. La valeur seuil utilisée pour le filtre A est basée sur les OTU détectés dans les témoins négatifs. Elle peut être déterminée en se basant sur la valeur maximale détectée dans les témoins négatifs (à gauche, d'après Drake et al., 2022) ou en utilisant la formule suivante : nombre moyen de séquences détectées dans les témoins négatifs + $1.645 \times \text{écart-type}$ (à droite, d'après Arstingstall et al., 2023). Les interactions supplémentaires détectées avec la seconde méthode sont indiquées en rouge.

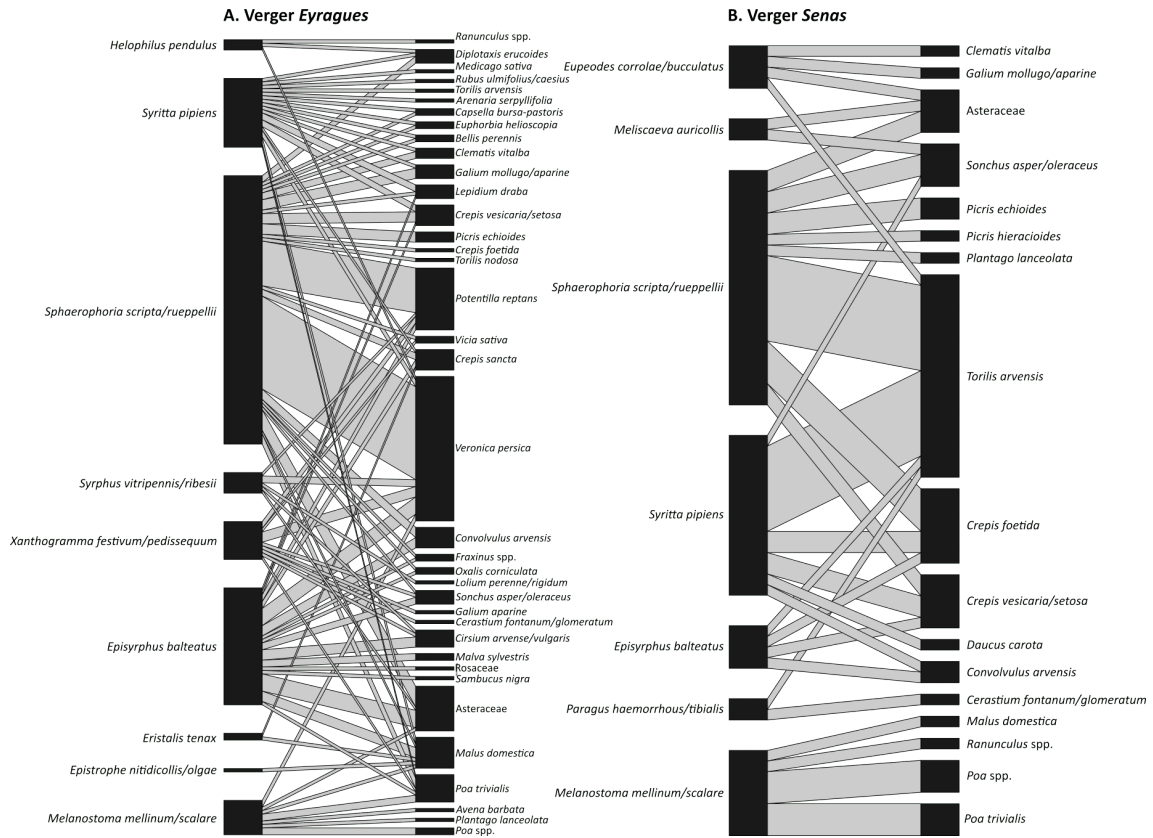


FIGURE 5.S4 – Réseau construit à partir des OTU détectés sur les syrphes adultes avec les marqueurs *rbcl* et *ITS2* dans chaque verger. Pour les syrphes, la hauteur des barres indique l'abondance relative de chaque taxon, et la largeur des liens indique le nombre d'individus porteurs de pollen de chaque taxon de plantes. Pour les plantes, la hauteur de la barre indique le nombre de syrphes sur lesquels chaque taxon a été détecté, et la largeur du lien indique la proportion appartenant à chaque taxon de syrphes.

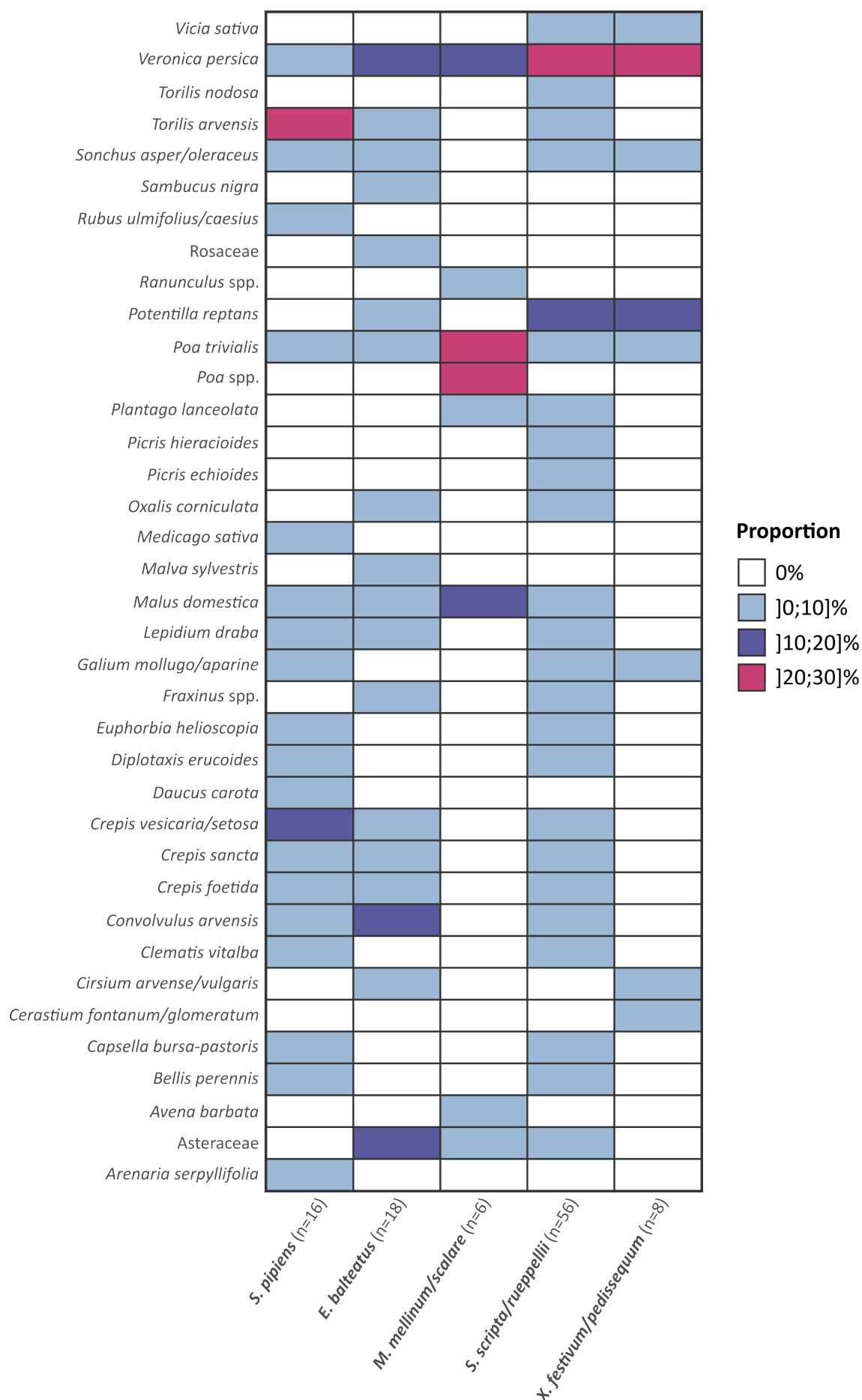


FIGURE 5.1 – Proportion de syrphes adultes présentant un signal positif pour chaque taxon de plantes, parmi les cinq principaux taxons de syrphes. Les données présentées combinent les résultats obtenus avec les marqueurs *rbcL* et *ITS2*.

TABLE 5.1 – **Abondance de syrphes recensés selon le verger, la session et le stade.** Les Syrphinae non déterminés correspondent à trois genres (multi-assignation) (*Syrphus*, *Epistrophe* et *Pipiza*).

		Adultes						Larves							
		232			235			232			235				
Genre	Espèce	Total	Avril	Mai	Juin	Avril	Mai	Juin	Total	Avril	Mai	Juin	Avril	Mai	Juin
<i>Eristalis</i>	<i>Eristalis tenax</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Helophilus</i>	<i>Helophilus pendulus</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Syritta</i>	<i>Syritta pipiens</i>	16	6	0	2	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0
<i>Epistrophe</i>	<i>Epistrophe eligans</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	1	0	0
<i>Epistrophe</i>	<i>E. nitidicollis/olgae</i>	3	3	0	0	0	0	0	17	3	9	0	1	4	0
<i>Episyrphus</i>	<i>Episyrphus balteatus</i>	18	4	13	0	0	0	1	19	2	4	0	10	3	0
<i>Eupeodes</i>	<i>E. corrolae/bucculatus</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Melanostoma</i>	<i>M. mellinum/scalare</i>	6	2	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Meliscaeva</i>	<i>Meliscaeva auricollis</i>	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Paragus</i>	<i>P. haemorrhous/tibialis</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pipiza</i>		0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0
<i>Sphaerophoria</i>	<i>S. scripta/rueppellii</i>	56	6	34	7	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0
<i>Syrphus</i>	<i>S. vitripennis/ribesii</i>	3	0	3	0	0	0	0	17	0	1	0	4	12	0
<i>Xanthogramma</i>	<i>X. festivum/pedissequum</i>	7	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
non déterminé	non déterminé	4	3	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	1	0

TABLE 5.2 – Régime alimentaire des taxons de syrphe. Sources : INPN, Speight et Sarthou, 2017.

Sous-famille	Genre	Espèce	Régime alimentaire des larves
Syrphinae	<i>Epistrophe</i> Walker, 1850		aphidiphage
Syrphinae	<i>Epistrophe</i> Walker, 1850	<i>Epistrophe eligans</i> (Harris, 1780)	aphidiphage
Syrphinae	<i>Episyrphus</i> Matsumara & Adachi, 1917	<i>Episyrphus balteatus</i> (De Geer, 1776)	carnivore, principalement aphidiphage
Syrphinae	<i>Eristalis</i>	<i>Eristalis tenax</i> (Linnaeus, 1758)	détritivore (aquatique)
Syrphinae	<i>Eupeodes</i> Osten Stacken, 1877		carnivore, principalement aphidiphage
Eristalinae	<i>Helophilus</i> Meigen, 1822	<i>Helophilus pendulus</i> (Linnaeus, 1758)	détritivore
Syrphinae	<i>Melanostoma</i> Schiner, 1860		carnivore, parfois aphidiphage
Syrphinae	<i>Meliscaeva</i> Frey, 1846	<i>Meliscaeva auricollis</i> (Meigen, 1822)	carnivore, principalement aphidiphage
Syrphinae	<i>Paragus</i> Latreille, 1804		carnivore, aphidiphage
Syrphinae	<i>Pipiza</i> Fallén, 1810		carnivore, parfois aphidiphage
Syrphinae	<i>Sphaerophoria</i> Latreille, 1828		carnivore, souvent aphidiphage
Eristalinae	<i>Syritta</i> Latreille, 1828	<i>Syritta pipiens</i> (Linnaeus, 1758)	détritivore
Syrphinae	<i>Syrphus</i> Fabricius, 1755		carnivore, aphidiphage
Syrphinae	<i>Syrphus</i> Fabricius, 1755	<i>Syrphus ribesii</i> (Linnaeus, 1758)	carnivore, principalement aphidiphage
Syrphinae	<i>Syrphus</i> Fabricius, 1755	<i>Syrphus vitripennis</i> (Meigen, 1822)	aphidiphage
Syrphinae	<i>Xanthogramma</i> Schiner, 1860		carnivore, aphidiphage

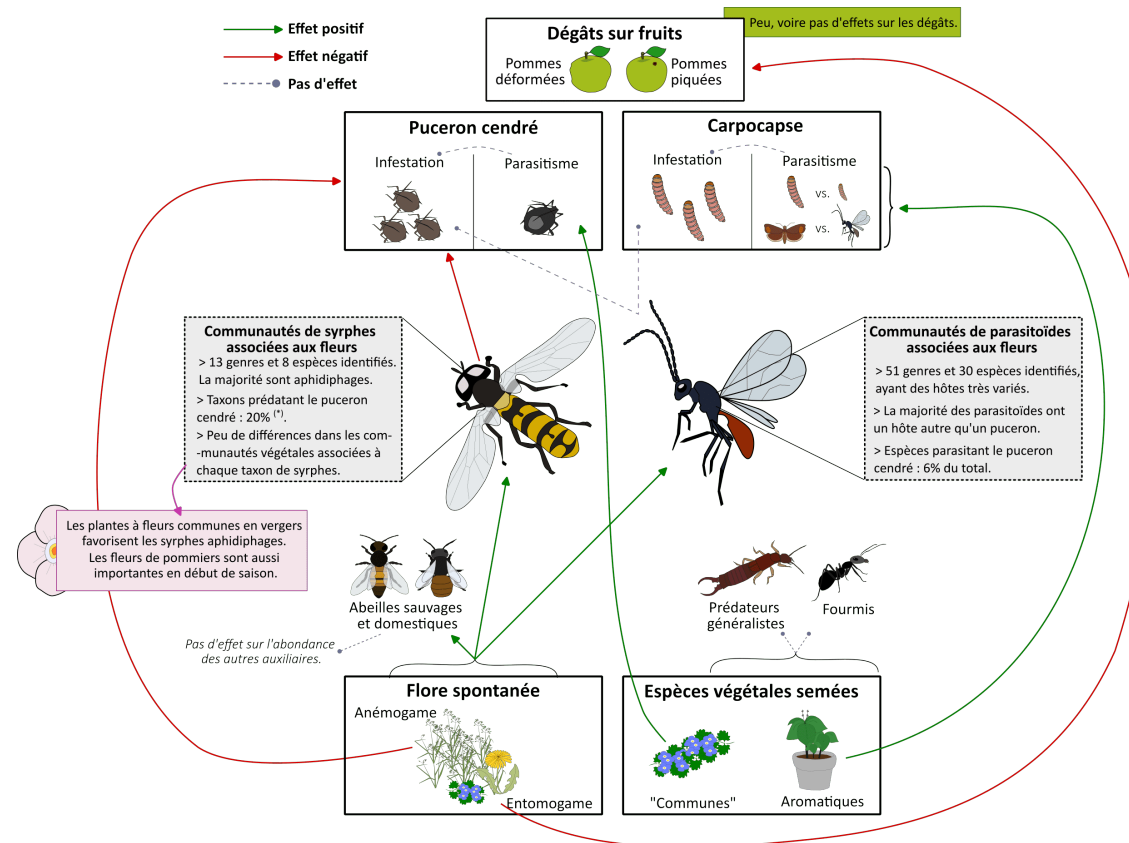


6 Discussion générale

Cette thèse avait pour principal objectif d'apporter une meilleure compréhension du rôle des plantes dans le service de contrôle biologique en vergers de pommiers. Elle se focalise sur deux ravageurs majeurs du pommier, le puceron cendré (*Dysaphis plantaginea*) et le carpocapse des pommes (*Cydia pomonella*), et sur deux groupes d'ennemis naturels, les syrphes aphidiphages et les hyménoptères parasitoïdes, qui sont étroitement liés aux ressources florales au stade adulte. Les hypothèses émises peuvent être résumées ainsi : (i) les plantes présentes en vergers de pommier, en fournissant des fleurs, favorisent la présence d'espèces de syrphes et de parasitoïdes effectivement impliquées dans la régulation des ravageurs du pommier, et (ii) les plantes contribuent ainsi à la régulation du carpocapse et du puceron cendré (i.e. augmentation des taux de parasitisme) et à la réduction du nombre d'insectes ravageurs et des dégâts associés.

Nous avons d'abord étudié les liens existants entre le recouvrement et la diversité de la flore spontanée, l'abondance de syrphes et de parasitoïdes, la densité d'insectes ravageurs et la proportion de dégâts associés (chapitre 2). Cette première étude reposait sur des relevés entomologiques et floristiques menés dans dix-huit vergers de la Basse Vallée de la Durance. Les chapitres suivants avaient pour objectif de tester des espèces végétales candidates, installées en pied d'arbre, et d'évaluer leur capacité à améliorer le parasitisme du puceron cendré (chapitre 3) ou du carpocapse (chapitre 4). Dans le chapitre 3, le choix s'est porté sur des espèces végétales communément observées en vergers de pommiers, sélectionnées parmi les espèces recensées dans les vergers de la Basse Vallée de la Durance. Le chapitre 4 se focalise quant à lui sur le rôle des plantes aromatiques. Enfin, dans le chapitre 5 nous avons cherché à étudier plus finement les relations trophiques que les syrphes aphidiphages entretiennent à la fois avec les plantes et les pucerons. Dans les chapitres 3 et 5, les échantillonnages de syrphes et de parasitoïdes ont été couplés à des analyses de biologie moléculaire (*barcoding* ou *metabarcoding*) pour décrire plus précisément les communautés de syrphes et de parasitoïdes présentes en vergers, leurs implications dans la régulation des ravageurs du pommier et leurs associations avec les plantes.

Les principaux résultats issus des différents chapitres de la thèse sont synthétisés dans la figure 6.1. La discussion qui suit, organisée en trois parties, permet de les confronter et de présenter les perspectives qu'ils ouvrent. Nous reviendrons d'abord sur la contribution des espèces végétales au service de contrôle biologique, en discutant de la structuration des communautés de syrphes et des parasitoïdes autour des plantes, puis des effets de cascade observés sur la régulation des insectes ravageurs et sur la réduction des dégâts associés. Nous discuterons ensuite de l'apport des outils moléculaires pour l'étude des relations entre ennemis naturels, plantes et ravageurs, ainsi que des difficultés et limites rencontrées. Enfin, nous présenterons les implications en termes de gestion et les perspectives de recherche ouvertes par ce travail.



(*) Cette valeur est calculée en comptant uniquement les taxons observés dans les colonies de pucerons au stade larvaire. En considérant tous les taxons décrits dans la littérature comme prédateurs de *D. plantaginea*, cette proportion atteint 78%.

FIGURE 6.1 – Synthèse des principaux résultats issus des différents chapitres de la thèse. Les flèches représentent les principales relations questionnées. Les relations significatives et négatives sont représentées en rouge, les relations négatives et significatives en vert et les relations non-significatives en gris. Les espèces végétales testées dans les chapitres 3 et 4 sont symbolisées par *Veronica persica* (pour les espèces “communes”) et par le basilic *Ocimum basilicum* (pour les plantes aromatiques).

1. Quelle est la contribution des espèces végétales au service de régulation fourni par les syrphes aphidiphages et les hyménoptères parasitoïdes en vergers de pommiers ?

1.1. Structuration des communautés de syrphes et d'hyménoptères parasitoïdes autour des espèces végétales en vergers de pommiers

1.1.1. Une partie des syrphes et des parasitoïdes visitant la flore des vergers est impliquée dans la régulation des ravageurs du pommier

De nombreuses études ont montré un effet positif de l'abondance et de la diversité des plantes à fleurs sur le recrutement des syrphes et des parasitoïdes dans les parcelles agricoles (e.g. Mateos-Fierro et al., 2021 ; Pollier et al., 2019 ; Tschumi et al., 2016), y compris en vergers de pommiers (Cahenzli et al., 2019 ; Rodríguez-Gasol et al., 2019). En considérant les syrphes et les parasitoïdes dans leur ensemble, nous observons effectivement que leur abondance est positivement impactée par le recouvrement et la diversité des fleurs spontanément présentes sur le rang et l'inter-rang des vergers (chapitre 2). Cependant, il n'est pas toujours clair si les espèces végétales présentes dans les vergers attirent des espèces de syrphes et de parasitoïdes régulant les insectes ravageurs ciblés. Notre premier objectif était donc de mieux décrire les communautés de syrphes et de parasitoïdes associées aux espèces végétales présentes en vergers de pommiers, qu'elles soient semées ou spontanées, et de déterminer si ces plantes attirent des espèces de syrphes et de parasitoïdes effectivement impliquées dans la régulation des ravageurs du pommier.

En étudiant plus finement les communautés de parasitoïdes associées à trois espèces végétales (chapitre 3), nous avons recensé 51 genres et 30 espèces. L'abondance totale de parasitoïdes était la plus élevée dans les placettes de *V. sativa* et de *V. persica*, mais la composition des communautés différait entre ces deux espèces végétales. Des différences de composition entre familles mais aussi au sein d'une même famille (e.g. Braconidae) ont été mises en évidence, avec une majorité d'*Aphidius* collectés sur les placettes de *V. persica* et une majorité de *Chorebus* associés à *V. sativa*. Nous avons recensé des parasitoïdes primaires associés à une diversité d'insectes phytophages. Par exemple, *Ceranisus menes* attaque les thrips (Tagashira & Hirose, 2001), *Diglyphus isaea* attaque les Agromyzidés (Xuan et al., 2018) et *Ascogaster quadridentata* attaque le carpocapse. De plus, d'autres taxons sont des hyperparasitoïdes (e.g. *Perilampus tristis*) ou des parasitoïdes d'insectes prédateurs (e.g. *Diplazon laetatorius* attaquant les syrphes, Gomez-Polo et al., 2014). Les espèces impliquées dans la régulation du puceron cendré (i.e. *Aphidius matricariae* et *Ephedrus persicae*) représentaient 6% de l'ensemble des parasitoïdes collectés sur les espèces végétales installées en pied d'arbre. Une faible proportion des parasitoïdes visitant les plantes à fleurs est donc susceptible de parasiter le puceron cendré et cette proportion

varie selon l'espèce végétale étudiée. Considérer l'ensemble des hyménoptères parasitoïdes comme un même groupe fonctionnel n'est donc pas assez précis pour attester de la présence d'espèces de parasitoïdes d'intérêt (i.e. parasitant les insectes ravageurs ciblés).

Concernant les syrphes, nous avons identifié 13 genres et 8 espèces parmi les adultes collectés sur la flore du rang et de l'inter-rang de deux vergers. La majorité des taxons identifiés sont aphidiphages au stade larvaire et 15% sont détritivores (sous-famille des Eristalinae). Trois genres – *Episyrphus*, *Syrphus*, *Epistrophe* - ont été identifiés comme contribuant majoritairement à la régulation du puceron cendré, car ils ont également été observés au stade larvaire dans des colonies (chapitre 5). Ces trois taxons représentaient 20% de l'abondance totale de syrphes collectés sur la flore des vergers. Si l'on considère l'ensemble des taxons recensés dans la littérature comme prédatant le puceron cendré, cette proportion atteint 78%. Par ailleurs, nous n'avons observé que peu de différences dans les communautés végétales associées à chaque taxon de syrphe.

1.1.2. Préciser les préférences des syrphes vis-à-vis des pucerons

Dans le chapitre 5, nous avons observé que la majorité des taxons de syrphe collectés sur la flore sont aphidiphages au stade larvaire, cependant seule une petite partie était également présente dans les colonies de pucerons cendrés. Certains taxons observés uniquement au stade adulte dans la végétation peuvent pourtant être impliqués dans la prédation du puceron cendré (*Sphaerophoria* spp., *Meliscaeva* spp. ou *Paragus* spp., Dib et al., 2010; Wojciechowicz-Żytka et Jankowska, 2017). Ces différences pourraient être liées à la présence d'autres espèces de pucerons, qui leurs sont plus favorables. Plusieurs facteurs influencent le choix du site de ponte par les syrphes aphidiphages femelles : la plante hôte, l'espèce de puceron, la taille de la colonie ou encore l'émission de composés chimiques (Almohamad, Verheggen & Haubruge, 2009). Les préférences vis-à-vis des pucerons ont principalement été étudiées pour *Episyrphus balteatus*, qui tend à être plutôt généraliste (Almohamad, Verheggen & Haubruge, 2009; Sadeghi & Gilbert, 2000). Les préférences alimentaires des autres espèces de syrphes mériteraient d'être mieux documentées.

1.1.3. Préciser la dépendance des parasitoïdes vis-à-vis de la ressource florale

La dépendance vis-à-vis de la ressource florale pourrait varier selon l'espèce d'hyménoptère parasitoïde considérée et le type d'hôte qu'elle exploite. De manière générale, les parasitoïdes attaquant des insectes producteurs de miellat, tels que des pucerons mais aussi des cochenilles, pourraient être plus dépendants du miellat que du nectar des fleurs pour s'alimenter au stade adulte, en ayant évolué pour le localiser et le digérer efficacement (Goelen et al., 2018; Lenaerts et al., 2016). Le miellat constitue ainsi une part importante et parfois

majoritaire de l'alimentation des parasitoïdes adultes du genre *Aphidius*, qui regroupe les principales espèces impliquées dans le parasitisme des pucerons (Luquet et al., 2021). Ces espèces de parasitoïdes dépendantes du miellat pourraient alors être moins impactées par la disponibilité des ressources florales et donc moins susceptibles d'être collectées sur la flore des vergers. Cela pourrait expliquer que la majorité des parasitoïdes adultes collectés dans les placettes de fleurs aient pour hôte des insectes autres que les pucerons (chapitre 3). Il serait donc intéressant de comparer la dépendance alimentaire vis-à-vis des fleurs entre des parasitoïdes associés à des pucerons (e.g. *Aphidius matricariae* et *Ephedrus persicae* attaquant le puceron cendré) et des parasitoïdes associés à d'autres types d'hôtes, ne produisant pas de miellat (e.g. *Ascogaster quadridentata* ou *Pristomerus vulnerator* attaquant le carpocapse).

1.1.4. Repenser les méthodes de recensement et de collecte des insectes auxiliaires

Une limite de nos travaux est la faible abondance de syrphes et de parasitoïdes collectés ou recensés dans les différents chapitres de la thèse. Nous avons utilisé deux méthodes - des observations directes et des captures au filet - pour évaluer l'abondance et la diversité des syrphes et des hyménoptères parasitoïdes, mais aussi d'autres groupes d'insectes auxiliaires (abeilles domestiques, abeilles sauvages, prédateurs généralistes). L'avantage principal des observations directes est l'acquisition immédiate des données, sans tri ou identification *a posteriori*. Cependant, cette méthode offre une capacité d'identification limitée et peut introduire un biais d'observateur. De plus, les observations sont réalisées durant une courte période (5 à 10 minutes), ce qui limite la possibilité de détecter des abondances d'insectes élevées. Le filet permet de collecter des arthropodes de petite taille, difficiles à repérer visuellement (notamment des parasitoïdes, Daniel et al., 2018). L'identification est différée et peut donc être plus précise. Cependant, comme pour les observations, la capture au filet n'offre qu'une vision « instantanée » de l'abondance et la diversité d'arthropodes. Seuls ceux présents au moment de la collecte sont recensés. Or, la période d'activité des insectes auxiliaires au cours de la journée varie selon le groupe considéré, ce qui peut introduire un biais pour la comparaison entre plusieurs sites inventoriés sur une même journée. Par exemple, Jeavons, van Baaren et Le Lann, 2020 ont observé dans des parcelles d'arnica et de bleuet que l'abondance de syrphes était plus élevée en début de journée tandis que les abeilles domestiques étaient plus présentes à midi et dans l'après-midi, et les abeilles sauvages en fin d'après-midi.

D'autres méthodes de suivi peuvent être envisagées, comme l'utilisation de pièges fixes et passifs, qui permettent de mesurer l'abondance et la diversité d'arthropodes sur de

plus longues périodes (plusieurs heures ou jours). L'utilisation de pan-traps aurait par exemple été bien adaptée pour répondre aux questions posées dans le chapitre 2 (Daniel et al., 2018; McCravy, 2018). Toutefois, placer ces pièges dans l'inter-rang des vergers peut gêner le passage d'engins agricoles. Des pièges collants sont parfois utilisés pour capturer des parasitoïdes (Campbell et al., 2012; Larsen et al., 2014), mais les individus capturés sont souvent endommagés ce qui rend leur identification délicate. D'autres pièges passifs, tels que des pièges cornets, auraient pu être employés pour étudier les préférences des parasitoïdes vis-à-vis des espèces végétales testées dans les chapitres 3 et 4. Dans de futures études, il serait donc pertinent de combiner des pièges fixes (pan-traps, Malaise ou cornet) à des échantillonnages « instantanés » (observation, filet ou aspirateur).

1.2. Effets de cascade sur la régulation des insectes ravageurs et la réduction des dégâts associés

Notre second objectif était d'évaluer si les plantes, en favorisant la présence de syrphes aphidiphages et d'hyménoptères parasitoïdes, contribuaient à une meilleure régulation des ravageurs du pommier et à une réduction des dégâts associés.

1.2.1. Régulation des insectes ravageurs : des effets significatifs mais de faible magnitude

L'ajout d'espèces végétales en pied d'arbre a conduit à une augmentation du taux de parasitisme du carpocapse ou du puceron cendré, mais les effets positifs ne sont pas systématiques et varient selon la plante étudiée. Seule *V. persica* a un effet positif sur le parasitisme du puceron cendré dans le chapitre 3 et seul *O. basilicum* a un effet positif sur le parasitisme du carpocapse dans le chapitre 4. Bien que ces effets soient significatifs, leur magnitude reste faible et varie selon l'insecte ravageur considéré. Ainsi, dans le chapitre 3, le taux de parasitisme du puceron cendré est en moyenne de 5% (par arbre et par session). Par conséquent, les augmentations de parasitisme observées sur les pommiers associés à *V. persica* sont faibles. Concernant le carpocapse, dans le chapitre 4 nous avons observé un taux de parasitisme moyen de 30% (par arbre et par semaine). Les différences observées entre les pommiers associés à *O. basilicum* et les pommiers témoins sont aussi plus élevées. Ces observations se retrouvent dans la littérature, où les taux de parasitisme du carpocapse en vergers cidricoles sont autour de 40% (Martínez-Sastre et al., 2021) tandis que le parasitisme du puceron cendré en vergers non traités excède rarement 10 % (Dib et al., 2010). Ces différences pourraient en partie s'expliquer par la méthode utilisée pour évaluer le taux de parasitisme de chaque ravageur. Pour les carpocapses, nous avons utilisé deux indicateurs – la proportion de petites larves et la proportion de parasitoïdes adultes à l'émergence – qui amènent aux mêmes conclusions. Pour le puceron cendré, nous nous

sommes basés sur la proportion de momies pour évaluer le taux de parasitisme, ce qui pourrait amener à sous-estimer le taux de parasitisme réel (Ward et al., 2022).

Une faible augmentation du taux de parasitisme peut aussi s'expliquer par la faible abondance d'espèces de parasitoïdes impliquées dans la régulation parmi les parasitoïdes visitant les plantes, comme observé pour les parasitoïdes du puceron cendré dans le chapitre 3. Dib, Libourel et Warlop, 2012 ont conduit une étude similaire concernant les parasitoïdes du carpocapse et n'ont observé aucune espèce impliquée parmi les parasitoïdes collectés sur des bandes fleuries. Néanmoins, cette étude a été conduite en mai ce qui n'est pas la meilleure période pour collecter des espèces parasitant le carpocapse, dont l'abondance augmente au cours de l'année, avec les générations successives de carpocapses (Maalouly, Franck & Lavigne, 2015). Il serait donc intéressant de collecter les parasitoïdes sur fleurs aussi en été pour davantage cibler les espèces impliquées dans la régulation du carpocapse.

En plus du taux de parasitisme, nous avons également évalué les effets des espèces végétales et des ennemis naturels sur le niveau d'infestation par les insectes ravageurs. Les effets positifs et significatifs observés sur le parasitisme des insectes ravageurs, en lien avec les espèces végétales installées en pied d'arbre, ne se traduisent pas par une réduction du nombre de larves de carpocapse ou du nombre de pucerons cendrés par arbre par rapport aux conditions témoins (chapitres 3 et 4). Nous n'avons pas non plus observé de relation significative entre l'abondance des parasitoïdes collectés sur la flore spontanée des vergers et le nombre de colonies de puceron cendré ou le nombre de larves de carpocapse diapausantes. En revanche, nous avons observé une relation significative et négative entre l'abondance de syrphes adultes recensés sur la flore spontanée des vergers et le nombre de colonies de puceron cendré. Nos résultats montrent aussi des effets significatifs et négatifs du recouvrement en fleurs anémogames sur le nombre de colonies de puceron cendré. Ces effets n'étaient toutefois pas médiés par l'abondance des syrphes ou des parasitoïdes (chapitre 2).

Pour résumer, en vergers commerciaux, seule l'abondance des syrphes adultes observés sur la flore spontanée a un effet significatif sur l'infestation par le puceron cendré. Concernant les parasitoïdes, en vergers expérimentaux, nous avons observé une amélioration du taux de parasitisme en présence de certaines espèces végétales installées en pied d'arbre, mais qui ne se traduit pas par une réduction du nombre d'insectes ravageurs. Dans une méta-analyse récente, Judt et al., 2023 ont également montré que les mesures de diversification végétale menées en vergers de pommiers ont un effet global positif sur les ennemis naturels, mais des effets limités sur l'abondance d'insectes ravageurs. Notamment, l'étude ne montre aucun effet significatif sur l'abondance de pucerons ou de larves de Lépidoptères.

1.2.2. Réduction des dégâts : très peu d'effets significatifs

Nous avons observé un effet significatif et négatif du recouvrement en fleurs entomogames sur le nombre de pommes piquées, mais qui ne dépend pas de l'abondance de parasitoïdes. Par contre, aucun effet de la flore spontanée n'est observé sur les dégâts associés au puceron cendré. Nous n'avons pas non plus observé de réduction significative des dégâts sur fruits en lien avec les espèces végétales installées en pied d'arbre (chapitres 3 ou 4). Ces résultats s'expliquent en partie par les effets observés sur le nombre d'insectes ravageurs qui sont, globalement, faibles ou inexistantes. Le choix des indicateurs utilisés peut aussi être questionné, notamment pour les dégâts liés au puceron cendré. Nous avons mesuré la proportion de pommes déformées, ce qui est assez réducteur car les pucerons ne piquent pas uniquement les boutons floraux. De plus, cette proportion était faible, les deux années d'étude, aussi bien en vergers commerciaux et qu'en vergers expérimentaux.

De manière générale, il est difficile de démontrer que la présence d'aménagements fleuris et/ou l'augmentation des ressources florales contribuent significativement à la réduction des dégâts sur fruits. Par exemple, Cahenzli et al., 2019 ont observé que la présence de bandes fleuries en vergers était associée à une réduction de la proportion de pommes déformées au cours de la saison de production, mais pas à la récolte. Aucune différence n'était notée concernant la proportion de pommes piquées par les carpocapses. De plus, peu d'études questionnent les effets de cascade jusqu'à la qualité des fruits (Judt et al., 2023). Évaluer le bénéfice réel sur la production permis par l'augmentation des ressources florales en vergers, au-delà du recrutement des ennemis naturels, est pourtant nécessaire pour favoriser l'adoption et la mise en œuvre des pratiques de diversification végétale par les agriculteurs. Les effets sur les dégâts, et plus largement sur le rendement, sont multifactoriels et des études pluri ou interdisciplinaires seront donc nécessaires pour pleinement les évaluer (Johnson et al., 2021).

1.2.3. Prendre en compte la dynamique temporelle

Les différentes expérimentations présentées dans cette thèse n'ont duré qu'une année. Mener des études pluri-annuelles permettrait de confirmer la significativité des résultats observés. L'âge des aménagements fleuris peut aussi affecter leur attractivité pour les ennemis naturels, et donc leur contribution au service de contrôle biologique. L'abondance et la richesse des insectes auxiliaires sont favorisées les deux à trois premières années, mais déclinent ensuite dans les aménagements fleuris plus vieux (5-6 ans), en lien avec une réduction de l'abondance et de la diversité des ressources florales (Albrecht, Knecht et al., 2021).

Ensuite, tous nos relevés et observations de terrain ont eu lieu au printemps et au début de l'été, une période clé, notamment pour étudier la régulation du puceron cendré. Néanmoins, il serait intéressant d'évaluer aussi la disponibilité des ressources florales durant l'été et/ou en début d'automne, une période importante pour les parasitoïdes du carpocapse. C'est aussi une période où la disponibilité en ressources florales est souvent faible (Timberlake, Vaughan & Memmott, 2019).

2. Utiliser des outils moléculaires pour caractériser les relations trophiques entre ennemis naturels, plantes et insectes ravageurs : apports, limites et perspectives

2.1. Apports du *barcoding* et du *metabarcoding*

L'utilisation du *barcoding* a permis une identification relativement rapide des hyménoptères parasitoïdes collectés sur les espèces végétales en vergers, au moins au niveau du genre (chapitre 3). A notre connaissance, peu d'études ont pour l'instant adopté cette démarche, et il serait donc intéressant de reconduire cette expérimentation en intégrant un plus grand nombre d'espèces végétales. Le *metabarcoding* nous a permis de mettre en évidence les relations que les syrphes entretiennent avec les espèces végétales en verger de pommiers (chapitre 5). Nous avons ainsi identifié une quarantaine de taxons associés aux syrphes aphidiphages. Reconstruire de tels réseaux en se basant uniquement sur des observations de visites de fleurs aurait été plus complexe et chronophage. De plus, la construction de deux bases de références locales pour les marqueurs *ITS2* et *rbcL* a permis l'identification de la majorité des taxons de plantes au niveau de l'espèce. Nous avons également testé la possibilité d'identifier de l'ADN de pucerons à partir de syrphes adultes. Les résultats obtenus dans ce cas montrent toutefois certaines ambiguïtés et l'analyse doit encore être affinée pour fiabiliser les résultats issus de ce travail.

2.2. Principales difficultés rencontrées

Le *barcoding* et le *metabarcoding* sont deux outils pertinents qui, combinés à d'autres méthodes, peuvent contribuer à une meilleure compréhension des relations que les ennemis naturels entretiennent à la fois avec les plantes et les insectes ravageurs, dans une optique de préservation de la biodiversité et de développement de stratégies durables de gestion des ravageurs. Certaines limites peuvent toutefois être soulevées et des améliorations peuvent encore être faites pour rendre ces outils pleinement opérationnels.

Pour commencer, des bases de référence complètes, précises et fiables sont nécessaires pour identifier les organismes ciblés au niveau de l'espèce. Ce n'est actuellement pas toujours le cas, notamment pour les hyménoptères parasitoïdes. K. Miller, Polaszek et Evans, 2021 ont

ainsi estimé que la base de données BOLD contient des séquences de référence pour moins de 5% des espèces de parasitoïdes existantes. De plus, les séquences actuellement disponibles ne permettent pas toujours une identification au niveau de l'espèce. Par exemple, il n'a pas été possible de distinguer les espèces *Aphidius matricariae* et *Aphidius rhopalosiphii* en se basant uniquement sur l'identification moléculaire (chapitre 3). La distinction entre espèces est également difficile au sein de certains genres de syrphes, en se basant uniquement sur une identification moléculaire avec les amorces utilisées dans le chapitre 5. Les bases de données moléculaires de références existantes doivent être améliorées, à la fois pour le nombre d'espèces qui y sont décrites et pour la fiabilité des séquences qu'elles contiennent. Des alternatives construites à partir des espèces qui sont présentes localement peuvent aussi être envisagées pour améliorer les assignations.

Par ailleurs, dans le chapitre 5, nous n'avons amplifié qu'un court fragment du gène *COI* (264 pb), ce qui peut en partie expliquer la difficulté à discriminer certaines espèces de syrphes. L'amplification d'une plus grande portion du gène *COI* ou l'utilisation d'amorces plus spécifiques pourraient améliorer le niveau de discrimination entre espèce. Par exemple, Gomez-Polo et al., 2014 ont conçu des amorces pour le gène *COI* permettant d'identifier les espèces de syrphes les plus communes en cultures maraîchères méditerranéennes. Leur approche repose sur l'utilisation de PCR multiplex, soit l'amplification de plusieurs segments d'ADN distincts, en une seule réaction. De plus, Gojković et al., 2020 ont montré que de nombreux haplotypes *COI* sont partagés entre différentes espèces du genre *Sphaerophoria*. Le marqueur *COI* n'est donc pas le plus adapté pour discriminer les espèces de ce genre. Une combinaison de marqueurs, incluant des gènes nucléaires et mitochondriaux, pourrait dans ce cas être privilégiée.

Chaque étape - de la collecte des échantillons au traitement des données - peut fortement impacter les résultats et les conclusions de l'analyse *metabarcoding*. Les résultats doivent être interprétés avec prudence, en tenant compte des différents biais possibles. Un point délicat est notamment la manière de filtrer les OTU pour éliminer les faux-positifs en évitant de générer un nombre trop important de faux-négatifs. Il n'existe pas de consensus dans la littérature pour une méthode optimale de filtrage. Tommasi et al., 2022 ont recensé 43 études identifiant du pollen par *metabarcoding* et ont comparé les méthodes employées pour filtrer les OTU. L'étude révèle une très grande hétérogénéité de pratiques. Certaines études emploient une valeur seuil arbitraire (e.g. <10 séquences), d'autres s'appuient sur les OTU détectés dans les témoins négatifs ou bien utilisent des méthodes plus sophistiquées (e.g. courbes ROC). Dans le chapitre 5, les valeurs seuils ont été définies sur la base du nombre de séquences détectées dans les témoins négatifs. Employer une autre méthode aurait pu conduire à un filtrage plus ou moins strict, et donc modifier le nombre de liens

détectés entre les syrphes et les espèces végétales. Il est de fait difficile de comparer les résultats issus de différentes études de *metabarcoding* si les méthodes de filtrage ne sont pas homogènes, ou au moins clairement explicitées (Arstingstall et al., 2023).

Ensuite, les résultats présentés dans le chapitre 5 sont basés sur des matrices de présence/absence, ce qui peut amener à surestimer le rôle joué par certaines espèces. Une approche quantitative ou semi-quantitative serait préférable. Certaines études s'appuient par exemple sur l'abondance relative de séquences, ce qui revient à calculer la proportion de séquences contenues dans chaque OTU par rapport au nombre de séquences dans l'ensemble du jeu de données (e.g. Deagle et al., 2019 ; Lowe, Jones, Brennan et al., 2022). Mais cette méthode est controversée (e.g. Arstingstall et al., 2023 ; Lamb et al., 2019). Bell et al., 2019 ont notamment testé la solidité des estimations quantitatives et qualitatives obtenues par *metabarcoding* à partir de plusieurs mélanges de pollen contenant un nombre variable d'espèces, plus ou moins apparentées et avec un niveau de rareté variable (une espèce pouvait représenter 5 à 100% des grains du mélange). D'un point de vue qualitatif, la composition des mélanges était bien déterminée grâce au *metabarcoding*. En revanche, d'un point de vue quantitatif, la corrélation est très faible entre le nombre de grains de pollen et le nombre de séquences obtenues pour une espèce donnée. Les données issues de *metabarcoding* peuvent donc, pour l'instant, difficilement être traitées de manière quantitative ou semi-quantitative.

Plus largement, le *metabarcoding* et le *barcoding* sont parfois présentés comme des méthodes relativement simples à mettre en œuvre pour pallier la raréfaction des compétences taxonomiques (Antil et al., 2022). En réalité, le *metabarcoding* et le *barcoding* ne pourront s'affranchir de l'expertise taxonomique, d'une part, car elle est indispensable à la construction de bases de références fiables et, d'autre part, car la confrontation de différentes méthodes d'identification est souvent nécessaire pour valider les résultats. De plus, les ressources nécessaires pour mettre en œuvre une analyse de *metabarcoding* sont nombreuses : compétences et matériel pour les analyses moléculaires et le séquençage, ressources informatiques (programmation, stockage) pour le traitement et l'analyse des données, etc. Enfin, l'impact environnemental de ces méthodes mérite d'être questionné. L'extraction d'ADN, les PCR et le séquençage reposent en effet sur une importante quantité de consommables, souvent non recyclés, et notamment de matière plastique (e.g. pointes de pipettes, plaques d'extraction et de PCR, tubes, films plastiques et gants ; Ollivier, 2020).

2.3. Élargir et complexifier les réseaux

Dans le chapitre 5, nous nous sommes concentrés sur les syrphes, mais la méthode développée pourrait être élargie à d'autres groupes d'ennemis naturels dépendant également

des fleurs au stade adulte (e.g. chrysopes et coccinelles). Une difficulté demeure pour les hyménoptères parasitoïdes : ils ne consomment pas ou peu de pollen au stade adulte, même si il est parfois possible de retrouver des grains de pollen sur leurs pièces buccales (Jervis, Kidd & Walton, 1992). Les relations entre espèces végétales et parasitoïdes pourraient néanmoins être étudiées grâce au pollen déposé sur leurs corps. Cela ne traduirait donc pas de la consommation réelle de pollen mais simplement de la visite de fleurs. De plus, les parasitoïdes de très petite taille peuvent être difficiles à repérer visuellement et à capturer. Le risque est donc que les espèces les plus petites soient sous-représentées dans les réseaux d'interactions (Zemenick et al., 2019).

Dans cette thèse, nous avons principalement utilisé le *barcoding* et le *metabarcoding* pour étudier les relations entre ennemis naturels et plantes ou entre ennemis naturels et ravageurs. Nous pourrions envisager d'inclure également les relations entre les insectes ravageurs (ou insectes phytophages) et les plantes dans les réseaux (Fig.6.2). Caractériser ces relations permettrait, par exemple, d'étudier la contribution relative de la fourniture en ressources florales et de la présence d'hôtes/proies alternatives sur les plantes dans le recrutement des ennemis naturels.

2.4. Inverser les rôles : analyser l'ADN environnemental sur les fleurs

Une autre stratégie pourrait être de s'appuyer sur l'ADN environnemental présent sur les fleurs. Thomsen et Sigsgaard, 2019 ont démontré qu'il était possible d'amplifier et d'identifier les traces d'ADN laissées par les arthropodes sur les fleurs qu'ils visitent. A partir de fleurs collectées sur sept espèces végétales différentes, ils ont ainsi pu identifier des traces d'ADN pour 135 espèces d'arthropodes appartenant à différents groupes fonctionnels (pollinisateurs, parasitoïdes, prédateurs, phytophages). Cette méthode a récemment été utilisée pour étudier la diversité des arthropodes visitant les fleurs de pommiers (Gomez et al., 2022), et peut également permettre de détecter des traces d'ADN de vertébrés (voir par exemple Jønsson et al., 2023 pour les oiseaux ; Walker et al., 2022 pour les chauve-souris). La méthode pourrait également mettre en évidence des relations entre arthropodes (Johnson et al., 2021).

Dans les études précédemment citées, les syrphes et les hyménoptères parasitoïdes sont le plus souvent identifiés à la famille. En utilisant des bases de référence plus complètes et décrivant la biodiversité locale de façon exhaustive, l'identification à l'espèce pourrait toutefois être améliorée.

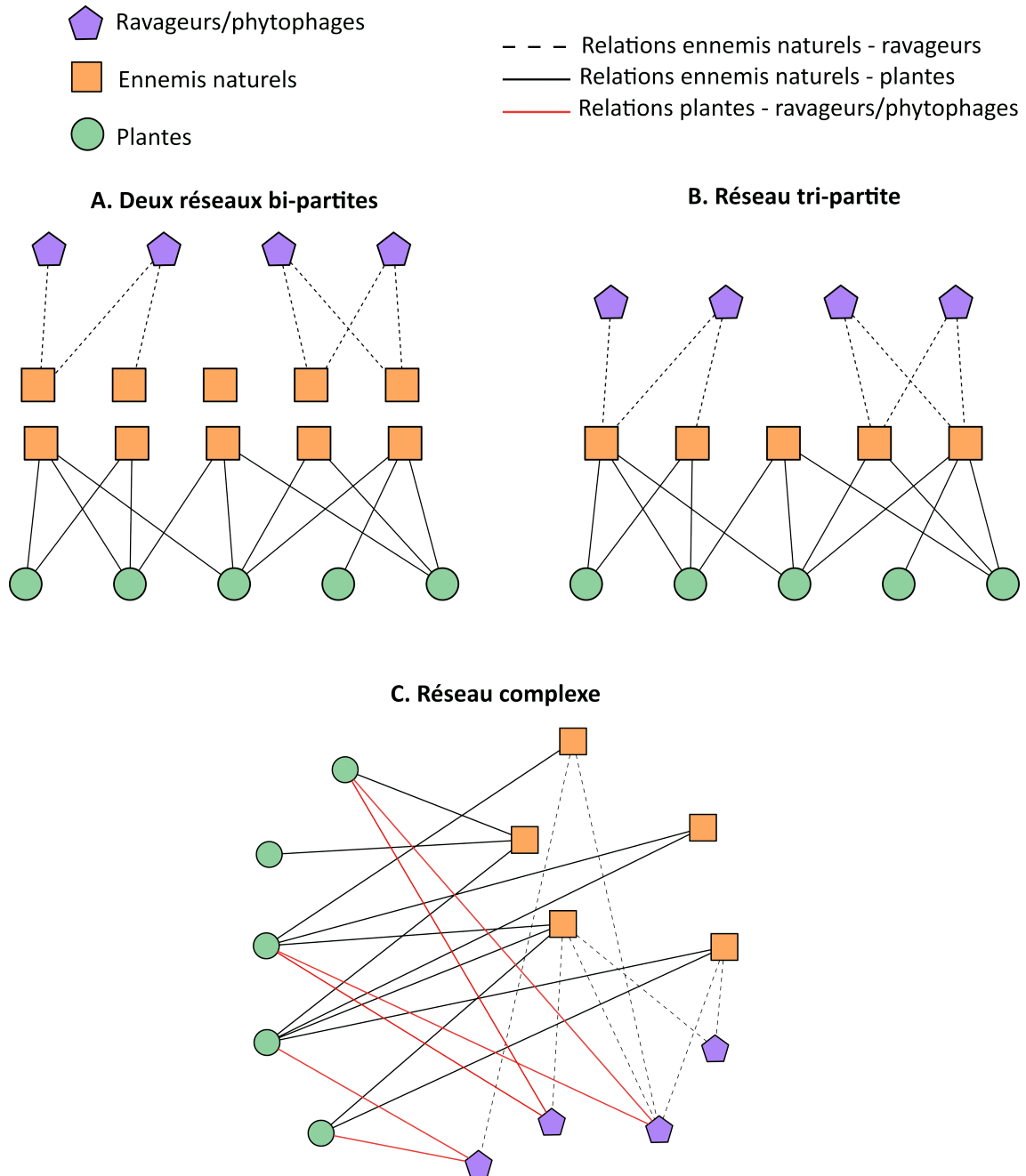


FIGURE 6.2 – **Représentations théoriques de différents types de réseaux pour étudier les relations entre ennemis naturels, plantes et insectes ravageurs.** Le réseau (A) représente l'approche adoptée dans cette thèse : deux réseaux bipartites présentant les relations entre ennemis naturels et plantes ou ennemis naturels et ravageurs. Il pourrait être envisagé de construire et d'analyser des réseaux tripartites (B), voire des réseaux plus complexes intégrant aussi les relations entre les plantes et insectes ravageurs/phytophages (C).

Ces bases pourraient être construites de la même manière que les bases de références utilisées dans le chapitre 5 pour les plantes : (i) identifier précisément les espèces de syrphes et de parasitoïdes impliquées dans la régulation des insectes ravageurs du pommier, (ii) compiler des séquences de référence pour chaque espèce et (iii) confronter les séquences obtenues par l'analyse de l'ADN environnemental sur les fleurs à ces séquences de référence.

Toutefois, cette méthode n'atteste pas de la consommation de ressources florales par les arthropodes, mais simplement de la visite de fleurs. Il n'est également pas possible de déterminer le stade de développement des arthropodes visiteurs (Thomsen & Sigsgaard, 2019). Enfin, certaines interrogations demeurent. La variabilité temporelle et saisonnière de l'ADN environnemental présent sur les fleurs n'est pour l'instant pas connue. Johnson et al., 2021 suggèrent par exemple que la pluie réduit fortement la quantité d'ADN environnemental. Il est aussi possible que les caractéristiques des fleurs (e.g. surface, exposition aux UV, etc.) conditionnent la quantité d'ADN environnemental pouvant être détectée (Johnson et al., 2021).

3. Perspectives de gestion et de recherche

3.1. Comment gérer la flore des vergers dans une stratégie de protection intégrée ?

3.1.1. Associer la préservation de la flore spontanée et l'ajout d'aménagements fleuris

Ajouter des plantes dans les vergers de pommier (e.g. bandes fleuries, plantes de services) peut favoriser la présence des syrphes et des parasitoïdes, et leur activité de régulation. Dans les chapitres 3 et 4, nous avons notamment montré que l'ajout d'espèces végétales en pied d'arbre peut conduire à une augmentation du parasitisme du carpocapse et du puceron cendré, mais que les effets positifs attendus sur la régulation des ravageurs ne sont pas systématiques et varient selon la plante étudiée. Le choix des espèces installées doit donc être bien pensé. La taille et la disposition des aménagements fleuris au sein des vergers doivent aussi être précisées, car les effets positifs attendus diminuent souvent lorsque la distance aux aménagements fleuris augmente (Albrecht, Kleijn et al., 2021).

Une autre stratégie consiste à préserver la flore spontanée du rang et de l'inter-rang des vergers. L'abondance et la diversité de la flore spontanée affectent significativement et positivement l'abondance des syrphes et des parasitoïdes et contribuent à la réduction de l'infestation par le puceron cendré et le carpocapse (chapitre 2). D'autres études ont également souligné le rôle important de la flore spontanée dans les parcelles agricoles pour favoriser les ennemis naturels et le contrôle biologique des insectes ravageurs (Pollier et

al., 2018 ; Serée et al., 2023). Toutefois, bien que les effets que nous avons observés soient significatifs, leur magnitude reste faible. Le mode de gestion de la flore spontanée pourrait être questionné afin de maximiser les effets positifs attendus, notamment la période et la fréquence de fauche qui conditionnent l’abondance et la diversité de la flore spontanée (Herz et al., 2019).

Peu d’études ont questionné la combinaison de stratégies de diversification végétale pour renforcer le service de contrôle biologique (Tibi et al., 2022). Pourtant, combiner ces deux stratégies, ajout d’aménagements fleuris et préservation de la flore spontanée, pourrait renforcer leurs effets respectifs. La flore spontanée en intra-parcellaire pourrait servir de relais à des aménagements fleuris installés en bordure de vergers (Seree, 2022), et ainsi limiter les effets de dilution souvent observés lorsque la distance aux aménagements fleuris augmente (Gardarin, 2023). Les mélanges fleuris semés pourraient également être conçus de manière à fournir des ressources florales à des périodes où la flore spontanée est peu ou pas développée (Timberlake, Vaughan & Memmott, 2019). Par ailleurs, les ressources florales fournies par la culture principale, ici les pommiers, devraient également être prises en compte dans l’évaluation des stratégies de diversification végétale. Les fleurs de pommier peuvent en effet être une source de pollen pour les syrphes aphidiphages au printemps (chapitre 5).

3.1.2. Vers une combinaison de pratiques

Préserver la flore spontanée et ajouter des aménagements fleuris au sein des vergers sont deux leviers pour améliorer la régulation du puceron cendré et du carpocapse, qui devront nécessairement faire partie d’une stratégie plus large pour assurer une protection durable des pommiers. La combinaison de ces deux stratégies entre elles, et avec d’autres pratiques agricoles doit être étudiée.

Nous avons notamment observé que parmi les hyménoptères parasitoïdes visitant les plantes présentes en vergers, une faible proportion était effectivement impliquée dans la régulation du puceron cendré. Il pourrait donc être intéressant de coupler la présence de plantes, spontanées ou semées, à des lâchers inondatifs d’espèces de parasitoïdes d’intérêt. Cela a été initié pour les parasitoïdes du puceron cendré (Tougeron et al., 2023), mais la fréquence et la densité de lâchers optimales doivent encore être définies (Ferrais et al., 2022). Cette méthode pourrait aussi être testée concernant les parasitoïdes du carpocapse, par exemple pour augmenter les populations d’espèces présentes localement (e.g. *Ascogaster quadridentata*, Hernández, Andorno et Botto, 2022) ou pour favoriser l’installation d’espèces non-indigènes (e.g. *Mastrus ridens*, Sandanayaka et al., 2018). L’utilisation d’augmentorium pourrait aussi être envisagée. Cette stratégie a notamment été mise en

œuvre à la Réunion, pour lutter contre les mouches des fruits (Tephritidae, Deguine et al., 2011 ; Gayrard, Palvadeau et Delval, 2018). Le principe est de déposer des fruits piqués dans des tentes, dont les mailles sont suffisamment larges pour laisser émerger les parasitoïdes des insectes ravageurs mais suffisamment étroites pour empêcher les ravageurs de sortir (Kehrli, Lehmann & Bacher, 2005). Cette méthode, testée notamment en cultures maraîchères, pourrait être transposée aux vergers de pommiers, en y déposant des pommes piquées par les carpocapses de manière à favoriser les parasitoïdes du carpocapse.

Plus largement, la contribution des plantes au service de contrôle biologique doit être pensée et évaluée en tenant compte de la conduite générale du verger. La conduite des pommiers peut en effet conditionner l'infestation par les insectes ravageurs. Par exemple, les pommiers soumis à une forte intensité de taille en hiver ont des pousses plus longues ainsi qu'un plus grand nombre de feuilles par pousse, ce qui augmente la densité des pucerons cendrés (Benzina et al., 2023). Le niveau d'irrigation et de fertilisation azotée peuvent aussi affecter la densité d'insectes ravageurs (Rousselin et al., 2018). La fertilisation azotée et l'irrigation impactent aussi la composition des communautés d'adventices et donc, indirectement, le recrutement des ennemis naturels (Miñarro, 2012 ; Villa-Galaviz et al., 2020 ; Vollhardt et al., 2019). Enfin, l'utilisation de variétés résistantes aux pucerons est aussi à prendre en compte (Joshi et al., 2015), et combiner plusieurs variétés pourrait être une stratégie de diversification supplémentaire.

Dans le chapitre 2, le nombre de vergers étudiés a limité le nombre de variables intégrées dans les analyses statistiques. De futures études, menées dans un plus grand nombre de vergers, devraient donc considérer plus finement la conduite des vergers, en intégrant des variables relatives à la fertilisation, à l'irrigation et aux pratiques phytosanitaires, pour ainsi mieux évaluer le rôle de la flore spontanée et/ou des aménagements fleuris. L'utilisation de modèles à équations structurelles pourrait permettre d'évaluer la contribution relative de chaque voie de régulation.

3.1.3. Prendre en compte les potentiels disservices

Nous nous sommes principalement intéressés aux services associés aux espèces végétales présentes dans les vergers de pommiers et nous n'avons pas considéré d'éventuels disservices. Or, les plantes, spontanées ou semées, peuvent entrer en compétition avec les pommiers pour l'accès aux ressources (Bone et al., 2009 ; Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019). Concernant la flore adventice plus particulièrement, la diversité spécifique peut déterminer sa capacité à entrer en concurrence avec la culture principale (Tibi et al., 2022). Favoriser une flore spontanée diversifiée et équilibrée réduirait son impact sur la culture principale. Les seuils d'abondance et de diversité optimales doivent être identifiés,

pour promouvoir l'entomofaune auxiliaire et les services associés sans entraîner une forte compétition vis-à-vis de la culture principale. Ces seuils sont notamment à définir selon l'âge des vergers, les jeunes arbres étant plus sensibles à la compétition avec la flore adventice.

Les espèces végétales présentes en vergers pourraient aussi favoriser les ravageurs du pommier eux-mêmes. Nos résultats ne vont par contre pas dans ce sens pour le carpocapse et le puceron cendré. Par ailleurs, la présence ou l'élimination du plantain (*Plantago lanceolata*), l'hôte secondaire du puceron cendré, n'a pas d'influence sur leur abondance dans les pommiers (Alins, Alegre & Avilla, 2007 ; Brown & Mathews, 2007). Mátray et Herz, 2021 ont aussi montré que le risque de favoriser le carpocapse par l'ajout de ressources florales dans les vergers était faible. Par contre, la préservation de la flore spontanée ou l'ajout d'aménagements fleuris pourraient favoriser d'autres ravageurs du pommier que nous n'avons pas étudiés ici, notamment certains rongeurs (Fischer & Wagner, 2016). Des essais techniques suggèrent par exemple que la présence de certaines Fabaceae pourrait favoriser le campagnol provençal et devraient donc être évitées (Charreyron et al., 2016).

Enfin, la préservation des ressources florales en intra-parcellaire et/ou l'installation d'aménagements fleuris peuvent être contraints par la réglementation en vigueur, en particulier par l'arrêté du 20 novembre 2021 relatif à la protection des abeilles et des autres insectes pollinisateurs. Cet arrêté vise à protéger les insectes pollinisateurs des risques liés à l'application des produits phytopharmaceutiques. Il stipule que l'application de traitements phytosanitaires est interdite sur une culture attractive pour les insectes pollinisateurs ou bien qu'elle ne peut avoir lieu que sur une plage horaire limitée (à la tombée de la nuit), au moment où les pollinisateurs sont absents de la culture. Dans le cas des vergers de pommiers, cette règle s'applique lorsque les pommiers sont en fleurs (de la première fleur ouverte à la dernière chute des pétales), mais elle concerne aussi les zones dites de butinage, incluant la présence d'un couvert végétal en fleurs, spontané ou semé, sous la culture pérenne. L'application de traitements phytosanitaires nécessite donc de rendre ce couvert non attractif, ce qui implique le plus souvent de le détruire (AURA, 2023).

3.2. Futures questions de recherche

3.2.1. *Considérer une plus grande diversité d'ennemis naturels et leurs interactions*

Tout au long de cette thèse, nous nous sommes focalisés sur les syrphes et les hyménoptères parasitoïdes. Nous avons observé des effets significatifs sur la régulation des ravageurs du pommier mais les effets associés à ces deux groupes d'ennemis naturels restent limités. Les résultats du chapitre 2 montrent aussi des effets de la flore spontanée sur la régulation du puceron cendré et du carpocapse, qui ne dépendent pas des syrphes et des parasitoïdes. D'autres groupes d'ennemis naturels doivent donc être pris en compte pour véritablement évaluer la contribution des plantes au service de contrôle biologique, et ce même si ces ennemis naturels ne dépendent pas directement des ressources florales pour s'alimenter (Jacobsen, Sørensen & Sigsgaard, 2022). Ils peuvent en effet bénéficier de la présence d'espèces végétales et de leur diversité d'une autre manière (e.g. habitats, zones refuges, présence de proies alternatives).

De nombreuses interactions existent entre les ennemis naturels présents dans les parcelles agricoles et peuvent prendre des formes variées. Citons par exemple la prédation entre prédateurs (Janssen et al., 2007 ; Michalko, Pekár & Entling, 2019), la prédation de parasitoïdes (Frago, 2016 ; Traugott et al., 2012), le parasitisme de prédateurs (Fei, Gols & Harvey, 2023), le multi-parasitisme (Cusumano, Peri & Colazza, 2016 ; Ortiz-Martínez et al., 2019) ou l'hyper-parasitisme. La présence de plantes peut favoriser certaines de ces interactions antagonistes. Par exemple, la diversification végétale bénéficie parfois davantage aux hyper-parasitoïdes, ce qui réduit l'émergence des parasitoïdes primaires (Jeavons, van Baaren & Le Lann, 2020 ; Saldanha et al., 2019). Araj et al., 2009 ont ainsi montré un effet positif de l'ajout de ressources florales sur la longévité d'*Aphidius colemani* et un effet encore plus fort sur son hyperparasitoïde *Dendrocerus aphidum*.

Face à la compétition ou à la prédation, certains organismes ont développé des stratégies d'évitement. Dans certains cas, un partitionnement spatial ou temporel dans l'exploitation des ressources florales est observé. Le déplacement vers d'autres fleurs a par exemple été documenté entre espèces de syrphes (Ambrosino et al., 2006). Certaines espèces de syrphes semblent aussi éviter les patches de fleurs lorsque la présence d'un prédateur est détectée (Llandres, De Mas & Rodríguez-Gironés, 2012 ; Yokoi & Fujisaki, 2009). A l'inverse, une forme de facilitation et de complémentarité entre ennemis naturels généralistes et spécialistes peut parfois renforcer la régulation naturelle des pucerons (Gontijo, Beers & Snyder, 2015).

Des interactions peuvent aussi exister entre ennemis naturels et pollinisateurs pour l'accès à la ressource florale. Les abeilles domestiques peuvent négativement affecter la visite de fleurs par les syrphes ou les parasitoïdes (Campbell et al., 2012; Jeavons, van Baaren & Le Lann, 2020). La présence d'abeilles pourrait aussi affecter l'activité de régulation des ennemis naturels, et notamment réduire le taux de parasitisme des ravageurs (Jeavons, van Baaren & Le Lann, 2020). Nous n'avons ici pas observé d'interactions négatives entre l'abondance d'abeilles domestiques et l'abondance des autres groupes d'insectes étudiés (syrphes, parasitoïdes et abeilles sauvages, chapitre 2). La faible densité d'abeilles domestiques dans notre étude limite par contre la puissance pour tester ces interactions.

Les interactions qui s'articulent entre insectes auxiliaires peuvent donc limiter les bénéfices attendus en termes de contrôle biologique, ou au contraire les renforcer. Ces interactions ne sont toutefois pas beaucoup étudiées à l'heure actuelle et méritent d'être précisées. Par ailleurs, il faudrait étudier ces interactions en considérant plusieurs insectes ravageurs. Par exemple, plusieurs groupes de prédateurs généralistes contribuent à la fois à la régulation du puceron cendré et du carpocapse (e.g. araignées, forficules). Du fait du décalage temporel entre l'infestation par le puceron cendré et le carpocapse, la présence de prédateurs généralistes attaquant la première génération de carpocapse pourrait en partie dépendre de leurs développement au préalable sur le puceron cendré au début du printemps (Fig.6.3). Dans le chapitre 2, nous avons ainsi observé une relation négative entre le nombre de colonies de pucerons recensées au printemps et l'abondance de larves diapausantes recensées au début de l'automne. Des études supplémentaires évaluant les effets de la diversification végétale sur la régulation de plusieurs ravageurs simultanément sont donc nécessaires (Tibi et al., 2022).

Utiliser des modèles à équations structurelles pourrait permettre de mieux comprendre ces interactions et d'évaluer la contribution respective des différents groupes d'ennemis naturels au service de contrôle biologique. Des méthodes complémentaires, au-delà de l'observation, pourraient aussi être employées : des pièges caméras (Gardarin, 2023), des cages d'exclusion pour permettre uniquement le passage de certains groupes d'ennemis naturels (Marshall & Beers, 2023), des outils moléculaires pour évaluer la prédation (Unruh et al., 2016) ou bien des marquages pour étudier la dispersion des ennemis naturels de la strate herbacée vers les pommiers (Zhang et al., 2022). Les groupes d'ennemis naturels considérés devraient également être élargis au-delà des arthropodes, en incluant par exemple les oiseaux et les chauves-souris (D. García, Miñarro & Martínez-Sastre, 2018; Martínez-Sastre, Miñarro & García, 2020).

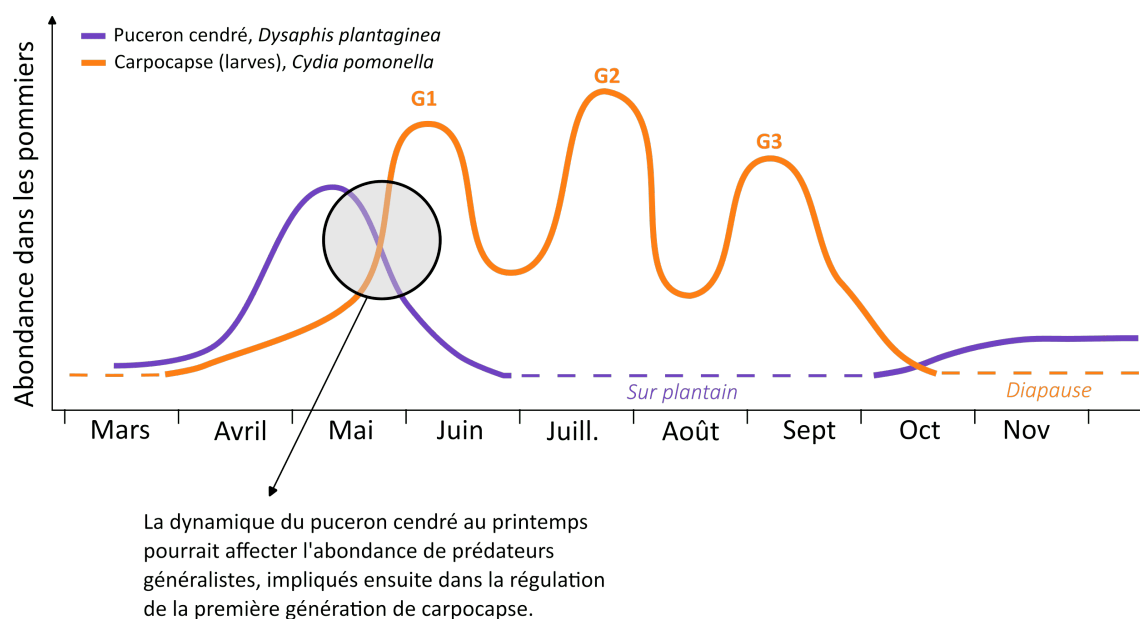


FIGURE 6.3 – Représentation schématique de la dynamique du puceron cendré et du carpocapse dans les pommiers sur une année. G1 : première génération, G2 : deuxième génération et G3 : troisième génération de carpocapse.

3.2.2. Adopter une approche fonctionnelle

De manière générale, il semble vain de rechercher l'espèce végétale qui sera la plus efficace pour promouvoir un groupe d'ennemis naturels donné et, plus encore, plusieurs groupes d'ennemis naturels. Il paraît plus pertinent d'identifier des traits ou des assemblages de traits qui permettront de favoriser les ennemis naturels, le plus largement possible. L'influence de certains traits floraux (e.g. couleur, phénologie, morphologie) sur le recrutement des ennemis naturels est déjà bien documentée (Gardarin et al., 2018; Hatt & Döring, 2023), mais d'autres traits mériteraient d'être questionnés.

Ici, nous avons utilisé le nombre de fleurs ou le recouvrement en fleurs comme un proxy de la fourniture de ressources florales. Ces mesures ne reflètent cependant que partiellement la quantité réelle et la composition des ressources fournies par les fleurs. La quantité et la composition des ressources florales offertes par la flore semée ou spontanée pourrait pourtant conditionner le recrutement des ennemis naturels et leur activité de régulation (Barda et al., 2023; Fowler, Rotheray & Goulson, 2016). En laboratoire, González-Chang et al., 2016 ont par exemple montré que le chrysope *Chrysoperla carnea* était positivement impacté par la fourniture en nectar et en pollen, et que la présence de tréhalose dans le nectar était un élément prépondérant. Les espèces végétales testées dans le chapitre 3 offrent un nectar avec des quantités de sucres contrastées, mais il faudrait tester un plus grand nombre d'espèces dont la composition du nectar est connue, pour véritablement évaluer l'effet sur le recrutement des ennemis naturels en condition de terrain.

Ces traits peuvent en effet fortement varier d'une espèce végétale à l'autre (Baude et al., 2016 ; Hicks et al., 2016). Il serait donc intéressant de prendre en compte la quantité et la composition du nectar produit par les espèces végétales présentes dans les parcelles agricoles, pour mieux évaluer leurs effets sur les différents ennemis naturels. Cela permettrait par exemple d'étudier un gradient de ressources florales, plutôt que la simple présence/absence d'aménagements fleuris. Les travaux de Baude et al., 2016 permettent d'attribuer une quantité de sucres produite par fleur et par jour pour différentes espèces végétales, mais les informations actuellement disponibles ne sont pas exhaustives. Ainsi, une valeur était disponible pour seulement 36% des espèces végétales recensées dans le chapitre 2 (Tableau A1). Des mesures supplémentaires devraient donc être réalisées, notamment pour les espèces méditerranéennes. Les données relatives à la composition du nectar (floral et extra-floral) pourraient aussi être couplées à son accessibilité, en confrontant la morphologie des plantes, et notamment de leurs fleurs, à la morphologie des ennemis naturels (Cullen et al., 2021 ; Gardarin, Pigot & Valantin-Morison, 2021). La même démarche pourrait être envisagée pour le pollen, dont la composition peut aussi influencer l'attraction des insectes visiteurs (Fowler, Rotheray & Goulson, 2016).

Le rôle de l'olfaction mérite aussi d'être mieux documenté. Dans cette thèse, les plantes aromatiques et les espèces végétales "communes" ont été étudiées séparément, et les composés organiques volatils (COV) émis par les plantes n'ont pas été mesurés. Hatt et al., 2019 notent aussi que de nombreuses études ont évalué l'attractivité des plantes aromatiques pour les ennemis naturels, mais peu ont véritablement identifié les composés chimiques ou les bouquets olfactifs impliqués dans l'attraction. De manière générale, les études portant sur le rôle des COV dans le recrutement des ennemis naturels questionnent rarement d'autres traits floraux (Foti et al., 2017). Il serait donc intéressant de comparer les effets respectifs de plantes aromatiques et de plantes plus « communes et locales » et de croiser différents traits tels que la composition des ressources florales offertes et la diversité des COV émis.

Étudier conjointement un grand nombre de traits floraux, leurs effets sur les communautés d'ennemis naturels et leurs interactions, et les conséquences en cascade pour la régulation des insectes ravageurs peut être complexe à mettre en œuvre. Une mise en commun des données est donc à encourager, pour permettre des analyses plus larges et approfondies. Citons notamment trois initiatives qui vont en ce sens. La première est la création d'une base de données regroupant les informations quantitatives et qualitatives disponibles sur les ressources florales (pollen et nectar) produites par plus de quatre cents espèces végétales (Lemétayer et al., 2023). Ce projet concerne pour l'instant la flore d'Ile-de-France mais

devrait ensuite être élargi à la France entière. La seconde est la base de données DoPI¹ qui regroupe des informations relatives aux interactions entre espèces végétales et insectes en s'appuyant sur la littérature scientifique ainsi que des rapports et des bases de données non publiés. Cette base de données concerne pour l'instant les insectes pollinisateurs des îles britanniques, mais l'approche pourrait être élargie aux ennemis naturels. La troisième et dernière initiative est la base de données BP-DB Biocontrol Plant Database, qui a pour objectif de fournir « des informations utiles sur une diversité de plantes de biocontrôle en termes d'espèces, d'organismes nuisibles ciblés, de stratégies et de services fournis² ». Cette base en est encore à ses débuts et les enregistrements effectués concernent, pour l'instant, principalement les plantes d'intérêt pour les grandes cultures.

3.2.3. Prendre en compte le contexte paysager

Notre étude avait pour échelle la parcelle, ce qui peut être limitant. L'idéal serait de considérer les ressources florales offertes par les habitats adjacents aux vergers de pommiers, qui peuvent influencer les effets des ressources florales présentes en intra-parcellaire et la dynamique spatiale des ennemis naturels (Moquet et al., 2017). Serée et al., 2022 ont ainsi montré que l'effet positif des ressources florales disponibles en intra-parcellaire sur le parasitisme des pucerons et l'abondance de syrphes diminuait avec l'augmentation de la proportion d'habitats semi-naturels dans le paysage. A l'inverse, Bishop et al., 2023 ont observé que les communautés d'ennemis naturels étaient principalement affectées par le recouvrement en fleurs en bordure immédiate des vergers plutôt que par le contexte paysager plus lointain.

L'approche fonctionnelle pourrait aussi s'appliquer aux paysages, en tenant compte du type de ressource fourni par chaque habitat aux ennemis naturels des ravageurs (e.g. alimentaires, sites de nidification, sites d'hivernation). Coupler relevés botaniques et analyse de *metabarcoding* pourrait permettre, d'une part, d'évaluer l'abondance et la diversité des espèces végétales présentes dans différents habitats et les ressources qu'elles fournissent et, d'autre part, d'identifier les espèces végétales effectivement associées aux auxiliaires sur la base du pollen consommé et/ou visité (Timberlake, 2020). La force des relations observées peut ensuite être comparée à celles des observations attendues compte tenu de l'abondance relative de chaque espèce végétale dans les habitats étudiés.

1. <https://www.sussex.ac.uk/lifesci/ebe/dopi/>, (Balfour et al., 2022)

2. https://isaceaweb.sophia.inra.fr/bp_dss_dev/index.php

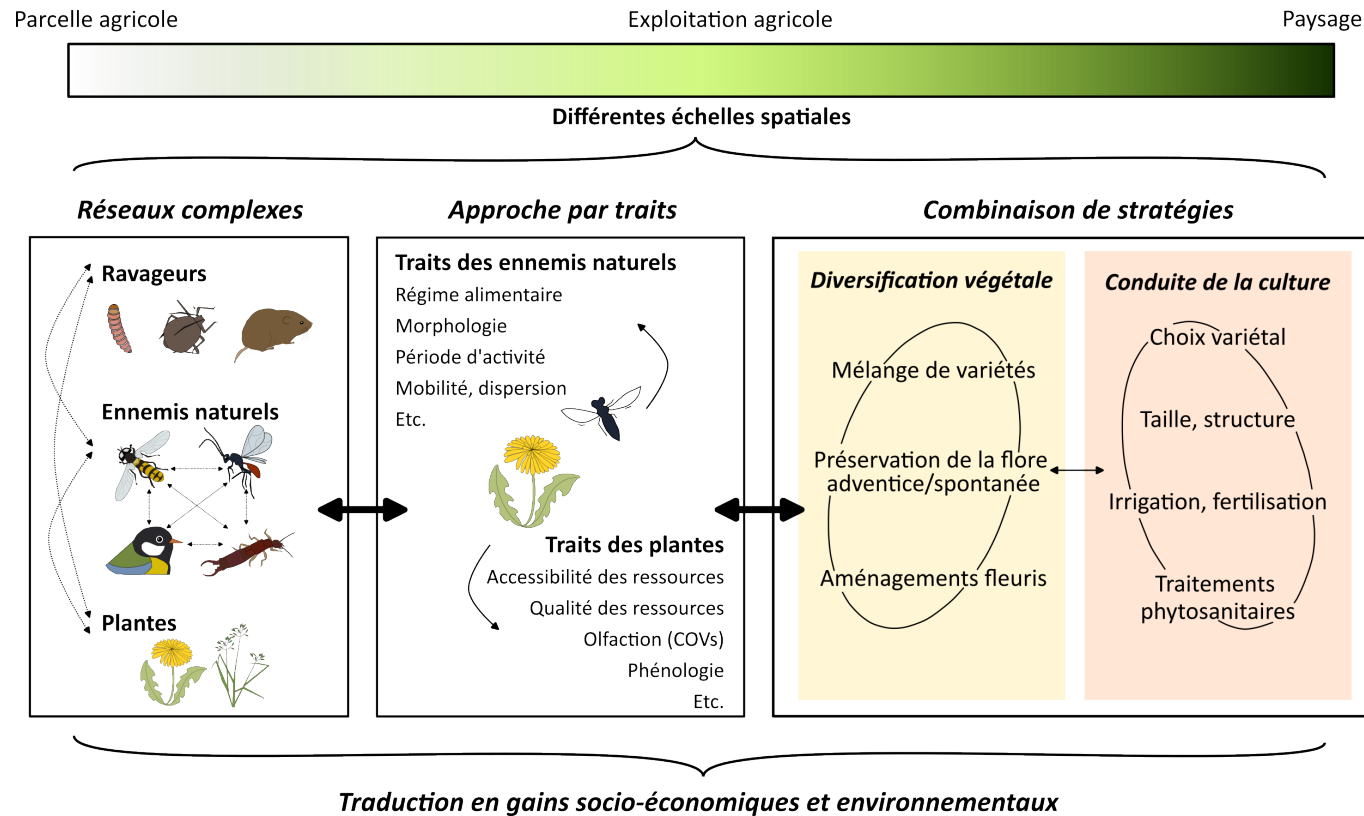


FIGURE 6.4 – **Principales perspectives.** Le schéma présente les principales perspectives de recherche évoquées ci-dessus. Volet de gauche : prendre en compte les multiples interactions entre plantes, ravageurs et ennemis naturels. L'oiseau représente les ennemis naturels hors arthropodes, le forficule représente les arthropodes prédateurs généralistes. Volet central : adopter une approche fonctionnelle en étudiant la quantité et la composition des ressources florales en relation avec les traits des ennemis naturels. Volet de droite : étudier la complémentarité de plusieurs stratégies de diversification végétale, entre elles et avec d'autres composantes de la gestion des vergers. Ces trois éléments peuvent être étudiés à différentes échelles spatiales, symbolisées par le gradient de couleur horizontal. La figure est modifiée d'après Hatt et Döring, 2023.

4. Conclusion générale

Ce travail visait à mieux comprendre le rôle des plantes dans le renforcement du service de contrôle biologique en vergers de pommiers, en se focalisant sur deux groupes d'ennemis naturels, les syrphes et les parasitoïdes. Les espèces végétales présentes en vergers de pommiers, qu'elles soient spontanées ou semées, sont effectivement visitées par des taxons de syrphes et d'hyménoptères parasitoïdes impliqués dans la régulation des insectes ravageurs du pommier, notamment du puceron cendré. Néanmoins, la fraction représentée par ces espèces est faible, en particulier pour les hyménoptères parasitoïdes. De plus, les effets de cascade observés sur la régulation des ravageurs du pommier, et plus encore sur les dégâts, demeurent limités.

Du chemin reste donc à parcourir pour que la préservation de la flore spontanée et l'ajout d'aménagements fleuris constituent des leviers efficaces, permettant de renforcer la régulation des insectes ravageurs par leurs ennemis naturels (Fig. 6.4). En termes de gestion, les complémentarités et les antagonismes entre différentes stratégies de diversification végétale et avec d'autres composantes de la conduite des vergers méritent d'être mieux documentés. Il est aussi nécessaire d'explorer plus finement les réseaux d'interactions qui s'articulent autour des plantes, en incluant d'autres groupes d'ennemis naturels et de ravageurs. Les outils de biologie moléculaire, tels que le *barcoding* et le *metabarcoding*, peuvent faciliter la démarche. De même, il serait pertinent de mieux caractériser la quantité et la composition des ressources florales fournies par la végétation des vergers et leur adéquation avec la morphologie et les besoins des ennemis naturels.



Références

- Abrahamczyk, S., Wohlgemuth, T., Nobis, M., Nyffeler, R., & Kessler, M. (2020). Shifts in food plant abundance for flower-visiting insects between 1900 and 2017 in the canton of Zurich, Switzerland. *Ecological Applications*, 30(6). <https://doi.org/10.1002/eap.2138>
- Adeleye, V. O., Seal, D. R., Liburd, O. E., McAuslane, H., & Alborn, H. (2021). Pepper weevil, *Anthonomus eugenii* (Coleoptera : Curculionidae) suppression on jalapeño peppers using non-host insect repellent plants. *Crop Protection*, 105893. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105893>
- Agreste. (2021). *Enquête Pratiques Phytosanitaires En Arboriculture En 2018* (rapp. tech.). Agreste Chiffres et Données.
- Agreste. (2022). *Pomme* (rapp. tech. N° 2022/100).
- Albert, L., Franck, P., Gilles, Y., & Plantegenest, M. (2017). Impact of Agroecological Infrastructures on the Dynamics of *Dysaphis plantaginea* (Hemiptera : Aphididae) and Its Natural Enemies in Apple Orchards in Northwestern France. *Environmental Entomology*, 46(3), 528-537. <https://doi.org/10.1093/ee/nvx054>
- Albrecht, M., Kleijn, D., Williams, N., Tschumi, M., Blaauw, B., Bommarco, R., Campbell, A., Dainese, M., Drummond, F., Ganser, D., Groot, A. D., Goulson, D., Grab, H., Herzog, F., Isaacs, R., Jacot, K., Jeanneret, P., Knop, E., Kremen, C., ... Sutter, L. (2021). Global synthesis of the effectiveness of flower strips and hedgerows on pest control, pollination services and crop yield. *Ecology Letters*, 23, 1488-1498.
- Albrecht, M., Knecht, A., Riesen, M., Rutz, T., & Ganser, D. (2021). Time since establishment drives bee and hoverfly diversity, abundance of crop-pollinating bees and aphidophagous hoverflies in perennial wildflower strips. *Basic and Applied Ecology*, 57, 102-114. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2021.10.003>
- Alhmedi, A., Belien, T., & Bylemans, D. (2023). Habitat Modification Alters Food Web Interactions with Focus on Biological Control of Aphids in Apple Orchards. *Sustainability*, 15(7), 5978. <https://doi.org/10.3390/su15075978>
- Alhmedi, A., Bylemans, D., Bangels, E., & Beliën, T. (2022). Cultivar-mediated effects on apple–*Dysaphis plantaginea* interaction. *Journal of Pest Science*, 95(3), 1303-1315. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01460-6>
- Alignier, A., Raymond, L., Deconchat, M., Menozzi, P., Monteil, C., Sarthou, J.-P., Vialatte, A., & Ouin, A. (2014). The effect of semi-natural habitats on aphids and their natural enemies across spatial and temporal scales. *Biological Control*, 77, 76-82. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.06.006>
- Alins, G., Alegre, S., & Avilla, J. (2007). Effect of Management Spontaneous Cover Crop on Rosy Apple Aphid, Green Apple Aphid and Their Natural Enemies in an Apple Organic Orchard. *Proceedings of the 3rd International Congress of the European Integrated Project Quality Low Input Food (QLIF)*.
- Almohamad, R., Verheggen, F. J., & Haubruge, É. (2009). Searching and oviposition behavior of aphidophagous hoverflies (Diptera : Syrphidae) : a review. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*.
- Altieri, M. A., & Letourneau, D. K. (1982). Vegetation management and biological control in agroecosystems. *Crop Protection*, 1(4), 405-430. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(82\)90023-0](https://doi.org/10.1016/0261-2194(82)90023-0)
- Ambrosino, M. D., Luna, J. M., Jepson, P. C., & Wratten, S. D. (2006). Relative Frequencies of Visits to Selected Insectary Plants by Predatory Hoverflies (Diptera : Syrphidae), Other Beneficial Insects, and Herbivores. *Environmental Entomology*, 35(2), 394-400. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.2.394>
- Amorós-Jiménez, R., Pineda, A., Fereres, A., & Marcos-García, M. Á. (2014). Feeding preferences of the aphidophagous hoverfly *Sphaerophoria rueppellii* affect the performance of its offspring. *BioControl*, 59(4), 427-435. <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9577-8>
- Andreasen, C., Stryhn, H., & Streibig, J. C. (1996). Decline of the Flora in Danish Arable Fields. *Journal of Applied Ecology*, 33(3), 619. <https://doi.org/10.2307/2404990>

- ANSES. (2021). Efficacité Des Traitements Disponibles Pour Lutter Contre Les Pucerons de La Betterave Connaître, Évaluer, Protéger. Avis de l'Anses Rapport d'expertise Collective.
- Antil, S., Abraham, J. S., Sripoorna, S., Maurya, S., Dagar, J., Makhija, S., Bhagat, P., Gupta, R., Sood, U., Lal, R., & Toteja, R. (2022). DNA barcoding, an effective tool for species identification : a review. *Molecular Biology Reports*. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-08015-7>
- Aparicio, Y., Riudavets, J., Gabarra, R., Agustí, N., Rodríguez-Gasol, N., Alins, G., Blasco-Moreno, A., & Arnó, J. (2021). Can Insectary Plants Enhance the Presence of Natural Enemies of the Green Peach Aphid (Hemiptera : Aphididae) in Mediterranean Peach Orchards? (A. Nielsen, Éd.). *Journal of Economic Entomology*, 114(2), 784-793. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa298>
- Araj, S.-E., Shields, M. W., & Wratten, S. D. (2019). Weed floral resources and commonly used insectary plants to increase the efficacy of a whitefly parasitoid. *BioControl*, 64(5), 553-561. <https://doi.org/10.1007/s10526-019-09957-x>
- Araj, S.-E., Wratten, S., Lister, A., & Buckley, H. (2009). Adding floral nectar resources to improve biological control Potential pitfalls of the fourth trophic level. *Basic and Applied Ecology*, 9.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.11.003>
- Arstingstall, K. A., DeBano, S. J., Li, X., Wooster, D. E., Rowland, M. M., Burrows, S., & Frost, K. (2021). Capabilities and limitations of using DNA metabarcoding to study plant–pollinator interactions. *Molecular Ecology*, 30(20), 5266-5297. <https://doi.org/10.1111/mec.16112>
- Arstingstall, K. A., DeBano, S. J., Li, X., Wooster, D. E., Rowland, M. M., Burrows, S., & Frost, K. (2023). Investigating the use of pollen DNA metabarcoding to quantify bee foraging and effects of threshold selection (W. Blenau, Éd.). *PLOS ONE*, 18(4), e0282715. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282715>
- Arthurs, S. P., Lacey, L. A., & Miliczky, E. R. (2007). Evaluation of the codling moth granulovirus and spinosad for codling moth control and impact on non-target species in pear orchards. *Biological Control*, 41(1), 99-109. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.01.001>
- Athanassov, A., Charmillot, P.-J., Jeanneret & Renard, D. (1997). Les Parasitoïdes Des Larves et Des Chrysalides de Carpocapse *Cydia Pomonella* L. *Revue Suisse de viticulture, d'arboriculture et d'horticulture*, 29(99-106).
- Audemard, H. (1991). Population Dynamics of the Codling Moth [PF.12.24]. In L. P. S. Van der Guest & H. H. Evenhuis (Éd.), *World Crop Pests : Tortricid Pest, Their Biologie, Natural Enemies and Control* (p. 329-338). Elsevier.
- AURA, A. (2023). Application Des Traitements Phytosanitaires : La Reglementation Évolue. <https://www.ada-aura.org/wp-content/uploads/2023/03/Arrete-Abeilles-2023-VNum-ADAAURA.pdf>
- Aviron, S., Berry, T., Leroy, D., Savary, G., & Alignier, A. (2023). Wild plants in hedgerows and weeds in crop fields are important floral resources for wild flower-visiting insects, independently of the presence of intercrops. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 348, 108410. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2023.108410>
- Baessler, C., & Klotz, S. (2006). Effects of changes in agricultural land-use on landscape structure and arable weed vegetation over the last 50 years. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 115(1-4), 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.12.007>
- Bale, J., van Lenteren, J., & Bigler, F. (2008). Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 363(1492), 761-776. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2182>
- Balfour, N. J., Castellanos, M. C., Goulson, D., Philippides, A., & Johnson, C. (2022). DoPI : The Database of Pollinator Interactions. *Ecology*, 103(11), e3801. <https://doi.org/10.1002/ecy.3801>
- Balfour, N. J., & Ratnieks, F. L. W. (2022). The disproportionate value of ‘weeds’ to pollinators and biodiversity. *Journal of Applied Ecology*, 1365-2664.14132. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14132>
- Ballantyne, G., Baldock, K. C. R., & Willmer, P. G. (2015). Constructing more informative plant–pollinator networks : visitation and pollen deposition networks in a heathland plant community. *Proceedings*

- of the Royal Society B : Biological Sciences, 282(1814), 20151130. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.1130>
- Balmer, O., Pfiffner, L., Schied, J., Willareth, M., Leimgruber, A., Luka, H., & Traugott, M. (2013). Noncrop flowering plants restore top-down herbivore control in agricultural fields. *Ecology and Evolution*, 3(8), 2634-2646. <https://doi.org/10.1002/ece3.658>
- Balzan, M. V., & Moonen, A.-C. (2014). Field margin vegetation enhances biological control and crop damage suppression from multiple pests in organic tomato fields. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 150(1), 45-65. <https://doi.org/10.1111/eea.12142>
- Bänsch, S., Tschardt, T., Wünschiers, R., Netter, L., Brenig, B., Gabriel, D., & Westphal, C. (2020). Using ITS2 metabarcoding and microscopy to analyse shifts in pollen diets of honey bees and bumble bees along a mass-flowering crop gradient. *Molecular Ecology*, 29(24), 5003-5018. <https://doi.org/10.1111/mec.15675>
- Barahona-Segovia, R. M., Durán-Sanzana, V., & Murúa, M. (2022). This flower is our bed : long-term citizen science reveals that hummingbird flies use flowers with certain shapes as sleeping places. *Arthropod-Plant Interactions*. <https://doi.org/10.1007/s11829-022-09936-7>
- Barbir, J., Azpiazu, C., Badenes-Pérez, F. R., Fernández-Quintanilla, C., & Dorado, J. (2016). Functionality of Selected Aromatic Lamiaceae in Attracting Pollinators in Central Spain. *Journal of Economic Entomology*, 109(2), 529-536. <https://doi.org/10.1093/jee/tow004>
- Barda, M., Karamaouna, F., Kati, V., & Perdakis, D. (2023). Do Patches of Flowering Plants Enhance Insect Pollinators in Apple Orchards? *Insects*, 14(2), 208. <https://doi.org/10.3390/insects14020208>
- Barnes, A. D., Scherber, C., Brose, U., Borer, E. T., Ebeling, A., Gauzens, B., Gilling, D. P., Hines, J., Isbell, F., Ristok, C., Tilman, D., Weisser, W. W., & Eisenhauer, N. (2020). Biodiversity enhances the multitrophic control of arthropod herbivory. *Science Advances*, 6(45), eabb6603. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb6603>
- Bartoń, K. (2022). MuMIn : Multi-Model Inference. R Package Version 1.47.1.
- Bartual, A. M., Sutter, L., Bocci, G., Moonen, A.-C., Cresswell, J., Entling, M., Giffard, B., Jacot, K., Jeanneret, P., Holland, J., Pfister, S., Pintér, O., Veromann, E., Winkler, K., & Albrecht, M. (2019). The potential of different semi-natural habitats to sustain pollinators and natural enemies in European agricultural landscapes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 279, 43-52. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.04.009>
- Basedow, T., Hua, L., & Aggarwal, N. (2006). The infestation of *Vicia faba* L. (Fabaceae) by *Aphis fabae* (Scop.) (Homoptera : Aphididae) under the influence of Lamiaceae (*Ocimum basilicum* L. and *Satureja hortensis* L.) *Journal of Pest Science*, 79(3), 149-154. <https://doi.org/10.1007/s10340-006-0128-7>
- Bass, C., Puinean, A. M., Zimmer, C. T., Denholm, I., Field, L. M., Foster, S. P., Gutbrod, O., Nauen, R., Slater, R., & Williamson, M. S. (2014). The evolution of insecticide resistance in the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 51, 41-51. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2014.05.003>
- Batáry, P., Dicks, L. V., Kleijn, D., & Sutherland, W. J. (2015). The role of agri-environment schemes in conservation and environmental management. *Conservation Biology*, 29(4), 1006-1016. <https://doi.org/10.1111/cobi.12536>
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B. M., & Walker. (2015). Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48.
- Batista, M. C., Fonseca, M. C. M., Teodoro, A. V., Martins, E. F., Pallini, A., & Venzon, M. (2017). Basil (*Ocimum basilicum* L.) attracts and benefits the green lacewing *Ceraeochrysa cubana* Hagen. *Biological Control*, 110, 98-106. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.013>
- Baude, M., Kunin, W. E., Boatman, N. D., Conyers, S., Davies, N., Gillespie, M. A. K., Morton, R. D., Smart, S. M., & Memmott, J. (2016). Historical nectar assessment reveals the fall and rise of floral resources in Britain. *Nature*, 530(7588), 85-88. <https://doi.org/10.1038/nature16532>
- Bell, K. L., Burgess, K. S., Botsch, J. C., Dobbs, E. K., Read, T. D., & Brosi, B. J. (2019). Quantitative and qualitative assessment of pollen DNA metabarcoding using constructed species mixtures. *Molecular Ecology*, 28(2), 431-455. <https://doi.org/10.1111/mec.14840>

- Bell, K. L., de Vere, N., Keller, A., Richardson, R. T., Gous, A., Burgess, K. S., & Brosi, B. J. (2016). Pollen DNA barcoding : current applications and future prospects (M. Van der Bank, Éd.). *Genome*, 59(9), 629-640. <https://doi.org/10.1139/gen-2015-0200>
- Bell, K. L., Fowler, J., Burgess, K. S., Dobbs, E. K., Gruenewald, D., Lawley, B., Morozumi, C., & Brosi, B. J. (2017). Applying Pollen DNA Metabarcoding to the Study of Plant–Pollinator Interactions. *Applications in Plant Sciences*, 5(6), 1600124. <https://doi.org/10.3732/apps.1600124>
- Belz, E., Kölliker, M., & Balmer, O. (2013). Olfactory attractiveness of flowering plants to the parasitoid *Microplitis mediator* : potential implications for biological control. *BioControl*, 58(2), 163-173. <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9472-0>
- Benelli, G., Giunti, G., Tena, A., Desneux, N., Caselli, A., & Canale, A. (2017). The impact of adult diet on parasitoid reproductive performance. *Journal of Pest Science*, 90(3), 807-823. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0835-2>
- Bentrup, G., Hopwood, J., Adamson, N. L., & Vaughan, M. (2019). Temperate Agroforestry Systems and Insect Pollinators : A Review. *Forests*, 10(11), 981. <https://doi.org/10.3390/f10110981>
- Benzina, S., Harizia, A., Elouissi, A., Canelo, T., & Bonal, R. (2023). Effects of Winter Pruning Intensity on the Interactions between the Apple Tree and Rosy Apple Aphid *Dysaphis Plantaginea* (Hemiptera : Aphididae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 130, 1239-1250. <https://doi.org/10.1007/s41348-023-00789-7>
- Bernard, M., Rué, O., Mariadassou, M., & Pascal, G. (2021). FROGS : a powerful tool to analyse the diversity of fungi with special management of internal transcribed spacers. *Briefings in Bioinformatics*, 22(6), bbab318. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab318>
- Bertrand, C., Eckert, P. W., Ammann, L., Entling, M. H., Gobet, E., Herzog, F., Mestre, L., Tinner, W., & Albrecht, M. (2019). Seasonal shifts and complementary use of pollen sources by two bees, a lacewing and a ladybeetle species in European agricultural landscapes (L. Garibaldi, Éd.). *Journal of Applied Ecology*, 56(11), 2431-2442. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13483>
- Biella, P., Tommasi, N., Guzzetti, L., Pioltelli, E., Labra, M., & Galimberti, A. (2022). City climate and landscape structure shape pollinators, nectar and transported pollen along a gradient of urbanization. *Journal of Applied Ecology*, 59(6), 1586-1595. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14168>
- Bishop, G. A., Fijen, T. P., Desposato, B. N., Scheper, J., & Kleijn, D. (2023). Hedgerows have contrasting effects on pollinators and natural enemies and limited spillover effects on apple production. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 346, 108364. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2023.108364>
- Blaix, C., Moonen, A. C., Dostatny, D. F., Izquierdo, J., Le Corff, J., Morrison, J., Von Redwitz, C., Schumacher, M., & Westerman, P. R. (2018). Quantification of regulating ecosystem services provided by weeds in annual cropping systems using a systematic map approach (L. Rew, Éd.). *Weed Research*, 58(3), 151-164. <https://doi.org/10.1111/wre.12303>
- Blaix, C., & Moonen, A.-C. (2022). The influence of field margin characteristics on syrphid abundance. *Arthropod-Plant Interactions*. <https://doi.org/10.1007/s11829-022-09934-9>
- Blommers, L., Helsen, H., & Vaal, F. (2004). Life history data of the rosy apple aphid *Dysaphis plantaginea* (Pass.) (Homopt., Aphididae) on plantain and as migrant to apple. *Journal of Pest Science*, 77(3). <https://doi.org/10.1007/s10340-004-0046-5>
- Boetzel, F. A., Konle, A., & Krauss, J. (2020). Aphid cards – Useful model for assessing predation rates or bias prone nonsense? *Journal of Applied Entomology*, 144(1-2), 74-80. <https://doi.org/10.1111/jen.12692>
- Boetzel, F. A., Krauss, J., Heinze, J., Hoffmann, H., Juffa, J., König, S., Krimmer, E., Prante, M., Martin, E. A., Holzschuh, A., & Steffan-Dewenter, I. (2021). A multitaxa assessment of the effectiveness of agri-environmental schemes for biodiversity management. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(10), e2016038118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2016038118>
- Bohmann, K., Elbrecht, V., Carøe, C., Bista, I., Leese, F., Bunce, M., Yu, D. W., Seymour, M., Dumbrell, A. J., & Creer, S. (2022). Strategies for sample labelling and library preparation in DNA metabarcoding studies. *Molecular Ecology Resources*, 22(4), 1231-1246. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13512>
- Boivin, G. (2001). Parasitoïdes et lutte biologique : paradigme ou panacée? *Vertigo*, 2(2). <https://doi.org/10.4000/vertigo.4096>

- Boivin, G., & Brodeur, J. (2006). Intra- and Interspecific Interactions among Parasitoids : Mechanisms, Outcomes and Biological Control. In J. Brodeur & G. Boivin (Éd.), *Trophic and Guild in Biological Interactions Control* (p. 123-144, T. 3). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/1-4020-4767-3_6
- Boivin, G., Hance, T., & Brodeur, J. (2012). Aphid parasitoids in biological control. *Canadian Journal of Plant Science*, 92(1), 1-12. <https://doi.org/10.4141/cjps2011-045>
- Bone, N. J., Thomson, L. J., Ridland, P. M., Cole, P., & Hoffmann, A. A. (2009). Cover crops in Victorian apple orchards : Effects on production, natural enemies and pests across a season. *Crop Protection*, 28(8), 675-683. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.03.021>
- Borbély, C., & Nagy, C. (2022). Providing sugar sources for ants improves the biological control of Aphis spp. in apple orchards. *Biological Control*, 175, 105056. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105056>
- Bouvier, J.-C., Delattre, T., Boivin, T., Musseau, R., Thomas, C., & Lavigne, C. (2022). Great tits nesting in apple orchards preferentially forage in organic but not conventional orchards and in hedgerows. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 337, 108074. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108074>
- Brannan, T., Bickler, C., Hansson, H., Karley, A., Weih, M., & Manevska-Tasevska, G. (2023). Overcoming barriers to crop diversification uptake in Europe : A mini review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 7, 1107700. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1107700>
- Bretagnolle, V., & Gaba, S. (2015). Weeds for bees ? A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(3), 891-909. <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0302-5>
- Bribosia, E., Bylemans, D., Migon, M., & Impe, G. V. (2005). In-field production of parasitoids of Dysaphis plantaginea by using the rowan aphid Dysaphis sorbi as substitute host. *BioControl*, 50(4), 601-610. <https://doi.org/10.1007/s10526-004-5526-2>
- Brown, M. W., & Mathews, C. R. (2007). Conservation Biological Control of Rosy Apple Aphid, *Dysaphis plantaginea* (Passerini), in Eastern North America. *Environmental Entomology*, 36(5), 1131-1139. [https://doi.org/10.1603/0046-225X\(2007\)36\[1131:CBORA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0046-225X(2007)36[1131:CBORA]2.0.CO;2)
- Brühl, C. A., Bakanov, N., Köthe, S., Eichler, L., Sorg, M., Hörren, T., Mühlethaler, R., Meinel, G., & Lehmann, G. U. C. (2021). Direct pesticide exposure of insects in nature conservation areas in Germany. *Scientific Reports*, 11(1), 24144. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03366-w>
- Burgio, G., Marchesini, E., Reggiani, N., Montepaone, G., Schiatti, P., & Sommaggio, D. (2016). Habitat management of organic vineyard in Northern Italy : the role of cover plants management on arthropod functional biodiversity. *Bulletin of Entomological Research*, 106(6), 759-768. <https://doi.org/10.1017/S0007485316000493>
- Burnham, K. P., Anderson, D. R., & Burnham, K. P. (2002). *Model selection and multimodel inference : a practical information-theoretic approach* (2nd ed). Springer. OCLC : ocm48557578.
- Butault, J.-P., Dedryver, C.-A., Gary, C., Guichard, L., Jacquet, F., Meynard, J. M., Nicot, P., Pitrat, M., Reau, R., Sauphanor, B., Savini, I., & Volay, T. (2010). Synthèse du rapport d'étude Écophyto R&D : quelles voies pour réduire l'usage des pesticides ?, 93. <https://hal.science/hal-01172967>
- Cahenzli, F., Sigsgaard, L., Daniel, C., Herz, A., Jamar, L., Kelderer, M., Jacobsen, S. K., Kruczyńska, D., Matray, S., Porcel, M., Sekrecka, M., Świergiel, W., Tasin, M., Telfser, J., & Pfiffner, L. (2019). Perennial flower strips for pest control in organic apple orchards - A pan-European study. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 278, 43-53. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.03.011>
- Campbell, A., Biesmeijer, J. C., Varma, V., & Wäckers, F. L. (2012). Realising multiple ecosystem services based on the response of three beneficial insect groups to floral traits and trait diversity. *Basic and Applied Ecology*, 13(4), 363-370. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.04.003>
- Campbell, A., Wilby, A., Sutton, P., & Wäckers, F. (2017). Getting More Power from Your Flowers : Multi-Functional Flower Strips Enhance Pollinators and Pest Control Agents in Apple Orchards. *Insects*, 8(3), 101. <https://doi.org/10.3390/insects8030101>
- Charreyron, M., Poulet, L., Rocci, A., & Warlop, F. (2016). *Gestion Du Campagnol Provençal En Verger* (rapp. tech. N° 1, 1H).

- Clavijo McCormick, A., Gershenzon, J., & Unsicker, S. B. (2014). Little peaks with big effects : establishing the role of minor plant volatiles in plant-insect interactions : Minor plant volatiles. *Plant, Cell & Environment*, 37(8), 1836-1844. <https://doi.org/10.1111/pce.12357>
- Cockfield, S. D., Beers, E. H., Pike, K. S., & Graf, G. (2011). Biology of rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Homoptera : Aphididae), on its summer hosts in eastern Washington. *The Pan-Pacific Entomologist*, 87(4), 276-286. <https://doi.org/10.3956/2011-30.1>
- Conboy, N. J. A., McDaniel, T., Ormerod, A., George, D., Gatehouse, A. M. R., Wharton, E., Donohoe, P., Curtis, R., & Tosh, C. R. (2019). Companion planting with French marigolds protects tomato plants from glasshouse whiteflies through the emission of airborne limonene (N. Desneux, Éd.). *PLOS ONE*, 14(3), e0213071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213071>
- Cornille, A., Giraud, T., Smulders, M. J., Roldán-Ruiz, I., & Gladieux, P. (2014). The domestication and evolutionary ecology of apples. *Trends in Genetics*, 30(2), 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2013.10.002>
- Cross, J. V., Solomon, M. G., Babandriker, D., Blommers, L., Easterbrook, M. A., Jay, C. N., Jenser, G., Jolly, R. L., Kuhlmann, U., Lilley, R., Olivella, E., Toepfer, S., & Vidal, S. (1999). Biocontrol of Pests of Apples and Pears in Northern and Central Europe : 2. Parasitoids. *Biocontrol Science and Technology*, 9(3), 277-314. <https://doi.org/10.1080/09583159929569>
- Cullen, N., Xia, J., Wei, N., Kaczorowski, R., Arceo-Gómez, G., O'Neill, E., Hayes, R., & Ashman, T.-L. (2021). Diversity and composition of pollen loads carried by pollinators are primarily driven by insect traits, not floral community characteristics. *Oecologia*, 196(1), 131-143. <https://doi.org/10.1007/s00442-021-04911-0>
- Cusumano, A., Peri, E., & Colazza, S. (2016). Interspecific competition/facilitation among insect parasitoids. *Current Opinion in Insect Science*, 14, 12-16. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.11.006>
- Daane, K. M., Hogg, B. N., Wilson, H., & Yokota, G. Y. (2018). Native grass ground covers provide multiple ecosystem services in Californian vineyards (L. Souza, Éd.). *Journal of Applied Ecology*, 55(5), 2473-2483. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13145>
- Daelemans, R., Hulsmans, E., Laenen, E., Remy, S., Beliën, T., & Honnay, O. (2022). Direct and indirect effects of management and landscape on biological pest control and crop pest infestation in apple orchards. *Journal of Applied Ecology*, 1365-2664.14319. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14319>
- Dainese, M., Montecchiari, S., Sitzia, T., Sigura, M., & Marini, L. (2017). High cover of hedgerows in the landscape supports multiple ecosystem services in Mediterranean cereal fields (D. Kleijn, Éd.). *Journal of Applied Ecology*, 54(2), 380-388. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12747>
- Daniel, J. A., Ramaraju, K., Kumar, S. M., Jeyaprakash, P., & Chitra, N. (2018). A study on five sampling methods of parasitic hymenopterans in rice ecosystem. *Journal of Biological Control*, 32(3), 187-192. <https://doi.org/10.18311/jbc/2018/22104>
- Darling, J. A., Jerde, C. L., & Sepulveda, A. J. (2021). What do you mean by false positive? *Environmental DNA*, 3(5), 879-883. <https://doi.org/10.1002/edn3.194>
- De Cáceres, M., & Legendre, P. (2009). Associations between species and groups of sites : indices and statistical inference. *Ecology*, 90, 3566-3574. <https://doi.org/10.1890/08-1823.1>
- De Vere, N., Jones, L. E., Gilmore, T., Moscrop, J., Lowe, A., Smith, D., Hegarty, M. J., Creer, S., & Ford, C. R. (2017). Using DNA metabarcoding to investigate honey bee foraging reveals limited flower use despite high floral availability. *Scientific Reports*, 7(1), 42838. <https://doi.org/10.1038/srep42838>
- de Vere, N., Rich, T. C. G., Ford, C. R., Trinder, S. A., Long, C., Moore, C. W., Satterthwaite, D., Davies, H., Allainguillaume, J., Ronca, S., Tatarinova, T., Garbett, H., Walker, K., & Wilkinson, M. J. (2012). DNA Barcoding the Native Flowering Plants and Conifers of Wales (D. Steinke, Éd.). *PLoS ONE*, 7(6), e37945. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037945>
- Deagle, B. E., Thomas, A. C., McInnes, J. C., Clarke, L. J., Vesterinen, E. J., Clare, E. L., Kartzinel, T. R., & Eveson, J. P. (2019). Counting with DNA in metabarcoding studies : How should we convert sequence reads to dietary data? *Molecular Ecology*, 28(2), 391-406. <https://doi.org/10.1111/mec.14734>
- Deguet, M., & Wateau, K. (2008). *Le Puceron Cendre Du Pommier : Mieux Connaitre Sa Dynamique Pour Optimiser Le Raisonnement de La Lutte*. (rapp. tech.). FREDON Nord Pas-de-Calais.

- Deguine, J.-P., Atiama-Nurbel, T., Douraguia, E., & Rousse, P. (2011). The augmentorium, a tool for agroecological crop protection. Design, implementation and evaluation on farm conditions on Reunion Island. *Cahiers Agricultures*, 20(4), 261-265. <https://doi.org/10.1684/agr.2011.0488>
- Delvare, G. (1989). Ordre Des Hymenoptera (Hyménoptères). In *Les Insectes Du Monde - Biodiversité, Classification, Clés de Détermination Des Familles, Guides Pratiques*. (p. 617-712). Muséo.
- Denis, C., Riudavets, J., Gabarra, R., Molina, P., & Arnó, J. (2021). Selection of insectary plants for the conservation of biological control agents of aphids and thrips in fruit orchards. *Bulletin of Entomological Research*, 1-11. <https://doi.org/10.1017/S0007485321000183>
- Devetak, D., & Klokočovník, V. (2016). The feeding biology of adult lacewings (Neuroptera) : a review. *Trends in Entomology*, 12.
- Dewhurst, S. Y., Birkett, M. A., Fitzgerald, J. D., Stewart-Jones, A., Wadhams, L. J., Woodcock, C. M., Hardie, J., & Pickett, J. A. (2008). Dolichodial : A New Aphid Sex Pheromone Component ? *Journal of Chemical Ecology*, 34(12), 1575-1583. <https://doi.org/10.1007/s10886-008-9561-9>
- Díaz-Siefer, P., Olmos-Moya, N., Fontúrbel, F. E., Lavandero, B., Pozo, R. A., & Celis-Diez, J. L. (2022). Bird-mediated effects of pest control services on crop productivity : a global synthesis. *Journal of Pest Science*, 95(2), 567-576. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01438-4>
- Dib, H. (2010). *Rôle Des Ennemis Naturels Dans La Lutte Biologique Contre Le Puceron Cendré, Dysaphis Plantaginea Passerini (Hemiptera Aphididae) En Vergers de Pommiers* [thèse de doct., Université d'Avignon].
- Dib, H., Libourel, G., & Warlop, F. (2012). Entomological and functional role of floral strips in an organic apple orchard : Hymenopteran parasitoids as a case study. *Journal of Insect Conservation*, 16(2), 315-318. <https://doi.org/10.1007/s10841-012-9471-6>
- Dib, H., Siegwart, M., Delattre, T., Perrin, M., & Lavigne, C. (2020). Does combining Forficula auricularia L. (Dermaptera : Forficulidae) with Harmonia axyridis Pallas (Coleoptera : Coccinellidae) enhance predation of rosy apple aphid, Dysaphis plantaginea Passerini (Hemiptera : Aphididae) ? *Biological Control*, 151, 104394. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104394>
- Dib, H., Simon, S., Sauphanor, B., & Capowiez, Y. (2010). The role of natural enemies on the population dynamics of the rosy apple aphid, Dysaphis plantaginea Passerini (Hemiptera : Aphididae) in organic apple orchards in south-eastern France. *Biological Control*, 55(2), 97-109. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.07.005>
- Donkersley, P., Rhodes, G., Pickup, R. W., Jones, K. C., Power, E. F., Wright, G. A., & Wilson, K. (2017). Nutritional composition of honey bee food stores vary with floral composition. *Oecologia*, 185(4), 749-761. <https://doi.org/10.1007/s00442-017-3968-3>
- Dormann, C. F. (2011). How to be a specialist ? Quantifying specialisation in pollination networks. *Network Biology*, 1(1), 1-20.
- Doyle, T., Hawkes, W. L. S., Massy, R., Powney, G. D., Menz, M. H. M., & Wotton, K. R. (2020). Pollination by hoverflies in the Anthropocene. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 287(1927), 20200508. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0508>
- Drake, L. E., Cuff, J. P., Young, R. E., Marchbank, A., Chadwick, E. A., & Symondson, W. O. C. (2022). An assessment of minimum sequence copy thresholds for identifying and reducing the prevalence of artefacts in dietary metabarcoding data. *Methods in Ecology and Evolution*, 13(3), 694-710. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13780>
- Dudley, N., & Alexander, S. (2017). Agriculture and biodiversity : a review. *Biodiversity*, 18(2-3), 45-49. <https://doi.org/10.1080/14888386.2017.1351892>
- Dunn, L., Lequerica, M., Reid, C. R., & Latty, T. (2020). Dual ecosystem services of syrphid flies (Diptera : Syrphidae) : pollinators and biological control agents. *Pest Management Science*, 76(6), 1973-1979. <https://doi.org/10.1002/ps.5807>
- Ebeling, A., Rzanny, M., Lange, M., Eisenhauer, N., Hertzog, L. R., Meyer, S. T., & Weisser, W. W. (2018). Plant diversity induces shifts in the functional structure and diversity across trophic levels. *Oikos*, 127(208-219), 12.
- Ehler, L. E. (1998). Conservation Biological control : past, present, and future. *Conservation Biological Control*.

- Eilenberg, J., Hajek, A., & Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl*, 46(4), 387-400. <https://doi.org/10.1023/A:1014193329979>
- Elliott, B., Wilson, R., Shapcott, A., Keller, A., Newis, R., Cannizzaro, C., Burwell, C., Smith, T., Leonhardt, S. D., Kämper, W., & Wallace, H. M. (2021). Pollen diets and niche overlap of honey bees and native bees in protected areas. *Basic and Applied Ecology*, 50, 169-180. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2020.12.002>
- Elmiger, B. N., Finger, R., Ghazoul, J., & Schaub, S. (2023). Biodiversity indicators for result-based agri-environmental schemes – Current state and future prospects. *Agricultural Systems*, 204, 103538. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2022.103538>
- Elnahal, A. S. M., El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Desoky, E.-S. M., El-Tahan, A. M., Rady, M. M., AbuQamar, S. F., & El-Tarabily, K. A. (2022). The use of microbial inoculants for biological control, plant growth promotion, and sustainable agriculture : A review. *European Journal of Plant Pathology*, 162(4), 759-792. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02393-7>
- Ephy. (2023). Usages. https://ephy.anses.fr/recherche_avancee/usages
- Ephytia. (2023). Maladies et Ravageurs Du Pommier. Récupérée juillet 21, 2023, à partir de <http://ephytia.inra.fr/fr/C/20835/Pomme-Liste-des-maladies-et-des-ravageurs>
- Escudié, F., Auer, L., Bernard, M., Mariadassou, M., Cauquil, L., Vidal, K., Maman, S., Hernandez-Raquet, G., Combes, S., & Pascal, G. (2018). FROGS : Find, Rapidly, OTUs with Galaxy Solution (B. Berger, Éd.). *Bioinformatics*, 34(8), 1287-1294. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx791>
- Etienne, L. (2022). *Analyse Des Effets de La Structure Des Paysages et Des Pratiques Agricoles Sur Les Pressions de Bioagresseurs et Les Niveaux d'usage de Produits Phytosanitaires En Cultures Pérennes* [thèse de doct., Université d'Avignon].
- Etienne, L., Rusch, A., Lavigne, C., Fouillet, E., Delière, L., & Franck, P. (2023). Less field-level insecticides, but not fungicides, in small perennial crop fields and landscapes with woodlands and organic farming. *Agricultural Systems*, 204, 103553. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2022.103553>
- Eurostat. (2017). Agriculture, Forestry and Fishery Statistics. Agricultural Production Crops, Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Evans, D. M., & Kitson, J. J. (2020). Molecular ecology as a tool for understanding pollination and other plant–insect interactions. *Current Opinion in Insect Science*, 38, 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2020.01.005>
- Fang, Y., Li, S., Xu, Q., Wang, J., Yang, Y., Mi, Y., Jin, Z., Desneux, N., & Wang, S. (2022). Optimizing the Use of Basil as a Functional Plant for the Biological Control of Aphids by *Chrysopa pallens* (Neuroptera : Chrysopidae) in Greenhouses. *Insects*, 13(6), 552. <https://doi.org/10.3390/insects13060552>
- Fei, M., Gols, R., & Harvey, J. A. (2023). The Biology and Ecology of Parasitoid Wasps of Predatory Arthropods. *Annual Review of Entomology*, 68(1), 109-128. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120120-111607>
- Ferrais, L., Tougeron, K., Gardin, P., & Hance, T. (2022). Assessing the optimal frequency of early parasitoid releases in an apple orchard to control *Dysaphis plantaginea* : a proof-of-concept study. *Biological Agriculture & Horticulture*, 38(3), 189-201. <https://doi.org/10.1080/01448765.2022.2039294>
- Fiedler, A. K., & Landis, D. A. (2007). Plant Characteristics Associated with Natural Enemy Abundance at Michigan Native Plants. *Environmental Entomology*, 36(4), 878-886.
- Fiedler, A. K., Landis, D. A., & Wratten, S. D. (2008). Maximizing ecosystem services from conservation biological control : The role of habitat management. *Biological Control*, 45(2), 254-271. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.12.009>
- Fischer, C., & Wagner, C. (2016). Can agri-environmental schemes enhance non-target species ? Effects of sown wildflower fields on the common hamster (*Cricetus cricetus*) at local and landscape scales. *Biological Conservation*, 194, 168-175. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.12.021>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). FAOSTAT Statistical Database.
- Forbes, A. A., Bagley, R. K., Beer, M. A., Hippee, A. C., & Widmayer, H. A. (2018). Quantifying the unquantifiable : why Hymenoptera, not Coleoptera, is the most speciose animal order. *BMC Ecology*, 18(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s12898-018-0176-x>

- Foti, M. C., Rostás, M., Peri, E., Park, K. C., Slimani, T., Wratten, S. D., & Colazza, S. (2017). Chemical ecology meets conservation biological control : identifying plant volatiles as predictors of floral resource suitability for an egg parasitoid of stink bugs. *Journal of Pest Science*, 90(1), 299-310. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0758-3>
- Fountain, M. T. (2022). Impacts of Wildflower Interventions on Beneficial Insects in Fruit Crops : A Review. *Insects*, 13(3), 304. <https://doi.org/10.3390/insects13030304>
- Fowler, R. E., Rotheray, E. L., & Goulson, D. (2016). Floral abundance and resource quality influence pollinator choice (K. Schonrogge & M. Heard, Éd.). *Insect Conservation and Diversity*, 9(6), 481-494. <https://doi.org/10.1111/icad.12197>
- Frago, E. (2016). Interactions between parasitoids and higher order natural enemies : intraguild predation and hyperparasitoids. *Current Opinion in Insect Science*, 14, 81-86. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2016.02.005>
- Franck, P., Maalouly-Matar, M., & Olivares, J. (2017). Molecular Tools for the Detection and the Identification of Hymenoptera Parasitoids in Tortricid Fruit Pests. *International Journal of Molecular Sciences*, 16.
- Fried, G., Kazakou, E., & Gaba, S. (2012). Trajectories of weed communities explained by traits associated with species' response to management practices. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 158, 147-155. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.06.005>
- Fried, G., Villers, A., & Porcher, E. (2018). Assessing non-intended effects of farming practices on field margin vegetation with a functional approach. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 261, 33-44. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.03.021>
- Galliot, J.-N., Brunel, D., Bérard, A., Chauveau, A., Blanchetête, A., Lanore, L., & Farruggia, A. (2017). Investigating a flower-insect forager network in a mountain grassland community using pollen DNA barcoding. *Journal of Insect Conservation*, 21(5-6), 827-837. <https://doi.org/10.1007/s10841-017-0022-z>
- Ganser, D., Knop, E., & Albrecht, M. (2019). Sown wildflower strips as overwintering habitat for arthropods : Effective measure or ecological trap? *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 275, 123-131. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.02.010>
- Garbuzov, M., & Ratnieks, F. L. W. (2014). Quantifying variation among garden plants in attractiveness to bees and other flower-visiting insects (K. Thompson, Éd.). *Functional Ecology*, 28(2), 364-374. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12178>
- García, D., Miñarro, M., & Martínez-Sastre, R. (2018). Birds as suppliers of pest control in cider apple orchards : Avian biodiversity drivers and insectivory effect. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 254, 233-243. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.11.034>
- García, R. R., & Minarro, M. (2014). Role of floral resources in the conservation of pollinator communities in cider-apple orchards. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 183, 9. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2013.10.017>
- Gardarin, A. (2023). Aphid biological control in arable crops via flower strips : The predominant role of food resources over diversity effects. *Journal of Applied Ecology*, 60, 2118-2131. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14495>
- Gardarin, A., Pigot, J., & Valantin-Morison, M. (2021). The hump-shaped effect of plant functional diversity on the biological control of a multi-species pest community. *Scientific Reports*, 11(1), 21635. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01160-2>
- Gardarin, A., Plantegenest, M., Bischoff, A., & Valantin-Morison, M. (2018). Understanding plant–arthropod interactions in multitrophic communities to improve conservation biological control : useful traits and metrics. *Journal of Pest Science*, 91(3), 943-955. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-0958-0>
- Gayrard, P., Palvadeau, L., & Delval, P. (2018). Utiliser Un Augmentorium Contre Les Ravageurs. <https://ecophytopic.fr/leviers/protéger/utiliser-un-augmentorium-contre-les-ravageurs>
- Géneau, C. E., Wäckers, F. L., Luka, H., & Balmer, O. (2013). Effects of extrafloral and floral nectar of *Centaurea cyanus* on the parasitoid wasp *Microplitis mediator* : Olfactory attractiveness and parasitization rates. *Biological Control*, 66(1), 16-20. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.02.007>

- Gervais, A., Chagnon, M., & Fournier, V. (2018). Diversity and Pollen Loads of Flower Flies (Diptera : Syrphidae) in Cranberry Crops. *Annals of the Entomological Society of America*, 111(6), 326-334. <https://doi.org/10.1093/aesa/say027>
- Gibson, D. R., Rowe, L., Isaacs, R., & Landis, D. A. (2019). Screening Drought-Tolerant Native Plants for Attractiveness to Arthropod Natural Enemies in the U.S. Great Lakes Region (C. Ranger, Éd.). *Environmental Entomology*, nvz134. <https://doi.org/10.1093/ee/nvz134>
- Goelen, T., Baets, D., Kos, M., Paulussen, C., Lenaerts, M., Rediers, H., Wäckers, F., Jacquemyn, H., & Lievens, B. (2018). Gustatory response and longevity in *Aphidius* parasitoids and their hyperparasitoid *Dendrocerus aphidum*. *Journal of Pest Science*, 91(1), 351-360. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0907-3>
- Gojković, N., Francuski, L., Ludoški, J., & Milankov, V. (2020). DNA barcode assessment and population structure of aphidophagous hoverfly *Sphaerophoria scripta* : Implications for conservation biological control. *Ecology and Evolution*, 10(17), 9428-9443. <https://doi.org/10.1002/ece3.6631>
- Gomez, N. G., Sørensen, D. H., Shi Chua, P. Y., & Sigsgaard, L. (2022). Assessing flower-visiting arthropod diversity in apple orchards through environmental DNA flower metabarcoding and visual census. *Environmental DNA*, 5, 117-131. <https://doi.org/10.1101/2022.01.24.477478>
- Gomez-Polo, P., Alomar, O., Castane, C., Lundgren, J., Pinol, J., & Agusti, N. (2015). Molecular Assessment of Predation by Hoverflies (Diptera : Syrphidae) in Mediterranean Lettuce Crops. *Pest Management Science*, 71, 1219-1227.
- Gomez-Polo, P., Traugott, M., Alomar, O., Castañé, C., Rojo, S., & Agustí, N. (2014). Identification of the most common predatory hoverflies of Mediterranean vegetable crops and their parasitism using multiplex PCR. *Journal of Pest Science*, 87(2), 371-378. <https://doi.org/10.1007/s10340-013-0550-6>
- Gontijo, L. M. (2019). Engineering natural enemy shelters to enhance conservation biological control in field crops. *Biological Control*, 130, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.10.014>
- Gontijo, L. M., Beers, E. H., & Snyder, W. E. (2013). Flowers promote aphid suppression in apple orchards. *Biological Control*, 66(1), 8-15. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.03.007>
- Gontijo, L. M., Beers, E. H., & Snyder, W. E. (2015). Complementary suppression of aphids by predators and parasitoids. *Biological Control*, 90, 83-91. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.06.002>
- Gonzalez, D., Nave, A., Gonçalves, F., Nunes, F. M., Campos, M., & Torres, L. (2016). Higher longevity and fecundity of *Chrysoperla carnea*, a predator of olive pests, on some native flowering Mediterranean plants. *Agronomy for Sustainable Development*, 36(2), 30. <https://doi.org/10.1007/s13593-016-0369-7>
- González, E., Štrobl, M., Janšta, P., Hovorka, T., Kadlec, T., & Knapp, M. (2022). Artificial temporary non-crop habitats support parasitoids on arable land. *Biological Conservation*, 265, 109409. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2021.109409>
- González-Chang, M., Tiwari, S., Sharma, S., & Wratten, S. D. (2019). Habitat Management for Pest Management : Limitations and Prospects. *Annals of the Entomological Society of America*, 112(4), 302-317. <https://doi.org/10.1093/aesa/saz020>
- González-Chang, M., Wratten, S. D., Lefort, M.-C., & Boyer, S. (2016). Food webs and biological control : A review of molecular tools used to reveal trophic interactions in agricultural systems. *Food Webs*, 9, 4-11. <https://doi.org/10.1016/j.fooweb.2016.04.003>
- Goulet, H., Huber, J. T., & Canada (Éd.). (1993). *Hymenoptera of the world : an identification guide to families*. Centre for Land and Biological Resources Research.
- Grueber, C. E., Nakagawa, S., Laws, R. J., & Jamieson, I. G. (2011). Multimodel inference in ecology and evolution : challenges and solutions : Multimodel inference. *Journal of Evolutionary Biology*, 24(4), 699-711. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2010.02210.x>
- Haaland, C., Naisbit, R. E., & Bersier, L.-F. (2011). Sown wildflower strips for insect conservation : a review : Wildflower strips for insect conservation. *Insect Conservation and Diversity*, 4(1), 60-80. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4598.2010.00098.x>
- Hall, R. M., Penke, N., Kriechbaum, M., Kratschmer, S., Jung, V., Chollet, S., Guernion, M., Nicolai, A., Burel, F., Fertil, A., Lora, Á., Sánchez-Cuesta, R., Guzmán, G., Gómez, J., Popescu, D., Hoble, A., Bunea, C.-I., Zaller, J. G., & Winter, S. (2020). Vegetation management intensity

- and landscape diversity alter plant species richness, functional traits and community composition across European vineyards. *Agricultural Systems*, 177, 102706. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.102706>
- Hall, T., Ibis biosciences & Carlsbad. (2011). BioEdit : An Important Software for Molecular Biology. *GERF Bulletin of Biosciences*, 2(2), 60-61.
- Happe, A.-K., Alins, G., Blüthgen, N., Boreux, V., Bosch, J., García, D., Hambäck, P. A., Klein, A.-M., Martínez-Sastre, R., Miñarro, M., Müller, A.-K., Porcel, M., Rodrigo, A., Roquer-Beni, L., Samnegård, U., Tasin, M., & Mody, K. (2019). Predatory arthropods in apple orchards across Europe : Responses to agricultural management, adjacent habitat, landscape composition and country. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 273, 141-150. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.12.012>
- Hardy, A. (2019). *Techniques Alternatives Au Désherbage Chimique En Arboriculture Fruitière*. (Stage de Master 2.). <https://hal.inrae.fr/hal-02791702/document>
- Harrison, X. A. (2014). Using observation-level random effects to model overdispersion in count data in ecology and evolution. *PeerJ*, 2, e616. <https://doi.org/10.7717/peerj.616>
- Hartig, F. (2022). DHARMA : Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models. Rpackage Version 0.4.6. <https://doi.org/https://CRAN.R-project.org/package=DHARMA>
- Hatt, S., Uyttenbroeck, R., Lopes, T., Mouchon, P., Chen, J., Piqueray, J., Monty, A., & Francis, F. (2017). Do flower mixtures with high functional diversity enhance aphid predators in wildflower strips? *European Journal of Entomology*, 114, 66-76. <https://doi.org/10.14411/eje.2017.010>
- Hatt, S., & Döring, T. F. (2023). Designing pest suppressive agroecosystems : Principles for an integrative diversification science. *Journal of Cleaner Production*, 432, 139701. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.139701>
- Hatt, S., Uyttenbroeck, R., Lopes, T., Chen, J. L., Piqueray, J., Monty, A., & Francis, F. (2018). Effect of flower traits and hosts on the abundance of parasitoids in perennial multiple species wildflower strips sown within oilseed rape (*Brassica napus*) crops. *Arthropod-Plant Interactions*, 12(6), 787-797. <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9567-8>
- Hatt, S., Xu, Q., Francis, F., & Osawa, N. (2019). Aromatic plants of East Asia to enhance natural enemies towards biological control of insect pests. A review. *Entomologia Generalis*, 38(4), 275-315.
- He, X., Kiær, L. P., Jensen, P. M., & Sigsgaard, L. (2021). The effect of floral resources on predator longevity and fecundity : A systematic review and meta-analysis. *Biological Control*, 153, 104476. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104476>
- He, X., & Sigsgaard, L. (2019). A Floral Diet Increases the Longevity of the Coccinellid *Adalia bipunctata* but Does Not Allow Molting or Reproduction. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7, 6. <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00006>
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & deWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences*, 270(1512), 313-321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Heimpel, G. E. (2019). Linking parasitoid nectar feeding and dispersal in conservation biological control. *Biological Control*, 132, 36-41. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.01.012>
- Hernández, C. M., Andorno, A. V., & Botto, E. N. (2022). Biological traits of *Ascogaster quadridentata* an endoparasitoid of the codling moth. *Phytoparasitica*. <https://doi.org/10.1007/s12600-022-01007-0>
- Herz, A., Cahenzli, F., Penvern, S., Pfiffner, L., Tasin, M., & Sigsgaard, L. (2019). Managing Floral Resources in Apple Orchards for Pest Control : Ideas, Experiences and Future Directions. *Insects*, 10(8), 247. <https://doi.org/10.3390/insects10080247>
- Hicks, D. M., Ouvrard, P., Baldock, K. C. R., Baude, M., Goddard, M. A., Kunin, W. E., Mitschunas, N., Memmott, J., Morse, H., Nikolitsi, M., Osgathorpe, L. M., Potts, S. G., Robertson, K. M., Scott, A. V., Sinclair, F., Westbury, D. B., & Stone, G. N. (2016). Food for Pollinators : Quantifying the Nectar and Pollen Resources of Urban Flower Meadows (C. Li, Éd.). *PLOS ONE*, 11(6), e0158117. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158117>
- Hodge, I., Hauck, J., & Bonn, A. (2015). The alignment of agricultural and nature conservation policies in the European Union. *Conservation Biology*, 29(4), 996-1005. <https://doi.org/10.1111/cobi.12531>

- Hodgkiss, D., Brown, M. J. F., Fountain, M. T., & Clare, E. L. (2022). Detection rates of aphid DNA in the guts of larval hoverflies and potential links to the provision of floral resources. *Bulletin of Entomological Research*, 1-7. <https://doi.org/10.1017/S0007485321001115>
- Hogg, B. N. (2011). Attractiveness of common insectary and harvestable floral resources to beneficial insects. *Biological Control*, 10.
- Holt, K. A., & Bennett, K. D. (2014). Principles and methods for automated palynology. *New Phytologist*, 203(3), 735-742. <https://doi.org/10.1111/nph.12848>
- Horiuchi, Y., Ishii, C., Kamijo, T., & Tanaka, N. (2022). Generalist flower-visiting hoverflies as non-negligible actors in pollen transport network in a botanical garden : verification of a hoverfly pollen transport network using pollen DNA barcoding. *Arthropod-Plant Interactions*, 16(2), 171-181. <https://doi.org/10.1007/s11829-022-09896-y>
- Horton, D. R., Broers, D. A., Lewis, R. R., Granatstein, D., Zack, R. S., Unruh, T. R., Moldenke, A. R., & Brown, J. J. (2003). Effects of mowing frequency on densities of natural enemies in three Pacific Northwest pear orchards : *Effects of mowing on natural enemies in pear orchards*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 106(2), 135-145. <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.2003.00018.x>
- Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Biometrical Journal*, 50(3), 346-363.
- Huang, D., Sun, M., Han, M., Zhang, Z., Miao, Y., Zhang, J., & Yao, Y. (2020). Volatile organic compounds (VOCs) regulate the spatial distribution of Lepidoptera insects in an orchard ecosystem. *Biological Control*, 149, 104311. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104311>
- Jacobsen, S. K., Sørensen, H., & Sigsgaard, L. (2022). Perennial flower strips in apple orchards promote natural enemies in their proximity. *Crop Protection*, 156, 105962. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2022.105962>
- Jacquot, M., & Galiano, E. (2023). *Influences Des Plantes Couvre-Sols Sur Le Rang de Plantation d'un Verger de Pommier En Production*. (Rapport Technique d'expérimentation.). Grab.
- Jado, R. H., Araj, S.-E., Abu-Irmaileh, B., Shields, M. W., & Wratten, S. D. (2019). Floral resources to enhance the potential of the parasitoid *Aphidius colemani* for biological control of the aphid *Myzus persicae*. *Journal of Applied Entomology*, 143(1-2), 34-42. <https://doi.org/10.1111/jen.12556>
- Jamont, M., Dubois-Pot, C., & Jaloux, B. (2014). Nectar provisioning close to host patches increases parasitoid recruitment, retention and host parasitism. *Basic and Applied Ecology*, 15(2), 151-160. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2014.01.001>
- Jankowska, B., Poniedziałek, M., & Jędruszczak, E. (2009). Effect of intercropping white cabbage with French Marigold (*Tagetes patula nana* L.) and Pot Marigold (*Calendula officinalis* L.) on the colonization of plants by pest insects. *Folia Horticulturae*, 21(1), 95-103. <https://doi.org/10.2478/fhort-2013-0129>
- Janssen, A., Sabelis, M. W., Magalhães, S., Montserrat, M., & van der Hammen, T. (2007). Habitat structure affects intraguild predation. *Ecology*, 88(11), 2713-2719. <https://doi.org/10.1890/06-1408.1>
- Jeavons, E., Chevrier, O., Le Lann, C., Renault, D., Floch, M., Bourgeois, T., Bodiguel, R., Fontaine-Breton, T., & van Baaren, J. (2022). Exploitative competition for floral resources reduces sugar intake but differently impacts the foraging behaviour of two non-bee flower visitors. *Oikos*, e08576, 1-15. <https://doi.org/10.1111/oik.08576>
- Jeavons, E., van Baaren, J., & Le Lann, C. (2020). Resource partitioning among a pollinator guild : A case study of monospecific flower crops under high honeybee pressure. *Acta Oecologica*, 104, 103527. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2020.103527>
- Jehle, J. A., Schulze-Bopp, S., Undorf-Spahn, K., & Fritsch, E. (2017). Evidence for a Second Type of Resistance against *Cydia pomonella* Granulovirus in Field Populations of Codling Moths (J. L. Schottel, Éd.). *Applied and Environmental Microbiology*, 83(2), e02330-16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02330-16>
- Jervis, M. A., Kidd, N. A. C., & Walton, M. (1992). A review of methods for determining dietary range in adult parasitoids. *Entomophaga*, 37(4), 565-574. <https://doi.org/10.1007/BF02372326>

- Johnson, A. C., Liu, J., Reynolds, O., Furlong, M. J., Mo, J., Rizvi, S., & Gurr, G. M. (2021). Conservation biological control research is strongly uneven across trophic levels and economic measures. *Pest Management Science*, 77(5), 2165-2169. <https://doi.org/10.1002/ps.6162>
- Jönsson, K. A., Thomassen, E. E., Iova, B., Sam, K., & Thomsen, P. F. (2023). Using environmental DNA to investigate avian interactions with flowering plants. *Environmental DNA*, 5(3), 462-475. <https://doi.org/10.1002/edn3.393>
- Joseph, S., Harris-Shultz, K., & Jespersen, D. (2020). Evidence of Pollinators Foraging on Centipede-grass Inflorescences. *Insects*, 11(11), 795. <https://doi.org/10.3390/insects11110795>
- Joshi, N. K., Rajotte, E. G., Myers, C. T., Krawczyk, G., & Hull, L. A. (2015). Development of a Susceptibility Index of Apple Cultivars for Codling Moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera : Tortricidae) Oviposition. *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00992>
- Ju, D., Mota-Sanchez, D., Fuentes-Contreras, E., Zhang, Y.-L., Wang, X.-Q., & Yang, X.-Q. (2021). Insecticide resistance in the *Cydia pomonella* (L.) : Global status, mechanisms, and research directions. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 178, 104925. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104925>
- Judt, C., Korányi, D., Zaller, J. G., & Batáry, P. (2023). Floral resources and ground covers promote natural enemies but not pest insects in apple orchards : A global meta-analysis. *Science of The Total Environment*, 903, 166139. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166139>
- Julve, P. (2022). Baseflor. Index Botanique, Écologique et Chorologique de La Flore de France.
- Karamaouna, F., Kati, V., Volakakis, N., Varikou, K., Garantonakis, N., Economou, L., Birouraki, A., Markellou, E., Liberopoulou, S., & Edwards, M. (2019). Ground cover management with mixtures of flowering plants to enhance insect pollinators and natural enemies of pests in olive groves. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 274, 76-89. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.01.004>
- Karpiński, T. M. (2020). Essential Oils of Lamiaceae Family Plants as Antifungals. *Biomolecules*, 10(1), 103. <https://doi.org/10.3390/biom10010103>
- Kehrli, P., Lehmann, M., & Bacher, S. (2005). Mass-emergence devices : a biocontrol technique for conservation and augmentation of parasitoids. *Biological Control*, 32(2), 191-199. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.09.012>
- Kilian, I. C., Swenson, S. J., Mengual, X., Gemeinholzer, B., Hamm, A., Wägele, J. W., & Peters, R. S. (2023). More complex than you think : Taxonomic and temporal patterns of plant-pollinator networks of caraway (*Carum carvi* L.) *Molecular Ecology*, 32(13), 3702-3717. <https://doi.org/10.1111/mec.16943>
- Kim, K.-H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of The Total Environment*, 575, 525-535. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.009>
- Kirmer, A., Rydgren, K., & Tischew, S. (2018). Smart management is key for successful diversification of field margins in highly productive farmland. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 251, 88-98. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.09.028>
- Klecka, J., Hadrava, J., Biella, P., & Akter, A. (2018). Flower visitation by hoverflies (Diptera : Syrphidae) in a temperate plant-pollinator network. *PeerJ*, 6, e6025. <https://doi.org/10.7717/peerj.6025>
- Kleijn, D., & Verbeek, M. (2000). Factors affecting the species composition of arable field boundary vegetation. *Journal of Applied Ecology*, 37(2), 256-266. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2000.00486.x>
- Klotz, S., Kühn, I., & Durka, W. (2002). BIOLFLOR - Eine Datenbank Zu Biologisch-ökologischen Merkmalen Zur Flora von Deutschland. Schriftenreihe Für Vegetationskunde.
- Köhler, H.-R., & Triebkorn, R. (2013). Wildlife Ecotoxicology of Pesticides : Can We Track Effects to the Population Level and Beyond? *Science*, 341(6147), 759-765. <https://doi.org/10.1126/science.1237591>
- Koptur, S. (2005, juin). Nectar as fuel for plant protectors. In F. L. Wäckers, P. C. J. van Rijn & J. Bruin (Éd.), *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects* (1^{re} éd., p. 75-108). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511542220.004>

- Krimmer, E., Martin, E. A., Holzschuh, A., Krauss, J., & Steffan-Dewenter, I. (2022). Flower Fields and Pesticide Use Interactively Shape Pollen Beetle Infestation and Parasitism in Oilseed Rape Fields. *Journal of Applied Ecology*, 59(263-273). <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14051>
- Lacey, L. A., & Unruh, T. R. (2005). Biological control of codling moth (*Cydia pomonella*, Lepidoptera : Tortricidae) and its role in integrated pest management, with emphasis on entomopathogens. *Vedalia*, 12(1), 33-60.
- Laffon, L., Bischoff, A., Blaya, R., Lescourret, F., & Franck, P. (2024). Spontaneous Flowering Vegetation Favours Hoverflies and Parasitoid Wasps in Apple Orchards but Has Low Cascading Effects on Biological Pest Control. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 108766. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.agee.2023.108766>
- Lamb, P., Hunter, E., Pinnegar, J., Creer, S., Davies, R., & Taylor, M. (2019). How Quantitative Is Metabarcoding : A Meta-Analytical Approach. *Molecular Ecology*, 28, 420-430.
- Landis, D. A., Wratten, S. D., & Gurr, G. M. (2000). Habitat Management to Conserve Natural Enemies of Arthropod Pests in Agriculture. *Annual Review of Entomology*, 45(1), 175-201. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.175>
- Larsen, N., Minor, M., Cruickshank, R., & Robertson, A. (2014). Optimising methods for collecting Hymenoptera, including parasitoids and Halictidae bees, in New Zealand apple orchards. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(3), 375-381. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2014.03.004>
- Laubertie, E. A., Wratten, S. D., & Hemptinne, J.-L. (2012). The contribution of potential beneficial insectary plant species to adult hoverfly (Diptera : Syrphidae) fitness. *Biological Control*, 61(1), 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.12.010>
- Lebas, B., Adams, I., Al Rwahnih, M., Baeyen, S., Bilodeau, G. J., Blouin, A. G., Boonham, N., Candresse, T., Chandelier, A., De Jonghe, K., Fox, A., Gaafar, Y. Z., Gentit, P., Haegeman, A., & Massart, S. (2022). Facilitating the Adoption of High-Throughput Sequencing Technologies as a Plant Pest Diagnostic Test in Laboratories : A Step-by-Step Description. *EPPO Bulletin*, 52(394-418).
- Lefcheck, J. S. (2016). PIECEWISESEM : Piecewise structural equation modelling in R for ecology, evolution, and systematics (R. Freckleton, Éd.). *Methods in Ecology and Evolution*, 7(5), 573-579. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12512>
- Lefcheck, J. S. (2021). An Introduction to Structural Equation Modeling in R.
- Lefebvre, M., Franck, P., Olivares, J., Ricard, J.-M., Mandrin, J.-F., & Lavigne, C. (2017). Spider predation on rosy apple aphid in conventional, organic and insecticide-free orchards and its impact on aphid populations. *Biological Control*, 104, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.10.009>
- Lemétayer, S., Allier, F., Baude, M., Lois, G., Martin, G., & Porcher, E. (2023). La Diversité Des Espèces Nectarifères et Pollinifères Inventoriée.
- Lenaerts, M., Abid, L., Paulussen, C., Goelen, T., Wäckers, F., Jacquemyn, H., & Lievens, B. (2016). Adult Parasitoids of Honeydew-Producing Insects Prefer Honeydew Sugars to Cover their Energetic Needs. *Journal of Chemical Ecology*, 42(10), 1028-1036. <https://doi.org/10.1007/s10886-016-0764-1>
- Li, X., Yang, Y., Henry, R. J., Rossetto, M., Wang, Y., & Chen, S. (2015). Plant DNA barcoding : from gene to genome : Plant identification using DNA barcodes. *Biological Reviews*, 90(1), 157-166. <https://doi.org/10.1111/brev.12104>
- Llandres, A. L., De Mas, E., & Rodríguez-Gironés, M. A. (2012). Response of pollinators to the tradeoff between resource acquisition and predator avoidance. *Oikos*, 121(5), 687-696. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2011.19910.x>
- Lopes, T., Hatt, S., Xu, Q., Liu, Y., & Francis, F. (2016). Wheat (*Triticum Aestivum* L.)- Based Inter-cropping Systems for Biological Pest Control. *Pest Management Science*, 72(2193-2202). <https://doi.org/10.1002/ps.4332>
- López, M. D., Jordán, M. J., & Pascual-Villalobos, M. J. (2008). Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. *Journal of Stored Products Research*, 44(3), 273-278. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.02.005>
- Lövei, G. L., & Ferrante, M. (2017). A review of the sentinel prey method as a way of quantifying invertebrate predation under field conditions : Measuring predation pressure by sentinel prey. *Insect Science*, 24(4), 528-542. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12405>

- Lowe, A., Jones, L., Witter, L., Creer, S., & De Vere, N. (2022). Using DNA Metabarcoding to Identify Floral Visitation by Pollinators. *Diversity*, 14(4), 236. <https://doi.org/10.3390/d14040236>
- Lowe, A., Jones, L., Brennan, G., Creer, S., & Vere, N. (2022). Seasonal progression and differences in major floral resource use by bees and hoverflies in a diverse horticultural and agricultural landscape revealed by DNA metabarcoding. *Journal of Applied Ecology*, 1365-2664.14144. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14144>
- Lu, Z.-X., Zhu, P.-Y., Gurr, G. M., Zheng, X.-S., Read, D. M. Y., Heong, K.-L., Yang, Y.-J., & Xu, H.-X. (2014). Mechanisms for flowering plants to benefit arthropod natural enemies of insect pests : Prospects for enhanced use in agriculture : Flowering plants benefit natural enemies. *Insect Science*, 21(1), 1-12. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12000>
- LucasA, A., Bodger, O., Brosi, B. J., Ford, C. R., Forman, D. W., Greig, C., Hegarty, M., Neyland, P. J., & de Vere, N. (2018). Generalisation and specialisation in hoverfly (Syrphidae) grassland pollen transport networks revealed by DNA metabarcoding (N. Sanders, Éd.). *Journal of Animal Ecology*, 87(4), 1008-1021. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12828>
- LucasB, A., Bodger, O., Brosi, B. J., Ford, C. R., Forman, D. W., Greig, C., Hegarty, M., Jones, L., Neyland, P. J., & de Vere, N. (2018). Floral resource partitioning by individuals within generalised hoverfly pollination networks revealed by DNA metabarcoding. *Scientific Reports*, 8(1), 5133. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23103-0>
- Lundgren, J. G. (2009). Nutritional aspects of non-prey foods in the life histories of predaceous Coccinellidae. *Biological Control*, 51(2), 294-305. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.05.016>
- Lundin, O., Ward, K. L., & Williams, N. M. (2019). Identifying native plants for coordinated habitat management of arthropod pollinators, herbivores and natural enemies (J. Beggs, Éd.). *Journal of Applied Ecology*, 56(3), 665-676. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13304>
- Luquet, M., Peñalver-Cruz, A., Satour, P., Anton, S., Cortesero, A.-M., Lavandero, B., & Jaloux, B. (2021). Aphid honeydew may be the predominant sugar source for *Aphidius* parasitoids even in nectar-providing intercrops. *Biological Control*, 158, 104596. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104596>
- Maalouly, M., Franck, P., Bouvier, J.-C., Toubon, J.-F., & Lavigne, C. (2013). Codling moth parasitism is affected by semi-natural habitats and agricultural practices at orchard and landscape levels. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 169, 33-42. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.02.008>
- Maalouly, M., Franck, P., & Lavigne, C. (2015). Temporal dynamics of parasitoid assemblages parasitizing the codling moth. *Biological Control*, 82, 31-39. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.11.013>
- Macgregor, C. J., Kitson, J. J. N., Fox, R., Hahn, C., Lunt, D. H., Pocock, M. J. O., & Evans, D. M. (2019). Construction, validation, and application of nocturnal pollen transport networks in an agro-ecosystem : a comparison using light microscopy and DNA metabarcoding : Constructing nocturnal pollination networks. *Ecological Entomology*, 44(1), 17-29. <https://doi.org/10.1111/een.12674>
- Magni, P. A., Pérez-Bañón, C., Borriani, M., & Dadour, I. R. (2013). *Syrpita pipiens* (Diptera : Syrphidae), a new species associated with human cadavers. *Forensic Science International*, 231(1-3), e19-e23. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2013.05.023>
- Mahé, F., Rognes, T., Quince, C., De Vargas, C., & Dunthorn, M. (2015). Swarm v2 : highly-scalable and high-resolution amplicon clustering. *PeerJ*, 3, e1420. <https://doi.org/10.7717/peerj.1420>
- Mallinger, R. E., & Prasifka, J. R. (2017). Bee visitation rates to cultivated sunflowers increase with the amount and accessibility of nectar sugars. *Journal of Applied Entomology*, 141(7), 561-573. <https://doi.org/10.1111/jen.12375>
- Markó, V., Jenser, G., Mihályi, K., Hegyi, T., & Balázs, K. (2012). Flowers for better pest control? Effects of apple orchard groundcover management on mites (Acari), leafminers (Lepidoptera, Scitellidae), and fruit pests. *Biocontrol Science and Technology*, 22(1), 39-60. <https://doi.org/10.1080/09583157.2011.642337>
- Marliac, G., Simon, S., Mazzia, C., Penvern, S., Lescourret, F., & Capowiez, Y. (2015). Increased grass cover height in the alleys of apple orchards does not promote *Cydia pomonella* biocontrol. *BioControl*, 60(6), 805-815. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9687-y>
- Marshall, A. T., & Beers, E. H. (2023). Net enclosures disrupt codling moth dispersal not establishment. *Agricultural and Forest Entomology*, 25(1), 130-138. <https://doi.org/10.1111/afe.12537>

- Martínez-Sastre, R., Miñarro, M., & García, D. (2020). Animal biodiversity in cider apple orchards : Simultaneous environmental drivers and effects on insectivory and pollination. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 295, 106918. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106918>
- Martínez-Sastre, R., Peña, R., González-Ibáñez, A., García, D., & Miñarro, M. (2021). Top-down and bottom-up regulation of codling moth populations in cider apple orchards. *Crop Protection*, 143, 105545. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105545>
- Maslo, B., Mau, R. L., Kerwin, K., McDonough, R., McHale, E., & Foster, J. T. (2022). Bats provide a critical ecosystem service by consuming a large diversity of agricultural pest insects. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 324, 107722. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107722>
- Mateos-Fierro, Z., Fountain, M. T., Garratt, M. P., Ashbrook, K., & Westbury, D. B. (2021). Active management of wildflower strips in commercial sweet cherry orchards enhances natural enemies and pest regulation services. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 317, 107485. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107485>
- Mátray, S., & Herz, A. (2021). Do floral resources affect fitness of adult *Cydia pomonella* (Linnaeus 1758) (Lepidoptera : Tortricidae)? *Bulletin of Entomological Research*, 111(6), 726-732. <https://doi.org/10.1017/S0007485321000468>
- Mátray, S., & Herz, A. (2022). Flowering plants serve nutritional needs of *Ascogaster quadridentata* (Hymenoptera : Braconidae), a key parasitoid of codling moth. *Biological Control*, 104950. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.104950>
- McCravy, K. (2018). A Review of Sampling and Monitoring Methods for Beneficial Arthropods in Agroecosystems. *Insects*, 9(4), 170. <https://doi.org/10.3390/insects9040170>
- McKerchar, M., Potts, S., Fountain, M., Garratt, M., & Westbury, D. (2020). The potential for wildflower interventions to enhance natural enemies and pollinators in commercial apple orchards is limited by other management practices. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 301, 107034. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.107034>
- Meehan, T. D., Werling, B. P., Landis, D. A., & Gratton, C. (2011). Agricultural landscape simplification and insecticide use in the Midwestern United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(28), 11500-11505. <https://doi.org/10.1073/pnas.1100751108>
- Mei, Z., de Groot, G. A., Kleijn, D., Dimmers, W., van Gils, S., Lammertsma, D., van Kats, R., & Scheper, J. (2021). Flower availability drives effects of wildflower strips on ground-dwelling natural enemies and crop yield. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 319, 107570. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107570>
- Mercier, C. (2015). *Développements Méthodologiques Autour de l'analyse Des Données de Metabarcoding ADN* [thèse de doct., Université Grenoble Alpes].
- Meyer, S. T., Heuss, L., Feldhaar, H., Weisser, W. W., & Gossner, M. M. (2019). Land-use components, abundance of predatory arthropods, and vegetation height affect predation rates in grasslands. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 270–271, 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.10.015>
- Miall, J. H., Abram, P. K., Cappuccino, N., Bennett, A. M. R., Fernández-Triana, J. L., Gibson, G. A. P., & Mason, P. G. (2021). Addition of nectar sources affects a parasitoid community without improving pest suppression. *Journal of Pest Science*, 94(2), 335-347. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01274-y>
- Michalko, R., Pekár, S., & Entling, M. H. (2019). An updated perspective on spiders as generalist predators in biological control. *Oecologia*, 189(1), 21-36. <https://doi.org/10.1007/s00442-018-4313-1>
- Michelot-Antalik, A., Michel, N., Goulnik, J., Blanchetête, A., Delacroix, E., Faivre-Rampant, P., Fiorelli, J.-L., Galliot, J.-N., Genoud, D., Lanore, L., Le Clainche, I., Le Paslier, M. C., Novak, S., Odoux, J.-F., Brunel, D., & Farruggia, A. (2021). Comparison of grassland plant-pollinator networks on dairy farms in three contrasting French landscapes. *Acta Oecologica*, 112, 103763. <https://doi.org/10.1016/j.actao.2021.103763>
- Milla, L., Schmidt-Lebuhn, A., Bovill, J., & Encinas-Viso, F. (2022). Monitoring of honey bee floral resources with pollen DNA metabarcoding as a complementary tool to vegetation surveys. *Ecological Solutions and Evidence*, 3(1). <https://doi.org/10.1002/2688-8319.12120>
- Miller, K., Polaszek, A., & Evans, D. M. (2021). A dearth of data : fitting parasitoids into ecological networks. *Trends in Parasitology*, 37(10), 863-874. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2021.04.012>

- Miller, S., Hausmann, A., Hallwachs, W., & Janzen, D. H. (2016). Advancing taxonomy and bioinventories with DNA barcodes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 371(1702), 20150339. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0339>
- Mills, N. (2005). Selecting effective parasitoids for biological control introductions : Codling moth as a case study. *Biological Control*, 34(3), 274-282. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.02.012>
- Miñarro, M. (2012). Weed communities in apple orchards under organic and conventional fertilization and tree-row management. *Crop Protection*, 39, 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.04.002>
- Miñarro, M., Fernandez-Mata, G., & Medina, P. (2010). Role of Ants in Structuring the Aphid Community on Apple. *Ecological Entomology*, 35(206-215).
- Miñarro, M., Hemptinne, J.-L., & Dapena, E. (2005). Colonization of apple orchards by predators of *Dysaphis plantaginea* : sequential arrival, response to prey abundance and consequences for biological control. *BioControl*, 50(3), 403-414. <https://doi.org/10.1007/s10526-004-5527-1>
- Mockford, A., Westbury, D. B., Ashbrook, K., Urbaneja, A., & Tena, A. (2022). Structural heterogeneity of wildflower strips enhances fructose feeding in parasitoids. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 339, 108139. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108139>
- Moquet, L., Bacchetta, R., Laurent, E., & Jacquemart, A.-L. (2017). Spatial and temporal variations in floral resource availability affect bumblebee communities in heathlands. *Biodiversity and Conservation*, 26(3), 687-702. <https://doi.org/10.1007/s10531-016-1266-8>
- Morand, S. (2018). Advances and challenges in barcoding of microbes, parasites, and their vectors and reservoirs. *Parasitology*, 145(5), 537-542. <https://doi.org/10.1017/S0031182018000884>
- Mori, B. A., & Evenden, M. L. (2013). When mating disruption does not disrupt mating : fitness consequences of delayed mating in moths. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 146(1), 50-65. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2012.01309.x>
- Muru, D., Auguste, A., Fauvergue, X., Malausa, T., Ris, N., Thaon, M., Vercken, E., & Borowiec, N. (2018). Un Parasitoïde Exotique Pour Lutter Contre Le Carpocapse. *Phytoma*, 710.
- Nave, A., Gonçalves, F., Crespi, A., Campos, M., & Torres, L. (2016). Evaluation of native plant flower characteristics for conservation biological control of *Prays oleae*. *Bulletin of Entomological Research*, 106(2), 249-257. <https://doi.org/10.1017/S0007485315001091>
- Nepi, M., Grasso, D. A., & Mancuso, S. (2018). Nectar in Plant-Insect Mutualistic Relationships : From Food Reward to Partner Manipulation. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1063. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01063>
- Nichols, R. N., Holland, J. M., & Goulson, D. (2022). Can novel seed mixes provide a more diverse, abundant, earlier, and longer-lasting floral resource for bees than current mixes? *Basic and Applied Ecology*, 60, 34-47. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2022.02.002>
- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., & Hens, L. (2016). Chemical Pesticides and Human Health : The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. *Frontiers in Public Health*, 4. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2016.00148>
- Norris, R. F., & Kogan, M. (2000). Interactions between weeds, arthropod pests, and their natural enemies in managed ecosystems. *Weed Science*, 48(1), 94-158. [https://doi.org/10.1614/0043-1745\(2000\)048\[0094:IBWAPA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1614/0043-1745(2000)048[0094:IBWAPA]2.0.CO;2)
- Nyffeler, M., Olson, E. J., & Symondson, W. O. (2016). Plant-eating by spiders. *Journal of Arachnology*, 44(1), 15-27. <https://doi.org/10.1636/P15-45.1>
- Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M., & the UGENE team. (2012). Unipro UGENE : a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 28(8), 1166-1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
- Oksanen, J., Simpson, G. L., Blanchet, F. G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., Wagner, H., Barbour, M., Bedward, M., Bolker, B., Borcard, D., Carvalho, G., Chirico, M., De Caceres, M., Durand, S., ... Weedon, J. (2022). *vegan : Community Ecology Package* [R package version 2.6-4]. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Ollivier, M. (2020). *Lutte Biologique Par Introduction Contre Sonchus Oleraceus (Asteraceae) - Une Approche Intégrative Pour Questionner Le Processus d'invasion et Contribuer à La Sélection Des Agents de Lutte via l'analyse Des Réseaux Écologiques* [thèse de doct., Université de Montpellier].

- Ortiz-Martínez, S., Pierre, J.-S., van Baaren, J., Le Lann, C., Zepeda-Paulo, F., & Lavandero, B. (2019). Interspecific competition among aphid parasitoids : molecular approaches reveal preferential exploitation of parasitized hosts. *Scientific Reports*, 9(1), 19641. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56187-3>
- Ostaf, D. P., Mosseler, A., Johns, R. C., Javorek, S., Klymko, J., & Ascher, J. S. (2015). Willows (*Salix* spp.) as pollen and nectar sources for sustaining fruit and berry pollinating insects. *Canadian Journal of Plant Science*, 95(3), 505-516. <https://doi.org/10.4141/cjps-2014-339>
- Owashi, Y., & Hayashi, M. (2022). Aphid DNA detection by molecular gut content analysis in a natural enemy consuming honeydew. *Journal of Applied Entomology*, 146(8), 1036-1040. <https://doi.org/10.1111/jen.13041>
- Pardo, A., & Borges, P. A. (2020). Worldwide importance of insect pollination in apple orchards : A review. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 293, 106839. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.106839>
- Park, B., & Nieh, J. C. (2017). Seasonal trends in honey bee pollen foraging revealed through DNA barcoding of bee-collected pollen. *Insectes Sociaux*, 64(3), 425-437. <https://doi.org/10.1007/s00040-017-0565-8>
- Paula, D. P., Timbó, R. V., Togawa, R. C., Vogler, A. P., & Andow, D. A. (2023). Quantitative prey species detection in predator guts across multiple trophic levels by mapping unassembled shotgun reads. *Molecular Ecology Resources*, 23(1), 64-80. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13690>
- Perović, D. J., Gámez-Virués, S., Landis, D. A., Wäckers, F., Gurr, G. M., Wratten, S. D., You, M.-S., & Desneux, N. (2018). Managing biological control services through multi-trophic trait interactions : review and guidelines for implementation at local and landscape scales : Multi-trophic traits & multi-scale filters. *Biological Reviews*, 93(1), 306-321. <https://doi.org/10.1111/brv.12346>
- Perrin, M. (2022). *Gestion Du Carpocapse Du Pommier : Impact Du Changement Climatique Sur La Lutte Contre Cydia Pomonella Dans Les Vergers de Provence* [thèse de doct., Université d'Avignon].
- Peusens, G., Buntinx, L., & Gobin, B. (2006). Parasitisation of the parasitic wasp *Ephedrus persicae* (Frogatt) on the rosy apple aphid *Dysaphis plantaginea* (Passerini). *Communications en sciences agricoles et biologiques appliquées*, 71, 369-374.
- Pfiffner, L., Cahenzli, F., Steinemann, B., Jamar, L., Bjørn, M. C., Porcel, M., Tasin, M., Telfser, J., Kelderer, M., Lisek, J., & Sigsgaard, L. (2019). Design, implementation and management of perennial flower strips to promote functional agrobiodiversity in organic apple orchards : A pan-European study. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 278, 61-71. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.03.005>
- Pfister, S. C., Sutter, L., Albrecht, M., Marini, S., Schirmel, J., & Entling, M. (2017). Positive effects of local and landscape features on predatory flies in European agricultural landscapes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 239, 283-292. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.01.032>
- Pinheiro, L. A., Torres, L., Raimundo, J., & Santos, S. A. (2013). Effect of floral resources on longevity and nutrient levels of *Episyrphus balteatus* (Diptera : Syrphidae). *Biological Control*, 67(2), 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.07.010>
- Pinheiro, L. A., Torres, L. M., Raimundo, J., & Santos, S. A. P. (2015). Effects of pollen, sugars and honeydew on lifespan and nutrient levels of *Episyrphus balteatus*. *BioControl*, 60(1), 47-57. <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9621-8>
- Piper, A. M., Batovska, J., Cogan, N. O. I., Weiss, J., Cunningham, J. P., Rodoni, B. C., & Blacket, M. J. (2019). Prospects and challenges of implementing DNA metabarcoding for high-throughput insect surveillance. *GigaScience*, 8(8), giz092. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giz092>
- Piqueray, J., Gilliaux, V., Decruyenaere, V., Cornelis, J.-T., Uyttenbroeck, R., & Mahy, G. (2019). Management of Grassland-like Wildflower Strips Sown on Nutrient-rich Arable Soils : The Role of Grass Density and Mowing Regime. *Environmental Management*, 63(5), 647-657. <https://doi.org/10.1007/s00267-019-01153-y>
- Pisică, C., Diaconu, A., & Andriescu, I. (2000). The complex of parasitoids of the feeding larvae of *Cydia pomonella* L. (Lep. : Tortricidae). *Bulletin de la société entomologique suisse*, 73, 13-22. <https://doi.org/10.5169/SEALS-402769>
- Pohlert. (2023). PMCMRplus : Calculate Pairwise Multiple Comparisons of Mean Rank Sums Extended.

- Polaszek, A., & Vilhemsen, L. (2023). Biodiversity of hymenopteran parasitoids. *Current Opinion in Insect Science*, 101026. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2023.101026>
- Pollier, A., Guillomo, L., Tricault, Y., Plantegenest, M., & Bischoff, A. (2018). Effects of spontaneous field margin vegetation on the regulation of herbivores in two winter crops. *Basic and Applied Ecology*, 27, 71-82. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2018.02.004>
- Pollier, A., Tricault, Y., Plantegenest, M., & Bischoff, A. (2019). Sowing of margin strips rich in floral resources improves herbivore control in adjacent crop fields : Floral resources improve herbivore control. *Agricultural and Forest Entomology*, 21(1), 119-129. <https://doi.org/10.1111/afe.12318>
- Pornon, A., Andalo, C., Burrus, M., & Escaravage, N. (2017). DNA metabarcoding data unveils invisible pollination networks. *Scientific Reports*, 7(1), 16828. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16785-5>
- Potter, C., De Vere, N., Jones, L. E., Ford, C. R., Hegarty, M. J., Hodder, K. H., Diaz, A., & Franklin, E. L. (2019). Pollen metabarcoding reveals broad and species-specific resource use by urban bees. *PeerJ*, 7, e5999. <https://doi.org/10.7717/peerj.5999>
- Qubbaj, T., Reineke, A., & Zebitz, C. P. W. (2005). Molecular interactions between rosy apple aphids, *Dysaphis plantaginea*, and resistant and susceptible cultivars of its primary host *Malus domestica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115(1), 145-152. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2005.00255.x>
- Rader, R., Will, E., Westcott, D., Cunningham, S., & Howlett, B. (2011). Pollen Transport Differs among Bees and Flies in a Human-Modified Landscape. *Diversity and Distributions*, 17, 519-529.
- Rahat, S., Gurr, G. M., Wratten, S. D., Mo, J., & Neeson, R. (2005). Effect of plant nectars on adult longevity of the stinkbug parasitoid, *Trissolcus basal*. *International Journal of Pest Management*, 51(4), 321-324. <https://doi.org/10.1080/09670870500312778>
- Raskoti, B. B., & Ale, R. (2021). DNA barcoding of medicinal orchids in Asia. *Scientific Reports*, 11(1), 23651. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03025-0>
- Ratnadass, A., Fernandes, P., Avelino, J., & Habib, R. (2012). Plant species diversity for sustainable management of crop pests and diseases in agroecosystems : a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 273-303. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0022-4>
- Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. N. (2007). BOLD : The Barcode of Life Data System. *Molecular Ecology Notes*.
- Requier, F., Pérez-Méndez, N., Andersson, G. K., Blareau, E., Merle, I., & Garibaldi, L. A. (2023). Bee and non-bee pollinator importance for local food security. *Trends in Ecology & Evolution*, 38(2), 196-205. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2022.10.006>
- Resende, A. L. S., Souza, B., Ferreira, R. B., & Aguiar-Menezes, E. L. (2017). Flowers of Apiaceous species as sources of pollen for adults of *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera). *Biological Control*, 106, 40-44. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.12.007>
- Retallack, M., Thomson, L., & Keller, M. (2019). Predatory arthropods associated with potential native insectary plants for Australian vineyards. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 25(2), 233-242. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12383>
- Ricci, B., Franck, P., Bouvier, J.-C., Casado, D., & Lavigne, C. (2011). Effects of hedgerow characteristics on intra-orchard distribution of larval codling moth. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 140(3-4), 395-400. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2011.01.001>
- Robertson, C. (1929). Flowers and Insects : Lists of Visitors of Four Hundred and Fifty-Three Flowers. *Science Press Printing Company, Lancaster*.
- Rodríguez-Gasol, N., Alins, G., Veronesi, E. R., & Wratten, S. (2020). The ecology of predatory hoverflies as ecosystem-service providers in agricultural systems. *Biological Control*, 151, 104405. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104405>
- Rodríguez-Gasol, N., Avilla, J., Aparicio, Y., Arnó, J., Gabarra, R., Riudavets, J., Alegre, S., Lordan, J., & Alins, G. (2019). The Contribution of Surrounding Margins in the Promotion of Natural Enemies in Mediterranean Apple Orchards. *Insects*, 10(5), 148. <https://doi.org/10.3390/insects10050148>
- Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH : a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584. <https://doi.org/10.7717/peerj.2584>

- Root, R. B. (1973). Organization of a Plant-Arthropod Association in Simple and Diverse Habitats : The Fauna of Collards (Brassica Oleracea). *Ecological Monographs*, 43(1), 95-124. <https://doi.org/10.2307/1942161>
- Rossi, J., Gamba, U., Pinna, M., Spagnolo, S., Visentin, C., & Alma, A. (2006). Hoverflies in organic apple orchards in north-western Italy. *Bulletin of Insectology*, 59(2), 111-114.
- Rougerie, R., Smith, M. A., Fernandez-Triana, J., Lopez-Vaamonde, C., Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. (2011). Molecular analysis of parasitoid linkages (MAPL) : gut contents of adult parasitoid wasps reveal larval host : Molecular Analysis of Parasitoid Linkages. *Molecular Ecology*, 20(1), 179-186. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04918.x>
- Rousselin, A., Bevacqua, D., Vercambre, G., Sauge, M.-H., Lescourret, F., & Jordan, M.-O. (2018). Rosy apple aphid abundance on apple is shaped by vegetative growth and water status. *Crop Protection*, 105, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.11.001>
- Roy, R., Schmitt, A. J., Thomas, J. B., & Carter, C. J. (2017). Review : Nectar biology : From molecules to ecosystems. *Plant Science*, 262, 148-164. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.04.012>
- Russell, E. P. (1989). Enemies Hypothesis : A Review of the Effect of Vegetational Diversity on Predatory Insects and Parasitoids. *Environmental Entomology*, 18(4), 590-599. <https://doi.org/10.1093/ee/18.4.590>
- Russell, M. (2015). A meta-analysis of physiological and behavioral responses of parasitoid wasps to flowers of individual plant species. *Biological Control*, 82, 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.11.014>
- Saddhe, A. A., Jamdade, R. A., & Kumar, K. (2017). Evaluation of multilocus marker efficacy for delineating mangrove species of West Coast India (M. Prasad, Éd.). *PLOS ONE*, 12(8), e0183245. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183245>
- Sadeghi, H., & Gilbert, F. (2000). Aphid suitability and its relationship to oviposition preference in predatory hoverflies. *Journal of Animal Ecology*, 69(5), 771-784. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2000.00433.x>
- Saldanha, A. V., Gontijo, L. M., Carvalho, R. M., Vasconcelos, C. J., Corrêa, A. S., & Gandra, R. L. (2019). Companion planting enhances pest suppression despite reducing parasitoid emergence. *Basic and Applied Ecology*, 41, 45-55. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2019.10.002>
- Sánchez-Bayo, F., & Wyckhuys, K. A. (2019). Worldwide decline of the entomofauna : A review of its drivers. *Biological Conservation*, 232, 8-27. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020>
- Sandanayaka, W. R. M., Charles, J. G., Davis, V. A., Chhagan, A., Shaw, P. W., Cole, L. M., Colhoun, K., & Wallis, D. R. (2018). Mass rearing and release of *Mastrus ridens* (Hym : Ichneumonidae) a parasitoid for the biological control of codling moth *Cydia pomonella* . *New Zealand Entomologist*, 41(2), 37-45. <https://doi.org/10.1080/00779962.2018.1533067>
- Santos, L. A. O., Botelho Costa, M., Lavigne, C., Fernandes, O. A., Bischoff, A., & Franck, P. (2018). Influence of the margin vegetation on the conservation of aphid biological control in apple orchards. *Journal of Insect Conservation*, 22(3-4), 465-474. <https://doi.org/10.1007/s10841-018-0074-8>
- Saunders, M. E. (2018). Insect pollinators collect pollen from wind-pollinated plants : implications for pollination ecology and sustainable agriculture (L. Packer, Éd.). *Insect Conservation and Diversity*, 11(1), 13-31. <https://doi.org/10.1111/icad.12243>
- Saunders, M. E., & Luck, G. W. (2018). Interaction effects between local flower richness and distance to natural woodland on pest and beneficial insects in apple orchards : Local and landscape interaction effect on insects. *Agricultural and Forest Entomology*, 20(2), 279-287. <https://doi.org/10.1111/afe.12258>
- Sauphanor, B., Severac, G., Maugin, S., Toubon, J. F., & Capowiez, Y. (2012). Exclusion netting may alter reproduction of the codling moth (*Cydia pomonella*) and prevent associated fruit damage to apple orchards. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 145(2), 134-142. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2012.01320.x>
- Schirmel, J., Albrecht, M., Bauer, P.-M., Sutter, L., Pfister, S. C., & Entling, M. H. (2018). Landscape complexity promotes hoverflies across different types of semi-natural habitats in farmland (M. Pocock, Éd.). *Journal of Applied Ecology*, 55(4), 1747-1758. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13095>

- Schmied, H., Getrost, L., Diestelhorst, O., Maaßen, G., & Gerhard, L. (2022). Between perfect habitat and ecological trap : even wildflower strips mulched annually increase pollinating insect numbers in intensively used agricultural landscapes. *Journal of Insect Conservation*. <https://doi.org/10.1007/s10841-022-00383-6>
- Schmitt, A., Bisutti, I. L., Ladurner, E., Benuzzi, M., Sauphanor, B., Kienzle, J., Zingg, D., Undorf-Spahn, K., Fritsch, E., Huber, J., & Jehle, J. A. (2013). The occurrence and distribution of resistance of codling moth to *Cydia pomonella* granulovirus in Europe. *Journal of Applied Entomology*, 137(9), 641-649. <https://doi.org/10.1111/jen.12046>
- Seibold, S., Gossner, M. M., Simons, N. K., Blüthgen, N., Müller, J., Ambarlı, D., Ammer, C., Bauhus, J., Fischer, M., Habel, J. C., Linsenmair, K. E., Nauss, T., Penone, C., Prati, D., Schall, P., Schulze, E.-D., Vogt, J., Wöllauer, S., & Weisser, W. W. (2019). Arthropod decline in grasslands and forests is associated with landscape-level drivers. *Nature*, 574(7780), 671-674. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1684-3>
- Seree, L. (2022). Multifonctionnalité de systèmes de culture combinés à des bandes fleuries : Une approche interdisciplinaire pour relier la biodiversité et les services écosystémiques rendus. *Agronomie, Université Paris Saclay*, 366.
- Serée, L., Barbottin, A., Chiron, F., Valantin-Morison, M., & Gardarin, A. (2023). Within-field floral resources have the potential to increase parasitism rates in winter oilseed rape pests more than resources at field margins. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 344, 108288. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108288>
- Serée, L., Chiron, F., Valantin-Morison, M., Barbottin, A., & Gardarin, A. (2022). Flower strips, crop management and landscape composition effects on two aphid species and their natural enemies in faba bean. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 331, 107902. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.107902>
- Serrão, J. E., Plata-Rueda, A., Martínez, L. C., & Zanuncio, J. C. (2022). Side-effects of pesticides on non-target insects in agriculture : a mini-review. *The Science of Nature*, 109(2), 17. <https://doi.org/10.1007/s00114-022-01788-8>
- Shaw, M. R., & Huddleston, T. (1991). *Classification and biology of braconid wasps : Hymenoptera : Braconidae*. Royal Entomological Soc. of London.
- Shel'Deshova, G. G. (1967). Ecological Factors Determining Distribution of the Codling Moth, *Laspeyresia Pomonella* L. (Lepidoptera : Tortricidae), in Northern and Southern Hemispheres. *Entomological Review*, 46, 349-361.
- Shields, M. W., Johnson, A. C., Pandey, S., Cullen, R., González- Chang, M., Wratten, S. D., & Gurr, G. M. (2019). History, current situation and challenges for conservation biological control. *Biological Control*, 131, 25-35. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.12.010>
- Shipley, B. (2000). A New Inferential Test for Path Models Based on Directed Acyclic Graphs. *Structural Equation Modeling : A Multidisciplinary Journal*, 7(2), 206-218. https://doi.org/10.1207/S15328007SEM0702_4
- Sieglwart, M., Thibord, J.-B., Olivares, J., Hirn, C., Elias, J., Maugin, S., & Lavigne, C. (2017). Biochemical and Molecular Mechanisms Associated With the Resistance of the European Corn Borer (Lepidoptera : Crambidae) to Lambda-Cyhalothrin and First Monitoring Tool. *Journal of Economic Entomology*, tow267. <https://doi.org/10.1093/jee/tow267>
- Simon, S., Sauphanor, B., & Lauri, P.-E. (2007). Control of Fruit Tree Pests through Manipulation of Tree Architecture. *Pest Technology*, 1(1), 33-37.
- Sivinski, J., Wahl, D., Holler, T., Dobai, S. A., & Sivinski, R. (2011). Conserving natural enemies with flowering plants : Estimating floral attractiveness to parasitic Hymenoptera and attraction's relationship to flower and plant morphology. *Biological Control*, 58(3), 208-214. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.05.002>
- Smart, M. D., Cornman, R. S., Iwanowicz, D. D., McDermott-Kubeczko, M., Pettis, J. S., Spivak, M. S., & Otto, C. (2017). A Comparison of Honey Bee-Collected Pollen From Working Agricultural Lands Using Light Microscopy and ITS Metabarcoding. *Environmental Entomology*, nvw159. <https://doi.org/10.1093/ee/nvw159>

- Smith, B. M., Aebischer, N. J., Ewald, J., Moreby, S., Potter, C., & Holland, J. M. (2020). The Potential of Arable Weeds to Reverse Invertebrate Declines and Associated Ecosystem Services in Cereal Crops. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3, 118. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00118>
- Song, B., Liang, Y., Liu, S., Zhang, L., Tang, G., Ma, T., & Yao, Y. (2017). Behavioral Responses of *Aphis citricola* (Hemiptera : Aphididae) and Its Natural Enemy *Harmonia axyridis* (Coleoptera : Coccinellidae) to Non-Host Plant Volatiles. *Florida Entomologist*, 100(2), 411-421. <https://doi.org/10.1653/024.100.0202>
- Song, B., Tang, G., Sang, X., Zhang, J., Yao, Y., & Wiggins, N. (2013). Intercropping with aromatic plants hindered the occurrence of *Aphis citricola* in an apple orchard system by shifting predator-prey abundances. *Biocontrol Science and Technology*, 23(4), 381-395. <https://doi.org/10.1080/09583157.2013.763904>
- Souza, I. L., Tomazella, V. B., Santos, A. J. N., Moraes, T., & Silveira, L. C. P. (2019). Parasitoids diversity in organic Sweet Pepper (*Capsicum annuum*) associated with Basil (*Ocimum basilicum*) and Marigold (*Tagetes erecta*). *Brazilian Journal of Biology*, 79(4), 603-611. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.185417>
- Speight, M., & Sarthou, J.-P. (2017). StN Keys for the Identification of the European Species of Various Genera of Syrphidae 2017/Clés StN Pour La Détermination Des Espèces Européennes de Plusieurs Genres Des Syrphidae.
- Stewart-Jones, A., Dewhurst, S. Y., Durrant, L., Fitzgerald, J. D., Hardie, J., Hooper, A. M., Pickett, J. A., & Poppy, G. M. (2007). Structure, ratios and patterns of release in the sex pheromone of an aphid, *Dysaphis plantaginea*. *Journal of Experimental Biology*, 210(24), 4335-4344. <https://doi.org/10.1242/jeb.009944>
- Sullivan, T. P., Sullivan, D. S., & Granatstein, D. M. (2018). Influence of living mulches on vole populations and feeding damage to apple trees. *Crop Protection*, 108, 78-86. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.02.007>
- Symondson, W. O. C., Sunderland, K. D., & Greenstone, M. H. (2002). Can Generalist Predators be Effective Biocontrol Agents? *Annual Review of Entomology*, 47(1), 561-594. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145240>
- Tang, G. B., Song, B. Z., Zhao, L. L., Sang, X. S., Wan, H. H., Zhang, J., & Yao, Y. C. (2013). Repellent and attractive effects of herbs on insects in pear orchards intercropped with aromatic plants. *Agroforestry Systems*, 87(2), 273-285. <https://doi.org/10.1007/s10457-012-9544-2>
- Taylor, R. M., & Pfannenstiel, R. S. (2008). Nectar Feeding by Wandering Spiders on Cotton Plants. *Environmental Entomology*, 37(4).
- Tenhumberg, B. (1995). Syrphids as natural enemies of cereal aphids in Germany : Aspects of their biology and efficacy in different years and regions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 52(1), 39-43. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(94\)09007-T](https://doi.org/10.1016/0167-8809(94)09007-T)
- Tercel, M. P. T. G., Moorhouse-Gann, R. J., Cuff, J. P., Drake, L. E., Cole, N. C., Goder, M., Mootocurpen, R., & Symondson, W. O. C. (2022). DNA metabarcoding reveals introduced species predominate in the diet of a threatened endemic omnivore, Telfair's skink (*Leiopisma telfairii*). *Ecology and Evolution*, 12(1), e8484. <https://doi.org/10.1002/ece3.8484>
- Thomsen, P. F., & Sigsgaard, E. E. (2019). Environmental DNA metabarcoding of wild flowers reveals diverse communities of terrestrial arthropods. *Ecology and Evolution*, 9(4), 1665-1679. <https://doi.org/10.1002/ece3.4809>
- Tibi, A., Martinet, V., Vialatte, A., Alignier, A., Angeon, V., Bohan, D., Bougherara, D., Cordeau, S., Courtois, P., Deguine, J.-P., Enjalbert, J., Fabre, F., Fréville, H., Grateau, R., Grimonprez, B., Gross, N., Hannachi, M., Launay, M., Lelievre, V., ... Thoyer, S. S. (2022). Protéger les cultures en augmentant la diversité végétale des espaces agricoles. Synthèse de l'expertise scientifique collective. <https://doi.org/10.17180/AWSN-RF06>
- Timberlake, T. P., Vaughan, I. P., & Memmott, J. (2019). Phenology of farmland floral resources reveals seasonal gaps in nectar availability for bumblebees (F. Requier, Éd.). *Journal of Applied Ecology*, 56(7), 1585-1596. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13403>
- Togni, P. H., Venzon, M., Muniz, C. A., Martins, E. F., Pallini, A., & Sujii, E. R. (2016). Mechanisms underlying the innate attraction of an aphidophagous coccinellid to coriander plants : Implications

- for conservation biological control. *Biological Control*, 92, 77-84. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.10.002>
- Tommasi, N., Biella, P., Maggioni, D., Fallati, L., Agostinetto, G., Labra, M., Galli, P., & Galimberti, A. (2022). DNA metabarcoding unveils the effects of habitat fragmentation on pollinator diversity, plant-pollinator interactions, and pollination efficiency in Maldivian islands. *Molecular Ecology*, mec.16537. <https://doi.org/10.1111/mec.16537>
- Tommasi, N., Ferrari, A., Labra, M., Galimberti, A., & Biella, P. (2021). Harnessing the Power of Metabarcoding in the Ecological Interpretation of Plant-Pollinator DNA Data : Strategies and Consequences of Filtering Approaches. *Diversity*, 13(9), 437. <https://doi.org/10.3390/d13090437>
- Tooker, J. F., & Pearsons, K. A. (2021). Newer characters, same story : neonicotinoid insecticides disrupt food webs through direct and indirect effects. *Current Opinion in Insect Science*, 46, 50-56. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2021.02.013>
- Tougeron, K., Ferrais, L., Gardin, P., Lateur, M., & Hance, T. (2023). Flower strips increase the control of rosy apple aphids after parasitoid releases in an apple orchard. *Annals of Applied Biology*, 182(2), 245-256. <https://doi.org/10.1111/aab.12816>
- Traugott, M., Bell, J., Raso, L., Sint, D., & Symondson, W. (2012). Generalist predators disrupt parasitoid aphid control by direct and coincidental intraguild predation. *Bulletin of Entomological Research*, 102(2), 239-247. <https://doi.org/10.1017/S0007485311000551>
- Tscharntke, T., Karp, D. S., Chaplin-Kramer, R., Batáry, P., DeClerck, F., Gratton, C., Hunt, L., Ives, A., Jonsson, M., Larsen, A., Martin, E. A., Martínez-Salinas, A., Meehan, T. D., O'Rourke, M., Poveda, K., Rosenheim, J. A., Rusch, A., Schellhorn, N., Wanger, T. C., ... Zhang, W. (2016). When natural habitat fails to enhance biological pest control – Five hypotheses. *Biological Conservation*, 204, 449-458. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.10.001>
- Tschumi, M., Albrecht, M., Collatz, J., Dubsy, V., Entling, M. H., Najar-Rodriguez, A. J., & Jacot, K. (2016). Tailored flower strips promote natural enemy biodiversity and pest control in potato crops (D. Kleijn, Éd.). *Journal of Applied Ecology*, 53(4), 1169-1176. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12653>
- Tschumi, M., Albrecht, M., Entling, M. H., & Jacot, K. (2015). High effectiveness of tailored flower strips in reducing pests and crop plant damage. *Proceedings of the Royal Society B : Biological Sciences*, 282(1814), 20151369. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.1369>
- Turpeau, E., Hullé, M., & Chaubet, B. (2010). Dysaphis (Pomaphis) Plantaginea (Passerini, 1860) Puceron Cendré Du Pommier.
- Unruh, T. R., Miliczky, E. R., Horton, D. R., Thomsen-Archer, K., Rehfield-Ray, L., & Jones, V. P. (2016). Gut content analysis of arthropod predators of codling moth in Washington apple orchards. *Biological Control*, 102, 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.05.014>
- USDA-ARS, USA, Knight, A. L., Judd, G. J. R., Agriculture and Agri-food Canada, Canada, Gilligan, T., USDA-APHIS-PPQ, USA, Fuentes-Contreras, E., Universidad de Talca, Chile, Walker III, W. B., & Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden. (2019, septembre). Integrated management of tortricid pests of tree fruit. In *Burleigh Dodds Series in Agricultural Science* (p. 377-424). Burleigh Dodds Science Publishing. <https://doi.org/10.19103/AS.2019.0046.19>
- Uyttenbroeck, R., Hatt, S., Paul, A., Boeraeve, F., Piqueray, J., Francis, F., Danthine, S., Frederich, M., Dufrêne, M., Bodson, B., & Monty, A. (2016). Pros and cons of flowers strips for farmers. A review. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 12.
- van Rijn, P. C. J., & Wäckers, F. L. (2016). Nectar accessibility determines fitness, flower choice and abundance of hoverflies that provide natural pest control (M. Cadotte, Éd.). *Journal of Applied Ecology*, 53(3), 925-933. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12605>
- van Rijn, P. C., Kooijman, J., & Wäckers, F. L. (2013). The contribution of floral resources and honeydew to the performance of predatory hoverflies (Diptera : Syrphidae). *Biological Control*, 67(1), 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.06.014>
- Vaudo, A. D., Tooker, J. F., Grozinger, C. M., & Patch, H. M. (2015). Bee nutrition and floral resource restoration. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 133-141. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.05.008>

- Venables, W. N., & Ripley, B. D. (2002). *Modern Applied Statistics with S* (Fourth) [ISBN 0-387-95457-0]. Springer. <https://www.stats.ox.ac.uk/pub/MASS4/>
- Vialatte, A., Tsafack, N., Hassan, D. A., Duflot, R., Plantegenest, M., Ouin, A., Villenave-Chasset, J., & Ernault, A. (2017). Landscape potential for pollen provisioning for beneficial insects favours biological control in crop fields. *Landscape Ecology*, 32(3), 465-480. <https://doi.org/10.1007/s10980-016-0481-8>
- Villa, M., Santos, S. A., López-Sáez, J. A., Pinheiro, L., Marrão, R., Aguiar, C., & Pereira, J. A. (2021). Pollen feeding by syrphids varies across seasons in a Mediterranean landscape dominated by the olive orchard. *Biological Control*, 156, 104556. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104556>
- Villa-Galaviz, E., Smart, S. M., Clare, E. L., Ward, S. E., & Memmott, J. (2020). Differential effects of fertilisers on pollination and parasitoid interaction networks. *Journal of Animal Ecology*, 00, 1-11.
- Vollhardt, I. M., Ye, Z., Parth, N., Rubbmark, O., Fründ, J., & Traugott, M. (2019). Influence of plant fertilisation on cereal aphid-primary parasitoid-secondary parasitoid networks in simple and complex landscapes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 281, 47-55. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.04.030>
- Wäckers, F. L., & van Rijn, P. C. J. (2012, mai). Pick and Mix : Selecting Flowering Plants to Meet the Requirements of Target Biological Control Insects. In G. M. Gurr, S. D. Wratten, W. E. Snyder & D. M. Y. Read (Éd.), *Biodiversity and Insect Pests* (p. 139-165). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118231838.ch9>
- Wäckers, F. (2004). Assessing the suitability of flowering herbs as parasitoid food sources : flower attractiveness and nectar accessibility. *Biological Control*, 29(3), 307-314. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2003.08.005>
- Wagner, D. L., Grames, E. M., Forister, M. L., Berenbaum, M. R., & Stopak, D. (2020). Insect decline in the Anthropocene : Death by a thousand cuts. *Annual Review of Entomology*, 65, 10.
- Waldner, T., Sint, D., Juen, A., & Traugott, M. (2013). The effect of predator identity on post-feeding prey DNA detection success in soil-dwelling macro-invertebrates. *Soil Biology and Biochemistry*, 63, 116-123. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.03.030>
- Walker, F. M., Sanchez, D. E., Froehlich, E. M., Federman, E. L., Lyman, J. A., Owens, M., & Lear, K. (2022). Endangered Nectar-Feeding Bat Detected by Environmental DNA on Flowers. *Animals*, 12(22), 3075. <https://doi.org/10.3390/ani12223075>
- Wan, H. H., Song, B. Z., Tang, G. B., Zhang, J., & Yao, Y. C. (2015). What are the effects of aromatic plants and meteorological factors on *Pseudococcus comstocki* and its predators in pear orchards? *Agroforestry Systems*, 12.
- Ward, S., Umina, P. A., Parry, H., Balfour-Cunningham, A., Cheng, X., Heddle, T., Holloway, J. C., Langley, C., Severtson, D., Helden, M. V., & Hoffmann, A. A. (2022). Is what you see what you get? The relationship between field observed and laboratory observed aphid parasitism rates in canola fields. *Pest Management Science*, ps.7002. <https://doi.org/10.1002/ps.7002>
- Wardhaugh, C. W. (2015). How many species of arthropods visit flowers? *Arthropod-Plant Interactions*, 9(6), 547-565. <https://doi.org/10.1007/s11829-015-9398-4>
- Warzecha, D., Diekötter, T., Wolters, V., & Jauker, F. (2018). Attractiveness of wildflower mixtures for wild bees and hoverflies depends on some key plant species (R. Didham & P. Batáry, Éd.). *Insect Conservation and Diversity*, 11(1), 32-41. <https://doi.org/10.1111/icad.12264>
- Welch, K. D., & Harwood, J. D. (2014). Temporal dynamics of natural enemy-pest interactions in a changing environment. *Biological Control*, 75, 18-27. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.01.004>
- Wesche, K., Krause, B., Culmsee, H., & Leuschner, C. (2012). Fifty years of change in Central European grassland vegetation : Large losses in species richness and animal-pollinated plants. *Biological Conservation*, 150(1), 76-85. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.02.015>
- Wignall, V., Balfour, N. J., Gandy, S., & Ratnieks, F. L. W. (2023). Food for Flower-Visiting Insects : Appreciating Common Native Wild Flowering Plants. *People and Nature*, 5, 1072-1081.
- Wojciechowicz-Żytka, E., & Jankowska, B. (2017). Herbs as a source of nutrition for flower-visiting hoverflies (Diptera, Syrphidae). *Folia Horticulturae*, 29(2), 135-141. <https://doi.org/10.1515/fhort-2017-0013>

- Wojciechowicz-Żytka, E., & Wilk, E. (2023). Surrounding Semi-Natural Vegetation as a Source of Aphidophagous Syrphids (Diptera, Syrphidae) for Aphid Control in Apple Orchards. *Agriculture*, 13(5), 1040. <https://doi.org/10.3390/agriculture13051040>
- Wojcik, V. A., Morandin, L. A., Davies Adams, L., & Rourke, K. E. (2018). Floral Resource Competition Between Honey Bees and Wild Bees : Is There Clear Evidence and Can We Guide Management and Conservation ? *Environmental Entomology*, 47(4), 822-833. <https://doi.org/10.1093/ee/nvy077>
- Wolf, S., Romeis, J., & Collatz, J. (2018). Utilization of plant-derived food sources from annual flower strips by the invasive harlequin ladybird *Harmonia axyridis*. *Biological Control*, 122, 118-126. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.04.008>
- Wotton, K. R., Gao, B., Menz, M. H., Morris, R. K., Ball, S. G., Lim, K. S., Reynolds, D. R., Hu, G., & Chapman, J. W. (2019). Mass Seasonal Migrations of Hoverflies Provide Extensive Pollination and Crop Protection Services. *Current Biology*, 29(13), 2167-2173.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.05.036>
- Xie, Y., Tian, L., Han, X., & Yang, Y. (2021). Research Advances in Allelopathy of Volatile Organic Compounds (VOCs) of Plants. *Horticulturae*, 7(9), 278. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7090278>
- Xuan, J.-L., Liu, W.-X., Zhang, Y.-B., Cheng, X.-Q., Guo, J.-Y., & Wan, F.-H. (2018). Interactions between *Diglyphus isaea* and *Neochrysocharis formosa* (Hymenoptera : Eulophidae), two parasitoids of agromyzid leafminers. *Biological Control*, 126, 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.07.005>
- Yahia, E. M., Neven, L. G., & Jones, R. W. (2019). Postharvest Insects and Their Control. In *Postharvest Technology of Perishable Horticultural Commodities* (p. 529-562). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813276-0.00016-X>
- Yokoi, T., & Fujisaki, K. (2009). Hesitation behaviour of hoverflies *Sphaerophoria* spp. to avoid ambush by crab spiders. *Naturwissenschaften*, 96(2), 195-200. <https://doi.org/10.1007/s00114-008-0459-8>
- Zaviezo, T., & Muñoz, A. E. (2023). Conservation biological control of arthropod pests using native plants. *Current Opinion in Insect Science*, 101022. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2023.101022>
- Zemenick, A. T., Kula, R. R., Russo, L., & Tooker, J. (2019). A network approach reveals parasitoid wasps to be generalized nectar foragers. *Arthropod-Plant Interactions*, 13(2), 239-251. <https://doi.org/10.1007/s11829-018-9642-9>
- Zhang, X., Ouyang, F., Su, J., Li, Z., Yuan, Y., Sun, Y., Sarkar, S. C., Xiao, Y., & Ge, F. (2022). Intercropping flowering plants facilitate conservation, movement and biocontrol performance of predators in insecticide-free apple orchard. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 340, 108157. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108157>
- Zhou, Y., Zhang, H., Liu, D., Khashaveh, A., Li, Q., Wyckhuys, K. A. G., & Wu, K. (2023). Long-term insect censuses capture progressive loss of ecosystem functioning in East Asia. *Science Advances*, 9(5), eade9341. <https://doi.org/10.1126/sciadv.ade9341>
- Zucchetto, C. (2018). Implantation de mélanges floraux en bord de champ : activité-densité des communautés de syrphes et étude de l'accessibilité du nectar des espèces florales semées. *Sciences du Vivant [q-bio]*, 117.
- Zytnyska, S. E., Eicher, M., Fahle, R., & Weisser, W. W. (2021). Effect of flower identity and diversity on reducing aphid populations via natural enemy communities. *Ecology and Evolution*, 11(24), 18434-18445. <https://doi.org/10.1002/ece3.8432>



TABLE A.1 – Characteristics of the 18 apple orchards.

orchard ID	management	cultivar	area (ha)	distance from the edge (first transect)	distance between transects (m)	row management	dominant species in hedgerow
1	Organic	Gala	0.4	2	9	tillage	<i>Cupressus sp.</i>
2	Conventional	Golden	0.48	5	37	herbicide	<i>Cupressus sp.</i>
3	Conventional	Gala	2.8	7	35	tillage	<i>Cupressus sp.</i>
4	Conventional	Golden	1	11	11	herbicide	<i>Cupressus sp.</i>
5	Organic	Reine des reinette	0.51	1,5	15	tillage	<i>Cupressus sp.</i>
6	Conventional	Granny and Gala	1.2	5	24	herbicide	<i>Populus sp.</i>
7	Organic	Golden	1.94	3	46	tillage	<i>Populus sp.</i>
8	Conventional	Golden	0.28	3	15	herbicide	<i>Cupressus sp.</i>
9	Conventional	Early gold	0.5	2	23	herbicide	<i>Cupressus sp.</i>
10	Conventional	Akane	0.24	2	17	herbicide	<i>Cupressus sp.</i>
11	Organic	Golden and Gala	1.2	2	15	none	<i>Populus sp.</i>
12	Organic	Valstar	1.5	4	15	none	<i>Cupressus sp.</i>
13	Conventional	Pink Lady	0.8	3	27	none	<i>Cupressus sp.</i>
14	Conventional	Valstar	0.5	3	10	tillage	<i>Cupressus sp.</i>
15	Organic	Granny and Gala	4.44	3	28	none	<i>Cupressus sp.</i>
16	Organic	Early red one	NA	4	19	none	<i>Cupressus sp.</i>
17	Organic	Chantecler	1.61	4	15	tillage	<i>Populus sp.</i>
18	Organic	Chantecler	0.5	3	10	tillage	<i>Cupressus sp.</i>

TABLE A.2 – **Liste des 112 espèces végétales recensées dans le Chapitre 2 et traits floraux associés.** Les informations proviennent des bases de données BaseFlor et BiolFlor et de Baude et al., 2016.

Espèce	Floraison	Pollinisation	Couleur	Morphologie	Nectar	
<i>Allium porrum</i>	6	8	entomogame	flowers with totally hidden nectar	pink	NA
<i>Amaranthus retroflexus</i>	7	10	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Anagallis arvensis</i>	5	11	anemogame	pollen flower	blue	0
<i>Arabidopsis</i> sp.	NA	NA	anemogame	NA	white	NA
<i>Arenaria serpyllifolia</i>	5	7	entomogame	flowers with partly hidden nectar	white	NA
<i>Arrhenatherum elatius</i>	5	8	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Artemisia vulgaris</i>	7	9	anemogame	wind flowers occasionally visited by insect	yellow	NA
<i>Atriplex patula</i>	7	10	anemogame	wind flowers occasionally visited by insect	green	0.1
<i>Avena barbata</i>	5	7	anemogame	NA	green	NA
<i>Bellis perennis</i>	3	11	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	white and yellow	0.84
<i>Brachypodium phoenicoides</i>	5	7	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Brachypodium sylvaticum</i>	6	9	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Bromus catharticus</i>	5	7	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Bromus diandrus</i>	5	6	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Bromus hordeaceus</i>	5	6	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Bromus madritensis</i>	5	7	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Bromus rubens</i>	5	6	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Bromus squarrosus</i>	5	6	anemogame	wind flowers	green	NA

Suite à la page suivante

Table A.2 – Suite de la page précédente

Espèce	Floraison	Pollinisation	Couleur	Morphologie	Nectar	
<i>Bromus sterilis</i>	5	8	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Calystegia sepium</i>	NA	NA	entomogame	moth flowers	white	1800.78
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	3	12	entomogame	flowers with partly hidden nectar	white	0.39
<i>Cardamine hirsuta</i>	3	6	entomogame	flowers with partly hidden nectar	white	4.5
<i>Carduus pycnocephalus</i>	5	6	entomogame	NA	pink	NA
<i>Carex muricata</i>	4	8	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Carex</i> sp.	NA	NA	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Catapodium rigidum</i>	5	7	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Centaurea aspera</i>	6	9	entomogame	NA	pink	NA
<i>Cerastium fontanum</i>	3	10	entomogame	flowers with partly hidden nectar	white	26.93
<i>Cerastium glomeratum</i>	4	6	entomogame	flowers with partly hidden nectar	white	NA
<i>Chenopodium album</i>	6	10	anemogame	wind flowers occasionally visited by insect	green	NA
<i>Cirsium arvense</i>	7	9	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	pink	76.22
<i>Cirsium vulgare</i>	6	9	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	purple	8643.2
<i>Clematis vitalba</i>	6	8	entomogame	transition type pollen flowers - nasty flowers	white	149.73
<i>Convolvulus arvensis</i>	5	10	entomogame	flowers with totally hidden nectar	white	351.82
<i>Crataegus monogyna</i>	4	6	entomogame	transition type flowers with partly hidden nectar	white	102.47
<i>Crepis foetida</i>	5	8	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	NA
<i>Crepis sancta</i>	3	5	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	NA
<i>Crepis setosa</i>	6	8	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	NA

Suite à la page suivante

Table A.2 – Suite de la page précédente

Espèce	Floraison	Pollinisation	Couleur	Morphologie	Nectar	
<i>Crepis vesicaria</i>	5	6	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	NA
<i>Cynodon dactylon</i>	7	9	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Dactylis glomerata</i>	4	9	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Daucus carota</i>	5	10	entomogame	flowers with open nectar	white	7.35
<i>Diplotaxis erucoides</i>	4	6	entomogame	NA	white	NA
<i>Echinochloa</i> sp.	NA	NA	anemogame	NA	NA	NA
<i>Elytrigia repens</i>	6	8	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Epilobium tetragonum</i>	6	9	entomogame	flowers with totally hidden nectar	pink	20.6
<i>Equisetum arvense</i>			NA	NA	NA	NA
<i>Erigeron bonariensis</i>	7	9	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	white	NA
<i>Erigeron sumatrensis</i>	8	9	entomogame	NA	NA	NA
<i>Erodium ciconium</i>	4	7	entomogame	NA	pink	NA
<i>Euphorbia helioscopia</i>	4	11	entomogame	flowers with open nectar	green	NA
<i>Euphorbia maculata</i>	NA	NA	entomogame	flowers with open nectar	green	NA
<i>Euphorbia peplus</i>	1	12	entomogame	flowers with open nectar	green	NA
<i>Festuca arundinacea</i>	5	7	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Festuca pratensis</i>	5	7	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Galium aparine</i>	6	8	entomogame	flowers with open nectar	white	9.48
<i>Galium mollugo</i>	6	8	entomogame	flowers with open nectar	white	3.58
<i>Geranium dissectum</i>	5	8	entomogame	hymenoptere flowers	red	2.69

Suite à la page suivante

Table A.2 – Suite de la page précédente

Espèce	Floraison	Pollinisation	Couleur	Morphologie	Nectar	
<i>Geranium molle</i>	4	9	entomogame	flowers with totally hidden nectar	pink	20.55
<i>Geum urbanum</i>	5	9	entomogame	flowers with partly hidden nectar	yellow	29.8
<i>Hedera helix</i>	9	10	entomogame	flowers with open nectar	green	609.82
<i>Himantoglossum robertianum</i>	1	4	entomogame	NA	pink	NA
<i>Holcus lanatus</i>	5	8	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Hordeum murinum</i>	5	8	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Hordeum vulgare</i>	5	7	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Kickxia elatine</i>	6	10	entomogame	hymenoptere flowers	yellow	NA
<i>Lactuca serriola</i>	7	8	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	NA
<i>Lamium purpureum</i>	3	9	entomogame	hymenoptere flowers	purple	30.66
<i>Lepidium draba</i>	4	7	entomogame	flowers with partly hidden nectar	white	NA
<i>Lolium perenne</i>	5	10	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Lolium rigidum</i>	5	8	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Malva sylvestris</i>	6	9	entomogame	flowers with totally hidden nectar	purple	NA
<i>Medicago lupulina</i>	4	10	entomogame	hymenoptere flowers	yellow	1.63
<i>Medicago minima</i>	5	7	entomogame	hymenoptere flowers	yellow	NA
<i>Medicago sativa</i>	6	9	entomogame	hymenoptere flowers	various color	146.14
<i>Mercurialis annua</i>	4	11	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Oxalis corniculata</i>	4	10	entomogame	flowers with totally hidden nectar	yellow	NA
<i>Paspalum dilatatum</i>	7	10	anemogame	NA	green	NA

Suite à la page suivante

Table A.2 – Suite de la page précédente

Espèce	Floraison	Pollinisation	Couleur	Morphologie	Nectar	
<i>Phalaris arundinacea</i>	5	7	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Picris echiioides</i>	6	9	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	6.48
<i>Picris hieracioides</i>	6/7	8/9	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	NA
<i>Plantago lanceolata</i>	4	10	anemogame	wind flowers occasionally visited by insect	brown	NA
<i>Plantago major</i>	5	11	anemogame	wind flowers occasionally visited by insect	yellow	NA
<i>Poa annua</i>	1	12	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Poa pratensis</i>	5	8	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Poa trivialis</i>	4	7	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Polygonum aviculare</i>	5	11	entomogame	flowers with totally hidden nectar	pink	3.05
<i>Potentilla reptans</i>	6	10	entomogame	flowers with partly hidden nectar	yellow	30.85
<i>Rostraria cristata</i>	5	7	anemogame	NA	green	NA
<i>Rubia peregrina</i>	5	8	entomogame	NA	white	NA
<i>Rubus caesius</i>	6	7	entomogame	flowers with totally hidden nectar	white	NA
<i>Rubus fruticosus</i>	6	6	entomogame	flowers with totally hidden nectar	white	1892.83
<i>Rumex crispus</i>	7	9	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Rumex obtusifolius</i>	6	9	anemogame	wind flowers occasionally visited by insect	green	NA
<i>Rumex pulcher</i>	5	9	anemogame	wind flowers occasionally visited by insect	green	NA
<i>Senecio vulgaris</i>	1	12	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	0.19
<i>Silene latifolia</i>	5	7	entomogame	moth flowers	white	NA
<i>Sisymbrium irio</i>	4	7	entomogame	flowers with partly hidden nectar	yellow	NA

Suite à la page suivante

Table A.2 – Suite de la page précédente

Espèce	Floraison	Pollinisation	Couleur	Morphologie	Nectar	
<i>Sonchus asper</i>	6	10	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	0.13
<i>Sonchus oleraceus</i>	6	10	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	3.58
<i>Sorghum halepense</i>	7	9	anemogame	wind flowers	green	NA
<i>Stellaria media</i>	1	12	entomogame	flowers with partly hidden nectar	white	7.11
<i>Taraxacum officinale</i>	4	10	entomogame	flower associations with totally hidden nectar	yellow	22.57
<i>Torilis arvensis</i>	6	9	entomogame	flowers with open nectar	white	NA
<i>Torilis nodosa</i>	5	8	entomogame	flowers with open nectar	white	NA
<i>Trifolium pratense</i>	5	9	entomogame	bumble bee flowers	red	116.86
<i>Trifolium repens</i>	5	9	entomogame	bee flowers	white	48.97
<i>Verbena officinalis</i>	6	10	entomogame	hymenoptere flowers	violet	NA
<i>Veronica arvensis</i>	3	10	entomogame	flowers with totally hidden nectar	blue	NA
<i>Veronica persica</i>	3	10	entomogame	flowers with totally hidden nectar	blue	31.59
<i>Viburnum tinus</i>	2	6	entomogame	NA	white	NA
<i>Vicia sativa</i>	5	7	entomogame	hymenoptere flowers	blue	300.34

Summary

Aphidiphagous hoverflies and parasitoid wasps are involved in the regulation of two main apple pests, the rosy apple aphid (RAA) and the codling moth (CM). Once adult, they feed mainly on floral resources. Providing nectar and pollen may thus favour hoverflies and parasitoid wasps, and improve pest biological control. Here, we studied the contribution of flowering plant species to biological control services provided by hoverflies and parasitoid wasps in apple orchards. Botanical and entomological surveys were conducted in commercial and experimental orchards : floristic surveys, hoverfly and parasitoid sampling, and observations of apple pests and associated damages. Barcoding and metabarcoding were used to characterise the relationships between flowering plants and hoverflies or parasitoid wasps.

Only 6% of parasitoid wasps collected on flowering plants belonged to species involved in RAA regulation. Among the hoverflies collected on orchard vegetation, three genera were identified as major contributors to RAA regulation, as their larvae were also observed in RAA colonies. These three taxa accounted for 20% of the total adult hoverfly abundance. Other hoverfly taxa collected on flowering plants also predate apple aphids, but less consistently. Moreover, only the abundance of hoverflies observed on spontaneous vegetation had a significant effect on the infestation of RAA. Concerning parasitoid wasps, we observed a higher parasitism rate of CM and RAA on apple trees associated with some flowering plant species (i.e. *Veronica persica*, *Ocimum basilicum*). However, the higher parasitism rates did not translate into a reduction in the number of apple pests or apple damage. Preserving spontaneous vegetation or adding flowering infrastructures in apple orchards may promote parasitoid wasp and hoverfly abundances, but cascading effects on insect pest regulation and damage reduction remain low. Further studies are needed to better understand interactions between these two strategies and other crop management practices to promote sustainable apple pest regulation.

Résumé

Les syrphes aphidiphages et les hyménoptères parasitoïdes sont impliqués dans la régulation des ravageurs du pommier, notamment du puceron cendré et du carpocapse. Une fois adultes, ils s'alimentent principalement de ressources florales. Renforcer la fourniture en nectar et pollen devrait donc favoriser les syrphes et les parasitoïdes, et contribuer au contrôle biologique. L'objectif de cette thèse est de mieux comprendre la contribution des espèces végétales au service de régulation fourni par les syrphes aphidiphages et les hyménoptères parasitoïdes, en vergers de pommiers. Nos travaux s'appuient sur des relevés floristiques, des échantillonnages de syrphes et de parasitoïdes et des observations d'insectes ravageurs et de leurs dégâts, en vergers commerciaux et expérimentaux. Des analyses de barcoding et metabarcoding ont permis d'étudier plus finement les relations des syrphes et des parasitoïdes avec les plantes à fleurs.

Seulement 6 % des parasitoïdes collectés sur les plantes à fleurs en vergers appartiennent à des espèces impliquées dans la régulation du puceron cendré. Parmi les syrphes collectés sur la végétation des vergers, trois genres ont été identifiés comme des contributeurs principaux à la régulation du puceron cendré, car ils ont également été observés au stade larvaire dans des colonies, et représentaient 20% de l'abondance totale de syrphes collectés sur la flore des vergers. D'autres taxons de syrphes visitant la flore des vergers sont aussi susceptibles de prédater les pucerons du pommier, mais de façon moins constante. En conséquence, seule l'abondance des syrphes observés sur la végétation des vergers a un effet significatif sur l'infestation du puceron cendré. Concernant les parasitoïdes, nous avons observé une amélioration du taux de parasitisme du carpocapse et du puceron cendré en présence de certaines espèces végétales installées en pied d'arbre (i.e. *Veronica persica*, *Ocimum basilicum*), mais qui ne se traduit pas par une réduction du nombre d'insectes ravageurs ou des dégâts associés. Préserver la flore spontanée et intégrer des aménagements fleuris dans les vergers favorise donc les syrphes aphidiphages et les hyménoptères parasitoïdes. Cependant, les effets de cascade sur la régulation des insectes ravageurs et la réduction des dégâts sont limités, ce qui souligne la nécessité de combiner ces approches entre elles, et avec d'autres stratégies, pour assurer une protection durable des pommiers.