



**HAL**  
open science

## Vers la sélection de plantes de service pour une gestion agroécologique des pucerons en culture de melon

Thomas Costes

► **To cite this version:**

Thomas Costes. Vers la sélection de plantes de service pour une gestion agroécologique des pucerons en culture de melon. Sciences agricoles. 2013. dumas-00912366

**HAL Id: dumas-00912366**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00912366v1>**

Submitted on 2 Dec 2013

**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.



**AGROCAMPUS OUEST**  
**CFR Angers**  
2 rue André Le Nôtre  
F-49045 Angers cedex 01



**Unité de Recherches de  
Pathologie Végétale**  
Domaine St-Maurice  
BP 94  
F 84143 Montfavet cedex

**Unité de Recherche de  
Plantes et Systèmes de  
culture Horticoles**  
Domaine St Paul  
Site agroparc  
84914 AVIGNON  
CEDEX 9



**Institut National de la  
Recherche Agronomique**  
Centre Provence-Alpes-  
Côtes d'Azur

Mémoire de Fin d'Études

**Diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques,  
Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage**

Année universitaire : 2012 - 2013

Spécialité : Horticulture

Spécialisation ou option : Gestion Durable du Végétal

**Vers la sélection de plantes de service pour une gestion agroécologique des  
pucerons en culture de melon**

Par : Thomas COSTES

Volet à renseigner par l'enseignant responsable de l'option/spécialisation

ou son représentant  
Date : ..../.../... Signature  
Non

Bon pour dépôt (version définitive)

Autorisation de diffusion : Oui

**Devant le jury :**

Soutenu à Angers le : 19/09/2013

Sous la présidence de : Jean-Charles MICHEL

Maîtres de stage : Alexandra SCHOENY, Hélène GAUTIER et Laurent GOMEZ

Enseignant référent : Josiane LE CORFF

Autres membres du jury :

Pauline LE GUIGO - Arvalis

Alain FERRÉ - Astredhor

"Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent  
que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST".



## Fiche de confidentialité et de diffusion du mémoire

### Cadre lié à la confidentialité :

Aucune confidentialité ne sera prise en compte si la durée n'en est pas précisée.

#### Préciser les limites de la confidentialité <sup>(2)</sup> :

➤ Confidentialité absolue :  oui  non  
(ni consultation, ni prêt)

➤ Si oui  1 an  5 ans  10 ans

#### Le maître de stage <sup>(4)</sup>,

### Cadre lié à la diffusion du mémoire :

A l'issue de la période de confidentialité et/ou si le mémoire est validé diffusable sur la page de couverture, il sera diffusé sur les bases de données documentaires nationales et internationales selon les règles définies ci-dessous :

Diffusion de la version numérique **du mémoire** :  oui  non

Référence bibliographique diffusable <sup>(3)</sup> :  oui  non

Résumé diffusable :  oui  non

Mémoire papier consultable sur place :  oui  non

Reproduction autorisée du mémoire :  oui  non

Prêt autorisé du mémoire papier :  oui  non

.....  
Diffusion de la version numérique **du résumé** :  oui  non

☞ Si oui, l'auteur <sup>(1)</sup> complète l'autorisation suivante :

*Je soussigné(e) COSTES Thomas, propriétaire des droits de reproduction dudit résumé, autorise toutes les sources bibliographiques à le signaler et le publier.*

Date :

Signature :

Angers, le 19 septembre 2013

L'auteur <sup>(1)</sup>,

L'enseignant référent  
ou son représentant

(1) auteur = étudiant qui réalise son mémoire de fin d'études

(2) L'administration, les enseignants et les différents services de documentation d'AGROCAMPUS OUEST s'engagent à respecter cette confidentialité.

(3) La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé.

(4) Signature et cachet de l'organisme



# Remerciements

---

Merci à mes encadrants Alexandra SCHOENY, Hélène GAUTIER et Laurent GOMEZ pour leur aide patiente, leurs conseils et regards critiques, me permettant de faire de ce stage une expérience formatrice, riche et diversifiée.

Merci chaleureux à Jonathan GAUDIN qui a collaboré à cette mission en apportant son aide précieuse, ses conseils, son soutien et sa bonne humeur.

Merci à Josiane LE CORFF, ma tutrice d'Agrocampus Ouest pour sa réactivité face à mes sollicitations.

Merci à Refka BEN-ISSA pour sa contribution.

Merci à Elsa ROUSSEAU et Baptiste LEDERE qui ont toujours répondu à mes questions et pour leurs talents culinaires.

Merci à Isabelle BORNARD qui m'a permis de découvrir la microscopie électronique à transmission et pour son dynamisme dans l'animation de l'équipe de volleyball.

Merci à Nathalie TRUGLIO, Michèle PIOCH-LEPLAT et Joël BERAUD pour leur assistance en serre.

Merci à Benoit MOURY, Frédéric FABRE et tout le personnel de l'unité de PV avec qui j'ai pris grand plaisir à échanger.

Merci à Laure, ma voisine de bureau, elle aussi proche des pucerons et à Arnaud, stagiaire en statistique, pour ses tuyaux sur R.

Merci à Juliette GOUSSOPOULOS pour son assistance, ses explications et sa jovialité.

Merci à toute l'équipe de l'insectarium pour son aide et avis pertinents, ainsi que pour ses invitations aux pauses café.

Merci à Joseph FABRE pour son omniprésence dans l'annexe des serres.

Merci à tous ceux qui, en croisant mon chemin, m'ont offert leurs qualités professionnelles et humaines lors de ce séjour de six mois au sein des unités de PV et PSH de l'INRA PACA.

Ce stage a bénéficié d'un financement du MAAF via le projet CASDAR intitulé « Gestion agro-écologique du puceron *Aphis gossypi* et du thrips *Thrips tabaci* en culture de melon ou de poireau – AGATH ».



# Table des matières

---

<b>I. Introduction</b> .....	<b>1</b>
I.1. Les bioagresseurs du melon.....	1
I.2. La lutte contre le puceron .....	3
I.3. L'agroécologie.....	4
I.4. Le projet Agath.....	5
I.5. La recherche et l'acceptation d'une plante hôte .....	5
I.6. Mécanismes ciblés .....	6
I.7. Effets non-intentionnels.....	8
I.8. Objectifs de l'étude.....	8
<b>II. Matériels et méthodes</b> .....	<b>9</b>
II.1. Matériel animal.....	9
II.2. Matériel végétal .....	9
II.3. Matériel viral .....	11
II.4. Analyses statistiques.....	11
II.5. Tests d'olfactométrie .....	11
II.6. Tests d'acceptation d'hôte et potentiel biotique .....	16
II.7. Test de transmission des principaux virus .....	17
<b>III. Résultats</b> .....	<b>20</b>
III.1. Olfactométrie : test à choix binomial.....	20
III.2. Test d'acceptation et mesure du potentiel biotique.....	27
III.3. Acceptation des principaux virus.....	31
<b>IV. Conclusion et perspectives</b> .....	<b>33</b>
Liste des références bibliographiques .....	35
Sitographie .....	40
Annexes .....	42



## Liste des abréviations

MAAF : Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt

DRAAF : Direction Régionale de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt

Ac : *Aphis craccivora*

Ag : *Aphis gossypii*

Mp : *Myzus persicae*

Unité PV : Unité de Pathologie Végétale de l'INRA PACA

Unité PSH : Unité de Plantes et Systèmes de culture Horticoles de l'INRA PACA

Unité GAFL : Unité de Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes de l'INRA PACA

Unité BGPI : Unité de Biologie et Génétique des Interactions Plante-parasite de l'INRA de Montpellier



# I. Introduction

La culture du melon remonterait à près de 4000 ans avant notre ère où elle était présente dans la région méditerranéenne et en Asie même si des incertitudes taxonomiques règnent. Le melon serait pleinement entré dans la gastronomie grâce aux Romains et aurait fait son chemin jusqu'en France probablement après son introduction en Espagne par les Arabes. Ce qui est certain, c'est qu'il connaît un franc succès à partir de la Renaissance (Maynard & Maynard, 1997 ; Lecoq et al., 2012 ; Loebenstein & Lecoq, 2012). De nos jours, la culture du melon représente en France 14 500 hectares pour une production de 270 000 tonnes par an (Agreste, 2013). L'activité maraîchère de ce légume de la famille des Cucurbitacées se concentre autour de trois grands bassins : Centre-Ouest, Sud-Ouest et Sud-Est. En France, pour répondre aux importants besoins en lumière et en température (SAID AGRI, 2013), la quasi-totalité des surfaces est cultivée en plein champ ou sous abri bas.

## I.1. Les bioagresseurs du melon

Malgré des siècles, voire des millénaires de sélection, la culture du melon reste, comme beaucoup d'autres cultures, victime d'une pression en bioagresseurs importante (Tableau 1). Ainsi, les maladies aériennes les plus fréquemment constatées sont l'oïdium et les virus. Plus récemment, des maladies telluriques sont en recrudescence notamment avec la fusariose (Brachet, 2011). En ce qui concerne les ravageurs, les pucerons et les acariens arrivent au premier rang, suivis par le thrips (Guerineau & Aubert, 1998).

Tableau 1. Principaux ravageurs et maladies sur melon sous abri et de plein champ (Guerineau & Aubert, 1998)

Bioagresseurs	Sous abri	Plein champ
<b>Ravageurs aériens</b>		
Pucerons	++	++
Acariens	+++	+
Thrips	++	+
Aleurodes - Mineuses	+	+
<b>Ravageurs du sol</b>		
Nématodes	++	+
<b>Maladies aériennes</b>		
Oïdium	+++	+++
Anthracnose	}	+++
Cladosporiose		
Mildiou	}	++
Botrytis		
Sclérotinia		
Rhizoctonia	++	++
Verticilliose	+	++
Virus (CMV, ZYMV, WMV, CABYV)	++	+++
<b>Maladies du sol</b>		
Pythium	+	+
Fusariose	++	++

Le puceron est considéré comme le principal ravageur mondial des cultures et autres espaces végétalisés (Emden & Harrington, 2007) et se place comme le principal problème en culture du melon. Les dégâts directs qu'il provoque sont liés à son mode d'alimentation. En effet, comme tous les Homoptères, ce membre de la famille des *Aphididae* est un piqueur-suceur qui se nourrit de la sève élaborée issue du phloème de ses hôtes (Chinery, 2005). Ses piqûres peuvent provoquer des lésions chlorotiques mais engendrent surtout une réduction de la croissance des jeunes pousses voire de la plante, ainsi que des crispations et des enroulements du feuillage liés à sa salive toxique (Brachet, 2011 ; Lecoq et al., 2012). Par ailleurs, la présence de ce nuisible engendre d'importants dégâts indirects. Le miellat excrété par celui-ci sert de substrat à des champignons saprophytes<sup>1</sup>, les fumagine, qui se développent sur les feuilles, limitent la photosynthèse de la plante et vont jusqu'à l'étouffer (Leroy et al., 2009). Enfin, les autres types de dégâts indirects sont le résultat des virus transmis par le puceron.

Loebenstein et Lecoq (2012) décrivent en détails les quatre virus les plus fréquents sur melon dans tout le bassin méditerranéen dont le puceron est le vecteur privilégié.

Le *Cucumber mosaic virus* (CMV) est un *Cucumovirus* de la famille des *Bromoviridae*. Il possède un génome divisé constitué de trois ARN simple brin de polarité positive. Ses particules virales sont sphériques (environ 29 nm de diamètre) et composées de 180 sous-unités de capsid. Il provoque des mosaïques typiques sur les feuilles accompagnées d'une réduction de la croissance et de la récolte. Les fruits peuvent présenter des tâches et des déformations très localisées, et la nouaison est ralentie voire stoppée. Il peut contaminer près de 1200 espèces différentes !

Le *Watermelon mosaic virus* (WMV) et le *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) sont des *Potyvirus* de la famille des *Potyviridae*. L'ARN simple brin à polarité positive est encapsidé dans des particules flexueuses d'environ 750 nm de long pour 12 nm de diamètre. Le WMV peut induire sur les feuilles : des mosaïques, un assombrissement des nervures (vein-banding), une réduction de taille et des déformations plus ou moins sévères. Sur les fruits, de sévères décolorations apparaissent parfois accompagnées de légères déformations. La croissance de la plante peut être fortement ralentie. Sa gamme d'hôtes comprend près de 170 espèces dont plusieurs sont considérées comme des adventices. Le ZYMV a déjà démontré son potentiel destructeur conduisant à des pertes de rendement extrêmes. Généralement, les nervures des feuilles s'éclaircissent, une mosaïque jaune apparaît et les feuilles se déforment – i.e. boursoufflure et filiformisme. Sur les fruits on peut observer une mosaïque externe et des tâches nécrotiques, une marbrure interne et un durcissement de la chair. Les semences peuvent être largement déformées et ont un taux de germination très bas. Le ZYMV n'accepte qu'une faible gamme d'hôtes principalement des Cucurbitacées cultivées ou sauvages et quelques plantes ornementales et mauvaises herbes (Lecoq & Desbiez, 2008).

Enfin, le *Cucurbit aphid-borne yellows virus* (CABYV) est un *Potyvirus* de la famille des *Luteoviridae*. Son génome est constitué d'une molécule d'ARN simple brin encapsidé dans une particule virale icosaédrique d'environ 25 nm de diamètre. Il se limite aux tissus du phloème dans les plantes infectées et développe chez son hôte une jaunisse sur les feuilles âgées accompagnée d'un épaissement les rendant cassantes (Lecoq et al., 1992).

---

<sup>1</sup> Champignons saprophytes : champignon exploitant les substances organiques non-vivantes dont ils provoquent la décomposition

<sup>2</sup> Virginipare : se dit des pucerons issus de la reproduction parthénogénétique, tous des femelles

L'incidence sur la récolte se limite entre 10 et 15% de perte sur melon (Lecoq, 1999). La gamme d'hôte de ce virus est modérée, il s'attaque à beaucoup de Cucurbitacées mais a aussi été détecté sur plusieurs adventices en conditions naturelles (Lecoq et al., 1992).

Le melon contracte ces virus au cours des piqûres de gustations des pucerons pour les virus non-circulants (CMV, WMV et ZYMV) ou à la suite d'une nutrition prolongée sur la plante pour les circulants (CABYV) (Evelyne Turpeau, 2013). En culture, une plante est fréquemment infectée par plusieurs virus en même temps rendant le diagnostic à partir des symptômes délicat. L'utilisation de kit spécifique de détection immunologique par DAS-ELISA (Double-Antibody Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assay) apparaît à présent comme une méthode simple et fiable pour identifier ces virus (Loebenstein & Lecoq, 2012). Pour ces virus, aucun moyen de lutte curative n'existe pour contrôler les infections virales en plein champ. Une fois infectée, une plante le restera jusqu'à la fin de sa vie. Il est conseillé de retirer les premières plantes infectées, mais les symptômes viraux ne s'expriment qu'après une période d'incubation d'une à deux semaines, la plante est restée source de virus durant tout ce temps. Il existe des variétés résistantes dotées d'un gène baptisé *Vat* conférant une résistance à la transmission des virus non persistants lorsqu'ils sont transmis par *Aphis gossypii* (Pitrat and Lecoq, 1982) mais leur impact reste limité puisque *Vat* n'est pas efficace vis-à-vis des virus transmis par toutes les autres espèces de pucerons. Ainsi, un axe important de la lutte doit se concentrer sur le vecteur principal de ces virus : le puceron (Lecoq, 2013).

## **I.2. La lutte contre le puceron**

Trois éléments majeurs font de ce nuisible un bioagresseur difficilement contrôlable en culture : son mode de reproduction parthénogénétique, couplé à un chevauchement des générations où la formation des embryons d'un individu s'effectue alors qu'il se trouve encore à l'intérieur de sa mère (Dixon, 1992), et son développement rapide. Pour y faire face, plusieurs stratégies sont déjà déployées. La prophylaxie est bien évidemment un impératif. Elle se traduit par des compartiments étanches aux insectes ou par l'utilisation de bâches/voiles non tissés pour couvrir la culture jusqu'à la floraison (Guerineau & Aubert, 1998 ; APREL & CEHM, 2013). Les abords des parcelles doivent être maintenus « propres », c'est-à-dire exempts d'adventices pour limiter l'implantation de foyer à proximité directe. L'utilisation de variétés dites IR Ag (Résistance Intermédiaire à *Aphis gossypii*) est fortement conseillée. Ces plants sont dotés du gène *Vat* évoqué plus haut conférant également une résistance à la colonisation par le puceron du melon, *Aphis gossypii* (Kishaba et al., 1971). Une intervention chimique préventive avant plantation est également conseillée, notamment en plein champ pour diminuer les risques liés à la propagation des virus. Mais leur efficacité n'est que peu constatée dans la mesure où les pucerons venant de l'extérieur de la parcelle transmettent le virus avant que l'aphicide ne face effet (Lecoq, 2013).

Malgré la mise en place de ces stratégies, une fois le ravageur installé, les traitements chimiques restent le moyen de lutte le plus efficace pour minimiser les pertes de rendement et de qualité, même s'ils ne sont pas suffisants pour endiguer les épidémies virales liées aux pucerons. Leur utilisation immodérée provoquant à termes des effets non intentionnels sur l'écosystème, les espèces non-cibles et la santé humaine, la législation se durcit. De plus, les traitements aphicides appliqués régulièrement exercent une pression de sélection pouvant

conduire à l'émergence de populations résistantes. Même si de nombreux produits de synthèse sont encore autorisés, leur utilisation tend à se restreindre pour atteindre les objectifs du plan Ecophyto 2018 (E-phy, 2013). La réduction de l'importance de la solution chimique passe généralement par la mise en place d'une lutte raisonnée. Cela comprend par exemple l'adaptation des doses et du matériel d'application à la quantité de végétation ou le positionnement des traitements à des stades sensibles du ravageur. Cependant dans le cas du puceron, sa biologie et sa préférence pour la partie inférieure des feuilles le rendent difficile à atteindre (Webster, 2012). Afin de réduire les applications chimiques tout en conservant une pression en ravageurs acceptable, il est nécessaire de développer des méthodes de lutte alternatives.

Actuellement, la lutte biologique est l'option la plus employée. Elle consiste en l'introduction d'*Aphidius colemani*, un Hyménoptère parasitoïde apporté en général via des plantes relais en préventif (lâchers inoculatifs), ou par des lâchers inondatifs en curatif (Burgio et al., 1997 ; Guérineau & Aubert, 1998 ; APREL & CEHM, 2013). Des larves de prédateurs comme *Aphidoletes aphidimyza* et *Chrysoperla lucasina* peuvent également être employées en cas de forte pullulation (Kim & Kim, 2004 ; Murphy et al., 2006) ; les chrysopes ayant même démontré leur potentiel en plein champ (Malet et al., 1994). Cependant, il n'existe pas d'ennemi naturel du puceron commercialisé pour un usage en plein champ, la lutte biologique se cantonnant aux serres et abris (Plantegenest & Le Ralec, 2007 ; CIVAM Bio, 2012 ; APREL & CEHM, 2013). En effet, une attention toute particulière est portée sur l'impact de ces auxiliaires sur leur environnement d'introduction notamment sur les organismes non-cibles et une nouvelle réglementation est en place pour les macro-organismes non-indigènes (Fraval, 1999 ; MAAF, 2013). On tend vers une complexification de l'homologation de ces organismes.

L'élaboration d'une stratégie raisonnée est encore difficile. Les seuls outils d'aide à la décision actuels reposent principalement sur les bulletins de santé du végétal dispensés au niveau régional par les DRAAF. Ils ne fournissent qu'une estimation de la pression en se basant sur des observations de parcelles types et ne fournissent aucun conseil en matière de traitement. Quasiment aucun modèle ne pouvant servir d'outil décisionnel n'est à l'étude (Lopes, 2007). Compte tenu des contraintes et inconvénients des moyens de lutte actuels, le besoin d'intégration de méthodes alternatives dans une stratégie de lutte globale est réel.

### **I.3. L'agroécologie**

L'élaboration d'une stratégie intégrée ne se limite pas au schéma de lutte classique où l'on utilise un produit pour un effet sur le nuisible. Elle peut prendre un peu de distance et englober plusieurs mécanismes d'action pour étendre son efficacité. Actuellement trois approches à différentes échelles dominent : celle de la parcelle, celle de l'agrosystème ou de la ferme et une réflexion globale sur le système de production agricole (Wezel et al., 2011). Plusieurs principes fondamentaux doivent être à la base de la conception de ces nouveaux systèmes de culture : (i) le maintien de la fertilité du sol par le couvert végétal ; (ii) le maintien d'un équilibre des nutriments dans l'agrosystème ; (iii) la stabilisation de l'agrosystème ; (iv) le maintien des populations de bioagresseurs à des seuils de nuisibilités acceptables grâce à la complexification des interactions trophiques ; (v) l'utilisation de la

complémentarité des caractéristiques fonctionnelles d'un agro-système pour garantir la production ; (vi) l'utilisation des propriétés des plantes et des alternatives biologiques pour lutter contre les bioagresseurs (Malézieux, 2011).

#### **I.4. Le projet Agath**

Ce travail s'intègre au sein du projet Agath (Gestion agroécologique du puceron *Aphis gossypii* et du thrips *Thrips tabaci* en cultures de melon ou de poireau) financé par le CASDAR (MAAF) et piloté par le CTIFL. Il vise à évaluer l'efficacité d'un ensemble de pratiques agroécologiques pour perturber deux phases importantes du cycle biologique d'un ravageur : la recherche et l'acceptation de sa plante hôte, ainsi que son développement au sein de cet écosystème. À terme, ces méthodes pourront être intégrées aux systèmes de production actuels pour réduire la pression en ravageurs et ainsi limiter les intrants.

#### **I.5. La recherche et l'acceptation d'une plante hôte**

Le choix de la plante hôte pour le puceron est un processus par étape qui se base sur quatre types de stimuli : visuels, olfactifs, tactiles et gustatifs (Powell et al., 2006). Le puceron ailé atterrit tout d'abord sur une plante en réponse à une synergie entre la couleur (Hardie, 1989) et les volatils (Chapman et al., 1981 ; Pickett et al., 1992 ; Nottingham & Hardie, 1993) émis par celle-ci. Son appareil olfactif se situe au niveau de ses antennes (Annexe I, Figure 13). Plus précisément c'est par l'intermédiaire de petits orifices les rhinaries que les volatils sont captés (Shambaugh et al., 1978). Les rhinaries primaires se retrouvent sur toutes les formes (aillées/ptères) et à tous les stades, alors que les secondaires sont plus rares sur les virginipares<sup>2</sup> aptères (Leclant, 2000). Une fois en contact avec la plante, plusieurs indices sont évalués en parcourant la surface. Les cires épicuticulaires (Powell et al., 1999), les exsudats de trichome (Neal et al., 1990), la texture du substrat (Powell et al., 1999), sa topologie (Ibbotson & Kennedy, 1959), mais aussi la couleur (Pelletier, 1990) peuvent influencer le comportement du puceron avant la pénétration du stylet. Le mouvement des antennes permet de détecter les volatils présents dans la couche limite (Hardie & Powell, 2000 ; Storer et al., 1996), mais apporte aussi des informations gustatives sur le substrat par contact des processus terminalis (Powell et al., 1995). Les piqûres de gustation sont une réponse réflexe du puceron après le contact des tarsi sur une surface solide (Neal et al., 1990) même en présence d'éléments répulsifs (Griffiths et al., 1982). L'acceptation finale s'établit enfin par l'analyse gustative du contenu de la plante par plusieurs piqûres de gustation allant de l'épiderme jusqu'au parenchyme (Powell et al., 2006).

Selon leur théorie sur 'l'atterrissage approprié/inapproprié' basée sur la mouche du chou, Finch et Collier (2000, 2005) considèrent l'ensemble des stimuli impliqués dans le processus de recherche et d'acceptation de la plante hôte sur un pied d'égalité. Ainsi, si la prospection est interrompue à quelque niveau qu'il soit, la procédure doit être recommencée de zéro. Kogel et al. (2000) propose une bonne illustration de ce principe (Figure 1). Chacune des étapes du cycle de recherche et d'acceptation de la plante hôte représente donc un niveau possible d'intervention.

---

<sup>2</sup> Virginipare : se dit des pucerons issus de la reproduction parthénogénétique, tous des femelles

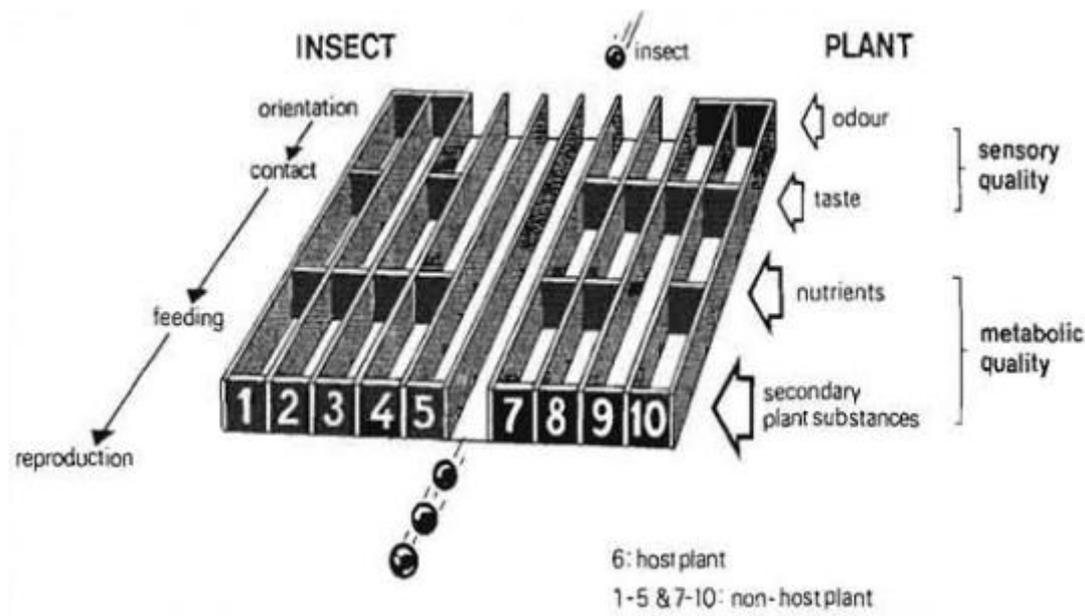


Figure 1. Illustration du cycle de recherche et d'acceptation d'une plante hôte selon Kogel et al. (2000).

## I.6. Mécanismes ciblés

Les acteurs du projet Agath ont choisi d'axer leurs recherches sur l'écologie chimique, et plus précisément sur l'utilisation de plantes à caractère répulsif, ainsi que sur le concept de lutte biologique par conservations via l'implantation de bordures enherbées et fleuries.

### I.6.1. Écologie chimique

Les composés volatils organiques (COV) sont le fruit de différentes voies de métabolisme de la plante, constitutives et/ou induites par des mécanismes de défense contre des stress biotiques ou abiotiques (Maffei et al., 2007). Quasiment tous les organes de la plante en émettent (Maffei, 2010). Leurs fonctions principales concernent sa défense contre les herbivores et les pathogènes, l'attraction des pollinisateurs, des transporteurs de graines et autres animaux et microorganismes bénéfiques, mais aussi la communication de plante à plante (Dudareva & Pichersky, 2008). Leur importance pour la défense contre les insectes herbivores est reconnue depuis près de quarante ans et la compréhension des comportements induits pourrait permettre d'améliorer la gestion des ravageurs (Szendrei & Rodriguez-Saona, 2010). Les récentes études sur le comportement des arthropodes face à des composés volatils issus des plantes se concentrent principalement sur les composés induits suite à une attaque d'herbivores (HIPV : Herbivore Induced Plant Volatils) et leur influence en tant que kairomone<sup>3</sup> sur les auxiliaires (Dicke & Baldwin, 2010 ; James, 2003 ; Zhu & Park, 2005). En revanche, les volatils utilisés par les ravageurs pour trouver leur plante hôte ont été moins étudiés. Les COV pourraient être utilisés du fait de leurs propriétés répulsives ou attractives. Jusqu'à présent, les études menées sur le sujet ont identifié majoritairement des volatils attractifs, probable résultat d'une littérature maigre sur les volatils répulsifs (Szendrei & Rodriguez-Saona, 2010). Cette dernière étude relate deux méthodes d'utilisation de ces composés contre des ravageurs : l'incorporation dans le système de cultures des plantes identifiées comme attractives et/ou répulsives, ou l'isolation et la diffusion des composés sous

<sup>3</sup> Kairomone : composé allélochimique qui déclenche une réponse comportementale bénéfique chez une autre espèce

différentes formulations. Ainsi, la présence de plantes émettrices de COV dans un agrosystème peut influencer le développement des colonies sur la culture. Ninkovic et al. (2009) ont constaté que les volatils émis par deux adventices réduisaient l'acceptation de l'orge par le puceron du merisier en laboratoire et au champ. D'autres expériences en conditions contrôlées confirment un effet répulsif (Kogel et al., 2000) ou perturbateur sur le développement des colonies de pucerons (Tomova et al., 2005). Pickett et al. (1992) relatent des essais de diffusion de molécules au champ obtenant pour certaines une augmentation des piégeages de pucerons, et pour d'autres une diminution de colonisation. Plus généralement, Visser (1986) conjecture que la réponse comportementale des insectes face aux volatils soit le résultat de deux phénomènes possibles : (i) la détection de composés spécifiques à une famille ou espèce ; (ii) l'interprétation des ratios de composés largement distribués dans le règne végétal. Plusieurs études supportent la conjecture de Visser (1986) dans le cas du puceron (Powell et al., 2006 ; Webster, 2012).

### **I.6.2. Lutte biologique par conservation : bordures aménagées**

Elle se définit comme la modification de l'environnement et/ou des pratiques en cours dans le but de protéger et de favoriser les ennemis naturels et d'ainsi réduire indirectement l'impact des bioagresseurs (Eilenberg et al., 2001). L'aménagement de bordures enherbées et/ou fleuries est de plus en plus fréquent en Europe (Haaland et al., 2011) et leur impact à l'échelle du paysage sur la biodiversité florale et les arthropodes n'est plus à démontrer (Aviron et al., 2008). La complexification des systèmes de culture augmente ainsi significativement la présence des auxiliaires en général dont les arachnides, les hémiptères et les parasitoïdes (Langellotto & Denno, 2004). Il a par exemple été constaté que les plantes de la famille des Brassicacées, des Astéracées et de Chenopodiacées favorisaient la présence de prédateurs naturels du puceron appartenant aux familles des Coccinellidées, des Syrphidées et des Chrysopidées (Bertolaccini et al., 2011). Ces auxiliaires sont à la fois attirés par la réserve de nourriture que fournissent ces aménagements dont le nectar, le pollen mais aussi par des proies alternatives. L'étude de la lutte biologique par conservation est très documentée et de nombreuses preuves ont été apportées quant à l'effet réservoir d'auxiliaire qu'elle génère, mais la littérature constatant ses effets sur les ravageurs reste encore trop peu fournie et pousse à controverse (Straub et al., 2008). La réaction positive des auxiliaires à ces bandes fleuries démontre qu'il existe une forte « demande » de la part de ces animaux pour ce genre de structure (Nentwig et al., 1998). Dans le cas sur melon, il semble qu'aucune étude ne se soit encore penchée sur l'utilisation de tels aménagements pour le contrôle du puceron.

### **I.6.3. Effets complémentaires fournis par l'agro-biodiversité végétale**

Finch et son équipe ont mis leur théorie à l'épreuve et ont ainsi constaté que l'association de plantes perturbait les stimuli visuels du cycle de recherche et d'acceptation de la plante hôte de deux mouches des cultures (Kostal & Finch, 1994 ; Finch et al., 2003). Sur le même principe, la présence de bordures végétalisées peut donc perturber et ralentir l'arrivée d'un bioagresseur tel que le puceron sur une culture. Dans le prolongement de cette théorie, les bordures enherbées/fleuries peuvent servir de point de décharge des virus (Hooks & Fereres, 2006). Dans le cas d'un atterrissage en premier lieu sur la bordure et non sur la culture, les

piqûres de gustation systématique du puceron peuvent le décharger de ses virus non-circulants.

## **I.7. Effets non-intentionnels**

Dans le processus de diversification des agro-systèmes, la sélection des espèces végétales à utiliser doit s'effectuer dans le but d'optimiser les effets régulateurs tout en minimisant les effets non intentionnels. Il a déjà été montré qu'une augmentation de la diversité peut tout autant favoriser, réduire ou n'avoir aucun effet sur les bioagresseurs visés (Straub et al., 2008). Aussi il est important de bien choisir les nouvelles espèces afin d'implanter la « bonne » diversité, c'est-à-dire la diversité adaptée aux objectifs fixés (Landis et al., 2000) et de limiter leurs éventuels impacts négatifs. Dans le cas présent, les espèces végétales candidates doivent remplir deux postulats : (i) être non-hôtes des principaux pucerons du melon ; (ii) être non-hôtes des principaux virus du melon véhiculés par les pucerons (Hooks & Fereres, 2006). Ces deux critères sont à remplir pour éviter la création de foyers d'infestation aphidienne ou de sources d'inoculum viral à proximité de la culture ce qui produirait l'effet inverse à celui recherché.

## **I.8. Objectifs de l'étude**

Ce travail gravite ainsi autour de trois objectifs principaux :

- la détection de plantes potentiellement répulsives, perturbant l'installation et le développement du puceron grâce à leur émission en volatils ;
- la caractérisation du statut hôte/ non hôte des plantes vis-à-vis des pucerons ;
- la caractérisation du statut hôte/ non hôte des plantes vis-à-vis des virus.

Pour estimer le statut olfactif de ces plantes vis-à-vis du puceron, ce dernier est d'abord soumis à une expérience comportementale face à un choix à deux issues. Un olfactomètre permet ainsi de confronter la plante à tester à de l'air pur. Dans la mesure où l'ajout ou la suppression de composé d'un bouquet d'odeur peut modifier la réponse comportementale du puceron (Webster, 2012), il apparait judicieux de mettre face à face la plante candidate et le melon.

Le statut d'hôte d'une plante candidate vis-à-vis du puceron est ensuite déterminé par un test d'acceptation prolongé par une évaluation du potentiel biotique.

Le statut d'une espèce végétale vis-à-vis des virus est fixé par un test d'inoculation couplé à un test ELISA.

La mise en parallèle de l'ensemble de ces résultats apporte un appui vers la sélection, parmi les candidates, des plantes intéressantes pour une lutte par les volatils et/ou une implantation dans les bordures de culture de melon.

## II. Matériels et méthodes

---

### II.1. Matériel animal

#### Sélection des espèces aphidiennes

Le puceron du melon, *Aphis gossypii*, aussi appelé puceron du cotonnier, est reconnu pour constituer le cœur des pullulations. Cependant, plusieurs autres espèces ont été piégées au cours d'essais antérieurs sur les sites d'expérimentation de l'INRA d'Avignon (Doustebacqué, 2013). Parmi elles, le puceron noir de la luzerne, *Aphis craccivora*, représente entre 10 et 30% des piégeages. On note également la présence du puceron vert du pêcher, *Myzus persicae*, en moindre importance (2 à 5%). Cette dernière espèce est considérée comme le vecteur le plus important de phytovirus (Blackman, 2000), notamment identifié comme capable de transmettre plus d'une centaine de virus (Kennedy et al., 1962). La littérature confirme la présence occasionnelle d'*A. craccivora* et de *M. persicae* en colonie sur melon (Hullé et al., 1999 ; Blackman, 2000 ; Mazollier, 2011). Dans leur ouvrage, Loebenstein & Lecoq (2012) relatent que ces trois espèces aphidiennes sont susceptibles de transmettre les quatre principaux virus des Cucurbitacées évoqués plus haut, sauf *A. craccivora* dans le cas du CABYV. Bien que toutes trois soient polyphages, les gammes d'hôtes d'*A. gossypii* et *M. persicae* sont extrêmement larges comparées à celle d'*A. craccivora* qui exhibe une préférence marquée pour les légumineuses (Blackman, 2000). *A. gossypii* et *M. persicae* sont considérés ici comme généralistes.

Ainsi, trois espèces de pucerons sont utilisées dans cette étude : *Aphis gossypii* (clone NM1 de l'unité GAFL, INRA PACA), *Aphis craccivora* (clone de l'unité BGPI, INRA Montpellier) et *Myzus persicae* (clone de l'unité PV, INRA PACA).

#### Préparatifs pour les expériences

Chaque espèce est élevée sur un de ses principaux hôtes secondaires (Blackman, 2000) : *A. craccivora* sur féverole, *A. gossypii* sur melon et *M. persicae* sur piment. Dans le but d'obtenir suffisamment d'individus d'un âge le plus homogène possible, les pucerons sont élevés en cohortes synchrones. Pour se faire, des femelles adultes, donc en mesure de procréer, sont déposées sur des plantes saines puis retirées après 24h. Après 7 à 8 jours selon les espèces, on obtient une cohorte de femelles adultes dont la différence d'âge ne varie pas de plus d'une journée (Castle et al., 1998). Tous les élevages sont réalisés en chambre ou enceinte climatique avec une photopériode de 8h de nuit pour 16h de jour, à une température de  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ . L'hygrométrie n'est pas contrôlée. Les prélèvements d'individus pour les expériences d'olfactométrie, d'acceptation et de potentiel biotique sont effectués à l'aide d'un pinceau en veillant à ce que les pièces buccales soient retirées de la plante.

### II.2. Matériel végétal

Les espèces végétales candidates (Tableau 2) ont été sélectionnées sur la base de résultats préliminaires acquis au sein des unités PV (projet Parcel-R dirigé par Alexandra Schoeny) et PSH (thèse de Refka Ben-Issa). Ainsi, l'unité PV s'est concentrée sur des espèces favorisant le contrôle des ravageurs via l'implantation de bandes enherbées et fleuries (bleuet, gesse,

marjolaine, pimprenelle, RGA, sainfoin). L'unité de PSH, au travers du travail de sélection de Refka Ben-Issa, s'est tournée vers les plantes aromatiques (basilic, œillet d'Inde, romarin, souci) dans la mesure où leur potentiel d'émission de COV est important. Le choix des plantes aromatiques s'est appuyé sur trois grands critères : elles présentent un effet perturbateur sur certains ravageurs (Annexe II. Tableau 7), sont endémiques et présentent un potentiel économique.

Tableau 2. Liste des espèces végétales employées au cours des expériences

	<b>Nom commun</b>	<b>Nom scientifique</b>	<b>Variété</b>	<b>Famille</b>	<b>Distributeur</b>	<b>Âge (semaines)</b>
<b>Plantes de service</b>	Basilic	<i>Ocimum basilicum</i>	Latino	Lamiacées		7
	Bleuet	<i>Centaurea cyanus</i>	Blue boy	Astéracées	Girerd	4
	Gesse	<i>Lathyrus sativus</i>		Fabacées	Girerd	4
	Marjolaine	<i>Origanum majorana</i>		Lamiacées	Girerd	8
	Œillet d'Inde	<i>Tagetes patula nana</i>	Royal Panther	Astéracées	Royal Fleur	6
	Pimprenelle	<i>Sanguisorba minor</i>		Rosacées	Girerd	6
	Raygrass anglais	<i>Lolium perenne</i>		Poacées	Girerd	8
	Romarin	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Burry Sud	Lamiacées		8 à 19
	Sainfoin	<i>Onobrychis viciifolia</i>		Fabacées	Girerd	7
	Souci officinal	<i>Calendula officinalis</i>		Astéracées	Novafloor	5
	Souci des champs	<i>Calendula arvensis</i>		Astéracées	Novafloor	4
	<b>Elevage</b>	Fèverole	<i>Vicia faba</i>	Aquadulce	Fabacées	Girerd
Melon		<i>Cucumis melo</i>	Védrantais	Cucurbitacées		3
Piment		<i>Capsicum annuum</i>	Yolo Wonder	Solanacées		4

Toutes les plantes sont cultivées en serre. Le romarin étant une espèce à croissance lente et plus délicate à multiplier, tous les plants utilisés sont issus d'un même lot de bouturage (22/02/2013). Toutes les autres espèces sont semées puis repiquées dans un substrat composé de tourbe de sphaigne et d'argile (TS3[404], société Klassmann-Deilmann). L'arrosage avec une solution nutritive (Fertiplant 11, société Plantin, caractéristiques en Annexe III, Tableau 8) est effectué deux fois par jour. Les plantes ne reçoivent aucun traitement phytosanitaire.

Pour l'ensemble des expériences, les plantes sont utilisées au stade végétatif (Tableau 2). Les plantes utilisées pour les expériences d'olfactométrie et d'acceptation sont, dans la mesure du possible, issue d'un même lot, c'est-à-dire un ensemble de plantes de la même espèce semées à la même date. Au cours d'une même semaine, un lot de plante est ainsi soumis aux deux premières expériences. Si cette première option n'est pas possible, les plantes sont manipulées à un âge similaire pour les deux expériences.

Pour le test de transmission des virus, les plantes ne sont âgées que de deux semaines, excepté pour le romarin. Ce dernier est taillé quinze jours avant l'inoculation de telle sorte que de jeunes pousses puissent être utilisées.

## II.3. Matériel viral

Pour le test de transmission, les virus utilisés et leurs souches respectives sont conservés sur différentes espèces végétales au sein de l'unité de Pathologie Végétale en cages insect-proof afin d'éviter les contaminations par des insectes vecteurs (Tableau 3).

Tableau 3. Présentation des plantes de conservation des virus et souches utilisées

Virus	Souche	Plante de conservation
Cucurbit aphid-borne yellow virus (CABYV)	FIP	Physalis
Cucumber mosaic virus (CMV)	14	Melon
Watermelon mosaic virus (WMV)	LL1A LL2B3	Courgette Courgette
Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV)	124L11 E9	Courgette Courgette

Selon le virus, une ou deux souches sont testées. Elles correspondent à celles les plus fréquemment rencontrées dans la région (Loebenstein & Lecoq, 2012) et sont donc les souches les plus utilisées au sein du laboratoire. La souche FIP du CABYV a été décrite pour la première fois sur melon à Nérac et est maintenue depuis sur physalis (Lecoq et al., 1992). Le CMV 14 est très homogène en France et est rencontré sur quasiment toutes les Cucurbitacées (Loebenstein & Lecoq, 2012). LL2B3 est la souche classique du WMV qui était présente en majorité dans le sud-est de la France, supplantée par des souches émergentes plus sévères comme LL1A (Loebenstein & Lecoq, 2012). La E9 du ZYMV fut la première souche décrite en 1979 dans le sud de la France et est la principale souche présente dans le Vaucluse. Quant à la 124-L11, c'est une souche faible décrite récemment dans le sud-est (Lecoq et al., 2009 ; Loebenstein & Lecoq, 2012).

## II.4. Analyses statistiques

L'ensemble des exploitations statistiques est réalisée à l'aide du logiciel R (R Development Core Team, 2005). La majorité des tests classiques tels que les analyses de la variance, les tests de Kruskal-Wallis ou de Wilcoxon signé utilisent le package {stats}, alors que les comparaisons multiples s'appuient sur {pfirmess}. L'erreur de première espèce est fixée à 5%. Des tendances à 10% sont parfois discutées.

## II.5. Tests d'olfactométrie

### II.5.1. Objectifs

Le but de ces tests est d'évaluer le comportement d'orientation olfactive du puceron face un choix bilatéral.

On note P1, P2 et Puceron les facteurs qui comprennent les modalités suivantes :

P1 : basilic, bleuet, blanc, féverole, gesse, marjolaine, melon, œillet d'Inde, piment, pimprenelle, ray-grass, romarin, sainfoin, souci officinal, souci des champs

P2 : blanc, melon

Puceron : *Aphis craccivora*, *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*

Pour chacune des trois espèces de pucerons et chacune des espèces végétales de P1, deux types de choix sont testés :

- P1 vs blanc (vide)
- P1 vs melon

Un traitement correspond à une situation de choix pour une espèce aphidienne donnée, par exemple : une plante de P1 face au melon avec *M. persicae*. Chaque traitement est testé huit fois grâce à huit olfactomètres menés en parallèle. Pour chacune des trois espèces de pucerons, deux séries de tests supplémentaires sont réalisées : la série 'blanc vs blanc' vise à caractériser le comportement de l'espèce aphidienne en l'absence de stimulus olfactif végétal (i.e. mesure du géotactisme) ; la série 'melon vs blanc' vise à caractériser le comportement de référence de l'espèce aphidienne en présence de la plante d'intérêt seule.

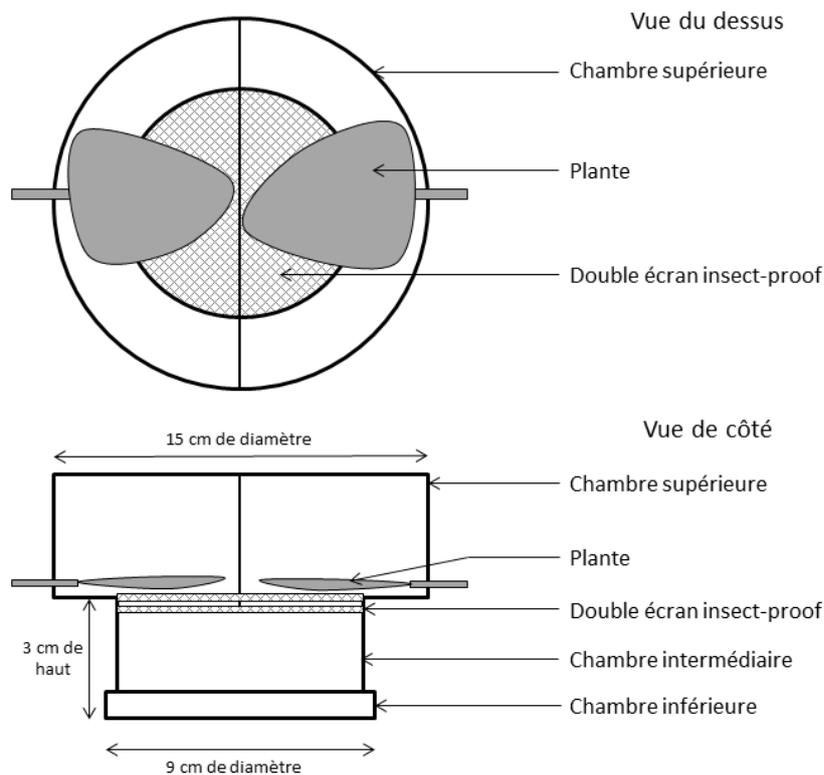


Figure 2. Schéma d'un olfactomètre inspiré d'Ameline et al. (2007) (n'est pas à l'échelle)

### II.5.2. Dispositif expérimental

L'olfactomètre utilisé est quasiment identique à celui décrit par Ameline et al. (2007). Il se décompose en trois chambres (Figure 2). La chambre supérieure est séparée en deux par une cloison centrale, chaque compartiment abritant une feuille ou une partie d'une plante à tester. La face inférieure de cette chambre est séparée de la chambre intermédiaire par un filet insect-proof. La face supérieure de la chambre intermédiaire est également dotée d'un filet insect-proof. Ce double écran anti-insecte empêche les pucerons de pouvoir directement piquer les

feuilles au travers du filet insect-proof. Une cloison centrale prolonge celle de la chambre supérieure jusqu'au deuxième filet. La chambre inférieure correspond au lieu d'introduction des pucerons.

Le dispositif expérimental est composé de 8 olfactomètres réutilisées de manière aléatoire pour chaque couple puceron-plante.

L'ensemble du dispositif se trouve dans une pièce noire climatisée maintenue à  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  et dont l'air est renouvelé tout au long de l'expérience.

### II.5.3. Mise en place

Pour chaque olfactomètre, 30 femelles adultes issues d'une même cohorte sont utilisées. Avant d'être introduits dans le dispositif, les individus jeûnent à l'obscurité dans la chambre inférieure durant 1h. Cette période de jeûne permet d'homogénéiser l'état physiologique des individus, mais aussi d'amplifier la réponse en supposant qu'un puceron affamé est plus sensible aux stimuli qu'un puceron rassasié. L'obscurité évite toute influence visuelle et place les pucerons dans un état d'attente neutre.

Les plantes sont disposées à l'horizontale pour qu'une partie de leurs feuilles puisse être introduite dans le dispositif, la plante de service faisant face au plant de melon (Figure 3). Les feuilles introduites dans le dispositif sont toutes adultes ou comprennent au moins des feuilles bien développées. D'une manière générale, une quantité équivalente de biomasse et/ou de surface foliaire est introduite des deux côtés de la chambre supérieure.



Figure 3. Disposition des plantes dans le dispositif expérimental. Cas d'un test confrontant la pimprenelle (à gauche) au melon (à droite).

Une mousse de protection entoure le pétiole/tige pour éviter toute blessure des plantes, ce qui pourrait modifier l'émission des COV par rapport à la normale. Les pucerons semblent moins attirés par une plante endommagée (Nottingham et al., 1991 ; Ameline et al., 2007).

Les pucerons sont introduits dans le dispositif après avoir été répartis de manière homogène dans la chambre inférieure avec environ 15 individus de chaque côté à l'aide d'un pinceau éventuellement imbibé d'eau déminéralisée. Afin d'homogénéiser le stress provoqué par le repositionnement, chacun des individus est légèrement déplacé même si cela n'est pas nécessaire à la répartition. Le dispositif est ensuite placé à l'obscurité, ventilation activée (régulation de la température), pendant toute la durée de l'expérimentation afin que l'odorat soit le seul sens qui puisse influencer le comportement des pucerons.

#### II.5.4. Comptage

Le comptage se réalise sur la chambre intermédiaire et est facilité par la prise d'une photographie (Figure 4). Le nombre de répondants est établi en comptabilisant les individus présents sur la partie supérieure horizontale. Le choix de chacun des répondants est noté selon le côté sur lequel il s'est positionné : P1 ou P2. La proportion de répondants côté P1 découle du nombre de répondants présent sur ce côté divisé par le nombre de répondants total ( $P1/[P1+P2]$ ). Deux comptages sont effectués par olfactomètre : un à 20 minutes (T20), le dispositif est ouvert à l'obscurité, photographié, puis remis en place ; puis un à 60 minutes (T60).

Après chaque test, le dispositif est nettoyé à l'alcool à 70% pour retirer toute trace d'éventuels COV. Cette dernière étape permet également de diminuer les effets de l'électricité statique (Pettersson et al., 1998). Il sèche ensuite pendant au moins 45 minutes avant d'être réutilisé pour laisser le temps à tout l'éthanol de s'évaporer.

La mise en place des différents olfactomètres et la prise des photos se fait toujours en respectant le même ordre de manière à limiter le décalage d'une répétition à l'autre.

Un protocole détaillé est présenté en Annexe IV.

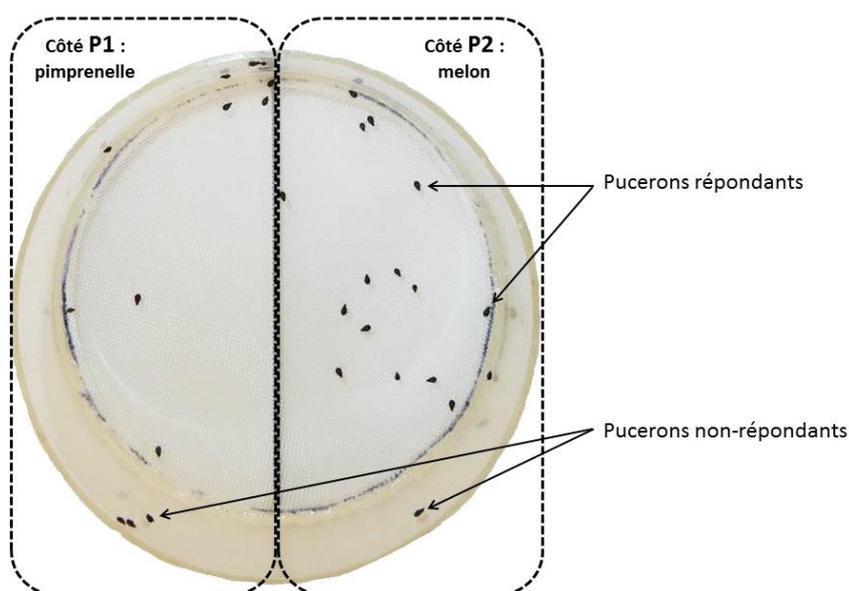


Figure 4. Photographie d'une boîte confrontant la pimprenelle (P1) au melon (P2) à 60 minutes : 6 individus sont considérés répondants en P1 et 15 en P2.

#### II.5.5. Analyse statistique

L'analyse présentée se porte sur deux variables : le nombre total de répondants de chaque traitement et la préférence entre P1 et P2. Le temps d'attente avant la prise des photographies est déterminé par des tests préliminaires du dispositif.

### **Comportement des pucerons en l'absence de stimulus olfactif ('blanc vs blanc')**

Afin de déterminer le temps d'attente avant la prise de la photographie, quelques tests préliminaires avec *Myzus persicae* sont effectués. Une première série utilisant les olfactomètres à vide indique que pour cette espèce aphidienne, il n'y a pas de différence significative du nombre de répondants au cours du temps entre 5 et 80 minutes (Kruskal-Wallis :  $\chi^2 = 1.248$ , p-value = 0.940) ; le pourcentage de répondants est en moyenne de 42,2% (Annexe V, Figure 14). Cependant, en présence de végétaux la réponse apparaît comme différente. Le test "Romarin vs blanc" indique une tendance, presque significative, du taux de répondants à augmenter entre un comptage à T20 (41,7%) et un autre à T60 (54,2%) (Wilcoxon signé :  $V = 2$ , p-value = 0.0502). Même si moins marquée, cette tendance est également constatée sur "Romarin vs Melon" avec 48,8% à T20 et 55% à T60 (Wilcoxon signé :  $V = 1$ , p-value = 0.106). Ainsi, alors qu'Ameline et al. (2007) n'obtenaient aucune fluctuation pour cette variable, ce n'est pas le cas ici, soulignant l'intérêt du suivi de cette variable au cours des expériences.

Des tests à vide à T20 puis T60 sont également effectués sur les pucerons *Aphis gossypii* et *craccivora* (Annexe V, Figures 15 et 16). Le premier augmente significativement le nombre de répondants de T20 à T60, passant en moyenne de 12 à 30% (Wilcoxon signé :  $V = 3$  ; p-valeur = 0,0413). Le second suit cette tendance mais avec une activité plus marquée, passant de 46 à 65% (Wilcoxon signé :  $V = 4,5$  ; p-valeur = 0,068).

Avec entre 40 et 50% de répondants, les données obtenues à T20 sont exploitables. La littérature opte généralement pour des temps d'exposition entre 1 et 2 heures (Hori, 1999a, 1999b ; Ben-Issa et al., 2012). La réalisation des deux mesures à T20 et T60 se distingue en fournissant deux informations différentes : une réponse rapide du puceron face à un choix bilatéral, et une réponse après un sondage plus prolongé. Selon la plante testée, la concentration en COV dans l'olfactomètre est supposée augmenter de T20 à T60, et les données à T20 et T60 seront donc complémentaires.

Les résultats du fonctionnement du dispositif à vide servent de référence pour mesurer les fluctuations des variables pour chaque espèce aphidienne d'un traitement à l'autre.

### **Variable 'nombre total de répondants'**

Le nombre de répondants par traitement constitue le socle de robustesse de cette expérience puisque plus le nombre de répondants à un traitement est important et plus la réponse obtenue se rapproche des caractéristiques de la population étudiée. C'est la loi des grands nombres. Mais cette variable peut aussi être utilisée pour expliquer des observations faites au cours des expériences (Medina-Ortega et al., 2009). L'influence du facteur Pucerons est estimée par une ANOVA à un facteur sur les données qui vérifient les postulats de normalité, facteurs P1 et P2 confondus (Shapiro-Wilk :  $W = 0.997$ , p-value = 0.365) et d'homoscédasticité.

Puis pour chacune des espèces de puceron, une analyse de variance est réalisée, suivie de comparaisons multiples pour le facteur P1 suivant la méthode des contrastes de Dunnett. On compare avec cette dernière procédure le nombre total de répondants de chacune des modalités de P1 à la modalité témoin 'blanc vs blanc' (i.e. 'vide vs vide'). Si les données ne remplissent pas les postulats de normalité et/ou d'homoscédasticité, une analyse de variance

non-paramétrique de Kruskal-Wallis est conduite, suivie de comparaisons multiples adaptées à ce test.

### **Variable ‘préférence’**

Pour déterminer la supériorité d’attraction d’un compartiment par rapport à l’autre, il s’agit ici de vérifier si la répartition des répondants entre les deux côtés de l’olfactomètre est significativement différente. On compare ainsi le nombre de répondants en P1 à celui en P2. Cette comparaison est effectuée via le test des rangs signés de Wilcoxon.

## **II.6. Tests d’acceptation d’hôte et potentiel biotique**

### **II.6.1. Objectifs**

Pour chacune des trois espèces aphidiennes étudiées, il s’agit de caractériser le statut d’hôte/non-hôte des plantes de service testées. Une plante de service est qualifiée d’hôte pour une espèce aphidienne si elle est favorable à son établissement (mesure de l’acceptation) et à son développement (mesure du potentiel biotique). Le potentiel biotique représente la capacité maximale de reproduction d’une espèce en l’absence de facteur limitant (CIRAD, 2007 ; Denno & Eubanks, 2011). Cet indice considère à la fois la fécondité et le temps de développement (Roush & Plapp, 1982). Pour prendre en compte ces deux aspects, ce potentiel est ici mesuré au travers du nombre de larve ayant atteint le stade adulte en 7 jours.

### **II.6.2. Dispositif expérimental**

Il est constitué de dix répétitions, soit dix plantes issues d’un même lot. Ces plantes sont isolées sur une coupelle dans des plateaux remplis d’eau (Figure 5). Pour éviter les transferts inter-plante par contact, certaines espèces végétales ont dû être tuteurées.

L’expérience comprend trois grandes étapes. Premièrement, dix femelles adultes issues d’une même cohorte sont déposées sur chaque plante. Deuxièmement, après 24h les femelles encore présentes sur la plante sont dénombrées et retirées. Ce comptage permet de calculer le taux d’acceptation. Les femelles adultes retrouvées sur le pot, dans le terreau ou sur l’éventuel tuteur ne sont pas comptabilisées. Troisièmement, au bout de 7 jours le nombre de descendants adultes retrouvés sur la plante est relevé. Pour y parvenir, les plantes sont décortiquées feuille par feuille pour détecter tous les pucerons susceptibles de se cacher. Ce dénombrement fournit les données nécessaires à l’établissement du potentiel biotique.



Figure 5. Disposition de dix plants de basilic dans des plateaux remplis d’eau.

Pour chacune des trois espèces de pucerons, cette expérience est réalisée sur les différentes plantes candidates, le melon et la plante d'élevage.

### **II.6.3. Analyse statistique**

#### **Acceptation**

Les données obtenues ne répondant pas au critère de normalité (Shapiro-Wilk :  $W = 0,959$  ; p-valeur =  $8,96e-09$  ; Bartlett :  $K = 14,3$  ; p-valeur =  $0,000796$ ), trois analyses de variance sont réalisées à l'aide du test de Kruskal-Wallis, une pour chaque espèce de puceron. En cas de rejet de l'égalité des distributions, chacune de ces analyses est suivie d'une comparaison multiple à l'aide de tests de Mann-Whitney-Wilcoxon ajustés par une correction de continuité suivant la méthode de Bonferroni. Cette dernière procédure permet de prendre en compte le nombre de comparaisons effectuées et d'ajuster la valeur du risque d'erreur primaire. C'est la plante d'élevage de l'espèce de puceron concernée qui sert de témoin. Une espèce végétale est considérée comme acceptée par une espèce de puceron si son taux d'acceptation n'est pas significativement différent de celui du témoin.

#### **Potentiel biotique**

Le potentiel biotique de chaque couple plante-puceron est exprimé par le nombre de descendants adultes après 7 jours rapporté au nombre d'adultes retrouvés après 24h.

Au vu des résultats, des comparaisons multiples suivant la même méthode qu'utilisée pour l'acceptation ne semblent pas pertinentes. Une analyse descriptive s'appuyant sur des figures est employée. Une seule comparaison est réalisée à l'aide du test de Mann-Whitney-Wilcoxon.

## **II.7. Test de transmission des principaux virus**

### **II.7.1. Objectifs et plan expérimental**

Cette expérience a pour but d'établir le statut hôte/non-hôte de différents virus pour une espèce végétale donnée. Une plante est qualifiée d'hôte pour un virus si après inoculation artificielle, l'agent pathogène est retrouvé au niveau systémique dans la plante.

Pour chacune des souches testées deux inocula provenant de deux plantes mères différentes sont utilisés. Chaque inoculum est transmis sur chacune des espèces végétales à hauteur de quatre répétitions ainsi que sur deux témoins melon. Ce test de transmission ayant déjà été conduit en 2011 suivant le même protocole sur une partie des plantes candidates, seuls le basilic, l'œillet d'Inde, le romarin, le souci officinal et le souci des champs sont testés.

### **II.7.2. Échantillonnage**

Les échantillons sont prélevés par pincement des feuilles à l'aide de sachet plastiques retournés pour éviter tout contact entre eux. Pour les virus non-persistants, de jeunes feuilles sont prélevées, alors que des feuilles plus âgées sont récoltées pour le virus persistant du CABYV dont les particules virales se concentrent dans le phloème. Ils sont conservés au froid dans l'attente de leur utilisation.

### **II.7.3. Inoculation**

Deux procédures d'inoculation sont utilisées selon le mode de transmission viral. Les virus non-persistants CMV, WMV et ZYMV sont inoculés mécaniquement alors que le vecteur aphidien du CABYV est utilisé pour ce virus circulant.

#### **Inoculation mécanique**

Des jus de chaque inoculum sont obtenus par broyage (au mortier et pilon) de 2g de feuilles infectées dans 8 mL de tampon d'extraction. Ils sont mélangés à une pincée d'abrasif, le carborundum, et de charbon actif, ce dernier jouant un rôle protecteur contre les ribonucléases<sup>4</sup> et les inhibiteurs d'infection. L'inoculation est ensuite réalisée par frottement sur les cotylédons et sur les premières feuilles de l'inoculum ainsi préparé. Les organes inoculés sont ensuite rincés à l'eau déminéralisée pour éliminer le charbon actif qui pourrait gêner la lecture des symptômes.

#### **Inoculation par vecteur aphidien**

Pour cette transmission, le puceron généraliste *M. persicae* est utilisé. L'acquisition du virus par les individus se fait en positionnant un grand nombre d'individus pendant 48 heures sur la plante de conservation du CABYV, le physalis. Puis, trois lamelles de feuilles de physalis couvertes d'une dizaine de pucerons sont déposées sur chacune des plantes à inoculer. Les pucerons sont laissés sur les plantes pendant 48 heures avant d'être éliminés par un traitement aphicide. Cette méthode de transmission connaissant parfois un taux de succès inférieur à 100%, 10 témoins melon par inoculum sont employés au lieu de deux.

Après inoculation, les plantes sont replacées sous serre pendant une période d'incubation de trois semaines avant le test de détection par DAS-ELISA.

### **II.7.4. Test de détection : DAS-ELISA**

La détection de particules virales par DAS-ELISA est reconnue à la fois dans le monde scientifique (M. F. Clark, 1977 cité par Loebenstein & Lecoq, 2012) ainsi qu'au niveau national comme méthode officielle d'analyse validée par le Laboratoire National de la Protection des Végétaux (LNPNV, 2010). Cette technique immuno-enzymatique utilise le principe d'une réaction immunologique, suivie d'une réaction enzymatique de dégradation d'un substrat. Cette réaction est basée sur la reconnaissance spécifique d'un antigène par des anticorps adsorbés sur un support solide, une plaque de microtitration ou microplaque. L'antigène ainsi retenu est ensuite reconnu par un anticorps couplé à une enzyme. L'ajout du substrat spécifique de l'enzyme produit un hydrolysate coloré révélateur de la présence de l'antigène recherché. Une mesure par spectrophotométrie permet de quantifier la concentration en hydrolysate et indirectement en antigène.

Pour ce test, chaque microplaque accueille les extraits issus d'un inoculum ainsi que les deux témoins : un témoin sain de chaque espèce végétale et un témoin infecté prélevé sur la plante de conservation du virus. Les microplaques employées comportent 96 puits permettant

---

<sup>4</sup> Ribonucléase : enzyme de la classe des hydrolases qui catalyse la rupture des liaisons phosphodiester des ARN.

l'incorporation de bordures d'une largeur d'un puits tout autour de la plaque. Les plans de plaque sont présentés en Annexe VI.

### **DAS-ELISA étape par étape (Annexe VII)**

Pour chacun des échantillons, 0,5g de tissus végétaux sont broyés dans 4mL de tampon d'extraction (Annexe VIII, Tableau 9) à l'aide d'un broyeur à rouleaux. Le broyat obtenu par écrasement des tissus entre les deux cylindres est recueilli dans un tube. Les rouleaux sont systématiquement nettoyés à la brosse et au détergent puis rincés à l'eau permutée entre chaque échantillon pour éviter toute contamination entre les extraits. L'opération est répétée deux fois dans le cas du CMV. Les broyats sont ensuite conservés au froid jusqu'à utilisation.

Dépôt des IgG (i.e. immunoglobuline G) : les anticorps spécifiques d'un virus (IgG) conservés dans du glycérol sont dilués dans un tampon spécifique (Annexe VIII, Tableau 9). Ils sont déposés dans les puits des plaques de microtitration. L'incubation a lieu à 37°C pendant 3 à 4 h ; il y a adsorption des anticorps spécifiques sur la plaque de polystyrène.

Addition de l'extrait de plante : les plaques sont rincées trois fois à l'eau puis une fois à l'aide d'un tampon de rinçage (Annexe VIII, Tableau 9). Chaque extrait de plante est déposé dans deux puits. Une nuit d'incubation à 4°C permet la formation du complexe antigène-anticorps. La première colonne d'une plaque n'est remplie que de tampon de broyage, puis selon le plan de plaque prédéfini (Annexe VIII, Tableau 9), sont déposés : les témoins sains, les extraits à tester puis les témoins malades.

Addition des anticorps spécifiques couplés à une enzyme : les extraits sont retirés des puits à l'aide d'une pompe à vide pour éviter les contaminations, puis les plaques sont rincées comme précédemment. Les IgG couplés à l'enzyme (i.e. le conjugué) sont dilués dans un tampon spécifique (Annexe VIII, Tableau 9) et déposés dans les puits. Trois heures d'incubation à 37°C permettent la fixation des anticorps marqués si l'antigène est présent.

Addition du substrat de l'enzyme : les plaques sont de nouveau rincées comme précédemment, puis un substrat soluble incolore dissout dans un tampon substrat (Annexe VIII, Tableau 9) est ajouté à une concentration de 1mg/ml. L'incubation a lieu à température ambiante. L'hydrolyse par l'enzyme du substrat provoque une coloration jaune révélatrice de la présence des antigènes du virus recherché dans l'échantillon.

La densité optique des puits est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre pour une longueur d'onde de 405 nm. Trois lectures sont effectuées à 1 heure, 2 heures et 3 heures de l'incorporation du substrat.

### **Analyse de données**

Le spectrophotomètre (modèle Multiskan Ex, société Thermo Scientific) est relié à un ordinateur et l'analyse des données se fait à l'aide du logiciel Ascent (société Thermo Scientific). Pour chacun des puits, celui-ci retrace la valeur moyenne d'absorbance de la colonne tampon. La moyenne des deux puits constitue la valeur retenue liée à un échantillon. Tout échantillon dont la densité optique est supérieure à trois fois celle du témoin sain est considéré comme positif. Les résultats finaux sont exprimés en nombre de répétitions positives. Toute plante séropositive prouve la capacité de transmission d'un virus et est donc déclarée hôte de celui-ci. Pour une espèce végétale donnée, le risque est proportionnel à la fréquence des plantes séropositives.

## III. Résultats

---

### III.1. Olfactométrie : test à choix binomial

#### III.1.1. Définition du statut olfactif pour un couple plante-puceron

La soumission des individus aux différents choix entraîne trois types de réactions : l'attraction, la répulsion et un statut intermédiaire qualifié ici de neutre similaire au comportement du puceron en l'absence totale de plante (i.e. géotactisme négatif). En effet, le fonctionnement du système à vide engendre un nombre de répondants non nul et plus ou moins important selon les espèces aphidiennes (Annexe V, Figures 14,15 et 16).

Une plante attractive (A) montre une préférence significative en sa faveur, ou une augmentation du nombre de répondants.

Une plante répulsive (R) peut se démarquer par l'accumulation d'effets répulsifs concordant les uns avec les autres. Deux événements principaux sont considérés comme des effets répulsifs : la réduction significative du nombre de répondants, et la répartition des répondants significativement vers le blanc ou le melon.

A défaut d'être plus attractive que le melon ou répulsive, une plante est considérée comme neutre (N). Une plante neutre ne génère aucune différence de répartition, ni de réduction du nombre de répondants traduisant l'absence de composés répulsifs.

Enfin certaines réponses ne sont pas claires. Des plantes provoquent un ou plusieurs effet(s) contradictoires ou sans logique apparente. Elles perturbent donc bien le puceron mais il n'est pas possible de conclure quant à leur statut. Elles sont qualifiées de perturbatrices (P).

#### III.1.2. Évaluation de l'impact des facteurs expérimentaux sur le 'nombre total de répondants'

##### Facteurs Puceron

Les différentes espèces de puceron n'obtiennent significativement pas le même nombre de répondants, toutes expériences confondues (ANOVA : p-valeur = 2.2e-16). Dans l'ordre de l'espèce la plus répondante à la moins répondante, on trouve d'abord *M. persicae* puis *A. craccivora* et enfin *A. gossypii*. Malgré la proximité apparente des distributions d'*A. craccivora* et *M. persicae* (Figure 6), les trois espèces ont des distributions significativement différentes les unes des autres.

##### Facteur P1 à 60 minutes

L'analyse du facteur P1 met en avant un impact des plantes sur cette variable plus important à T60 comparé à T20. Dans le cadre de ce rapport, seules les données à T60 seront considérées y compris pour la variable 'préférence'.

Le facteur P1 a un effet très significatif sur le fonctionnement du dispositif expérimental (ANOVA : p-valeur[Ac] = 7,17e-05 ; p-valeur[Ag] = 2,2e-16 ; p-valeur[Mp] = 1,1e-03). Les comparaisons multiples par rapport à 'blanc vs blanc' relatent les réductions, ou les augmentations, du nombre total de répondants soulignant respectivement des effets répulsif ou attractifs (Tableau 4).

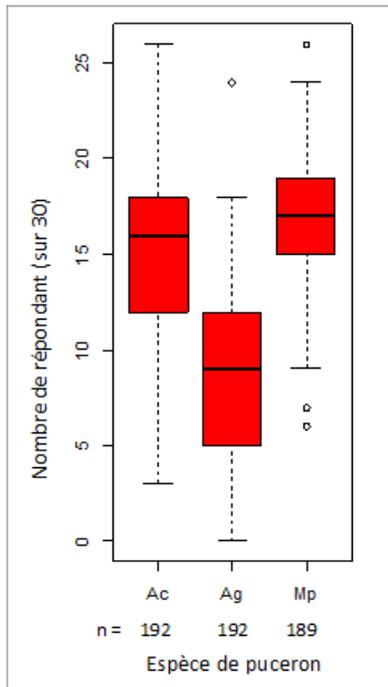


Figure 6. Diagramme en boîte du nombre total de répondants, selon l'espèce de puceron tous facteurs confondus.

On distingue quatre principaux types de réponse : (i) réduction du nombre total de répondants face au blanc et face au melon ; (ii) augmentation du nombre total de répondants face au blanc et face au melon ; (iii) augmentation ou réduction du nombre total de répondants soit face au blanc, soit face au melon ; (iv) aucune variation face au blanc et au melon. Ces réponses correspondent respectivement à un effet : répulsif, attractif, perturbateur et neutre.

Pour *A. craccivora*, le bleuet et la pimprenelle sont ainsi clairement répulsives. Le basilic, la gesse, le romarin ainsi que la marjolaine et le souci des champs ont un effet perturbateur. Les autres plantes n'ont pas d'effet significatif. Pour *A. gossypii*, le basilic, le bleuet, l'œillet d'Inde et le ray-grass ont des effets perturbateurs, alors que les autres plantes n'ont aucun effet.

Dans le cas de *M. persicae*, l'effet général est attractif. La pimprenelle, le bleuet, le souci officinal et le souci des champs sont attractifs tout comme le melon. Le nombre de répondants augmente avec le basilic, la gesse, la marjolaine, et l'œillet d'Inde mais seulement en présence du melon. Ce phénomène est plutôt lié à l'attractivité du melon. Ces plantes n'ont donc aucun effet d'après cette variable.

Tableau 4. Résultat des comparaisons multiples par rapport aux expériences à vide à T60. (\*), \*, \*\*, \*\*\* expriment un nombre total de répondants significativement différent vis-à-vis de 'blanc vs blanc' avec respectivement  $p < 0,1$  ;  $p < 0,05$  ;  $p < 0,01$  et  $p < 0,001$ . La différence de pourcentage de répondants entre une plante et 'blanc vs blanc' est indiquée en %, elle peut être positive (+) ou négative (-). Une case vide signifie qu'aucun effet significatif n'est constaté.

Plantes de P1	Espèce aphidienne					
	<i>A. craccivora</i>		<i>A. gossypii</i>		<i>M. persicae</i>	
	vs blanc	vs melon	vs blanc	vs melon	vs blanc	vs melon
Basilic	* (-) 24,2 %		** (-) 21,3 %	(* (+) 15,4 %		** (+) 37,1 %
Bleuet	** (-) 29,6 %	* (-) 22,1 %	(* (-) 15 %		(* (+) 33,8 %	(* (+) 30,4 %
Gesse	* (-) 21,3 %					** (+) 37,9 %
Marjolaine		** (-) 25,4 %				* (+) 32,9 %
Melon		non réalisée		non réalisée	* (+) 35,4 %	non réalisée
Œillet d'Inde			*** (-) 25 %			** (+) 39,2 %
Pimprenelle	* (-) 21,3 %	* (-) 20,8 %			* (+) 36,6 %	** (+) 39,2 %
Raygrass			** (-) 22,5 %			
Romarin	*** (-) 34,2 %				* (+) 37,5 %	(* (+) 31,3 %
Sainfoin						
Souci officinal					(* (+) 33,8 %	* (+) 32,5 %
Souci des champs		(* (-) 19,6 %			(* (+) 33,3 %	* (+) 33,8 %

Un certain nombre de plantes ont des effets marqués sur les pucerons, et l'analyse de la variable 'préférence' permet de confirmer ces réactions ainsi que de caractériser les effets de plantes classées pour l'instant perturbatrices ou neutres par la variable 'nombre total de répondants'.

### III.1.3. Préférence entre P1 et P2

Pour cette variable, trois types de réponses sont observées : (i) significativement plus de répondants en faveur de P1 ; (ii) significativement plus de répondants en faveur de P2 ; (iii) aucune préférence. Cela correspond respectivement aux effets : attractif, répulsif et neutre.

Pour toutes les espèces aphidiennes, le fonctionnement du dispositif à vide (i.e. 'blanc vs blanc') a un effet neutre à T60 (Wilcoxon signé : p-valeur[Ac] = 0,888 ; p-valeur[Ag] = 0,203 ; p-valeur[Mp] = 1).

*A. craccivora* semble rester indifférent à la plupart des plantes testées à travers cette variable (Figure 7). Seule la gesse est attractive face au blanc, alors que le melon tend à être répulsif.

La marjolaine est attractive pour *A. gossypii*, et la pimprenelle et le souci des champs tendent même à être plus attractifs que le melon, sans avoir d'effet face au blanc (Figure 8). En présence de l'œillet d'Inde, les pucerons sont peu répondant indiquant une plante répulsive. Leur proportion plus importante côté œillet d'Inde doit donc être considérée avec prudence. Étonnamment, le melon reste neutre.

La pimprenelle est clairement plus attractive que le melon pour *M. persicae* (Figure 9). L'œillet d'Inde et le romarin sont attractifs, et le basilic, le bleuet et la gesse montrent la même tendance. La marjolaine est répulsive face au melon. Pour ce puceron, les choix sont plus marqués face au blanc que face au melon.

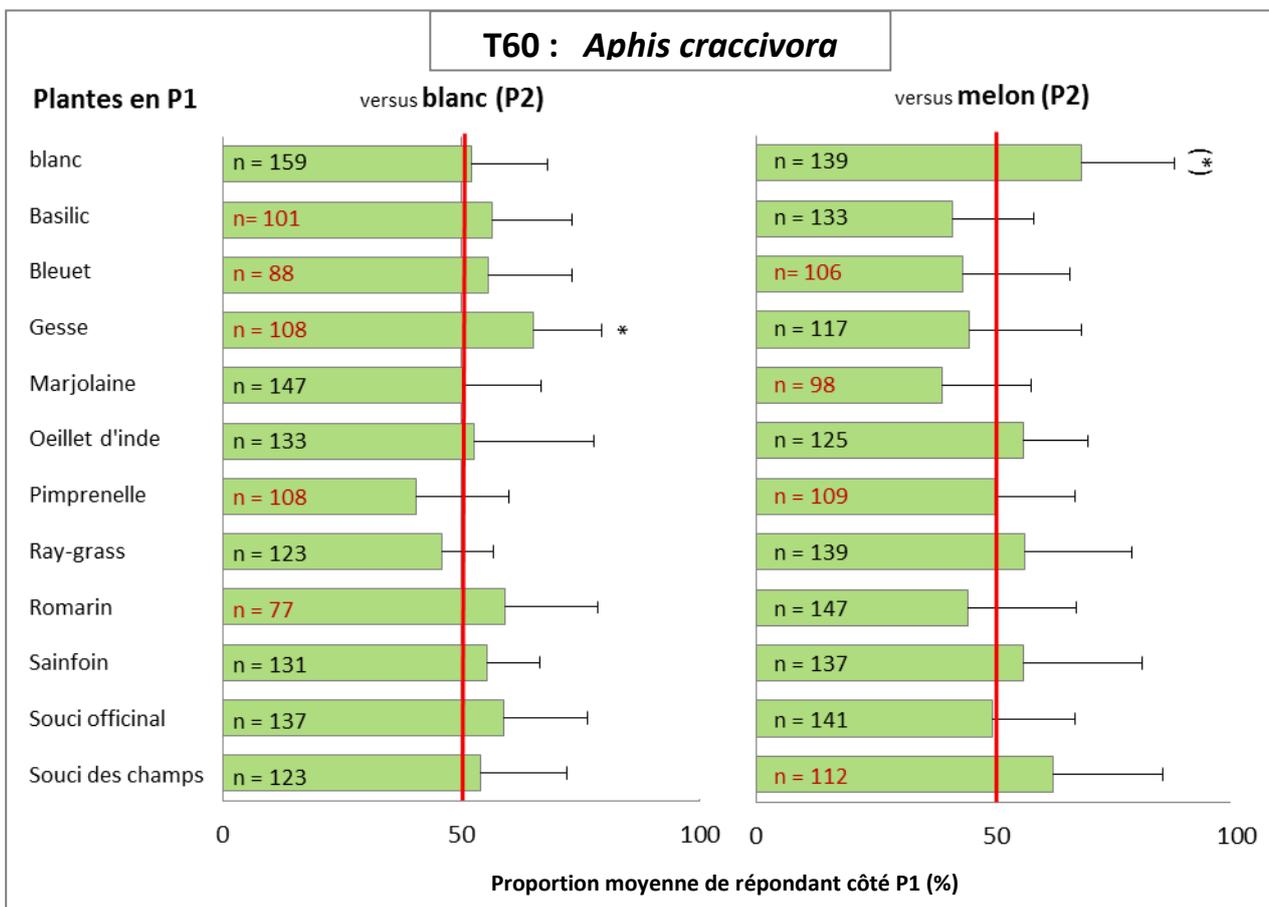


Figure 7. Résultats des tests d'olfactométrie pour *Aphis craccivora* à T60. Deux types de choix sont illustrés et correspondent aux deux modalités de P2 : 'P1 vs blanc' et 'P1 vs melon'. Les barres des histogrammes représentent la proportion moyenne de répondant côté P1 selon différentes espèces végétales. Les barres d'erreur représentent l'écart-type. (\*) et \* différences significatives (test Wilcoxon signé), avec respectivement  $p < 0,1$  et  $p < 0,05$ .

"n" exprime le nombre total de répondants, une couleur rouge signifiant une réduction du nombre total de répondants et une couleur blanche signifiant une augmentation par rapport au test à vide 'blanc vs blanc' ( $p < 0,1$ ).



Figure 8. Résultats des tests d'olfactométrie pour *Aphis gossypii* à T60. La légende est identique à celle de la figure 7.

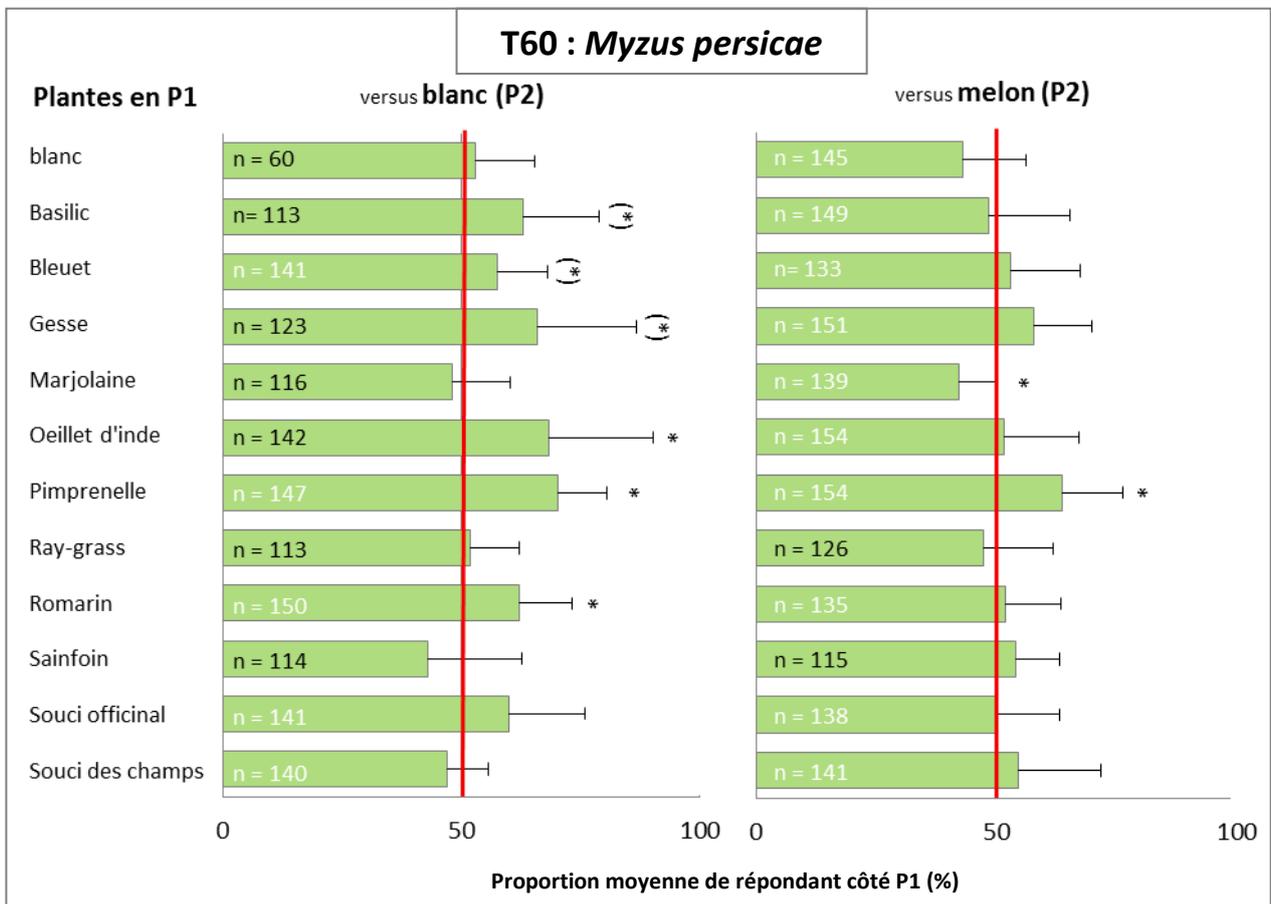


Figure 9. Résultats des tests d'olfactométrie pour *Myzus persicae* à T60. La légende est identique à celle de la figure 7.

### III.1.4. Discussion

La mise en parallèle des résultats sur le nombre total de répondants et sur leur répartition entre P1 et P2 permet de caractériser le statut olfactif d'un couple plante-puceron (Tableau 5). Les statuts olfactifs sont fixés en prenant en compte les deux variables, mais en priorisant la variable 'nombre total de répondant'. Ainsi, en cas de résultats contradictoires entre les deux variables, c'est l'effet sur le 'nombre total de répondant' qui sera considéré. Si les effets exprimés par la variable 'nombre total de répondants' sont en contradiction, la plante est alors considérée comme perturbatrice, d'autres tests étant nécessaires pour véritablement conclure sur son effet.

#### *Aphis craccivora*

L'effet du melon ne modifie pas le nombre total de répondant et montre une légère répartition en faveur du blanc. Il est considéré comme neutre.

Le bleuet, le basilic, la marjolaine, la pimprenelle et le romarin réduisant le nombre total de répondant sont considérés répulsifs même s'ils n'affectent pas la répartition entre P1 et P2.

La gesse obtient des résultats contradictoires entre les deux variables et peut être considérée comme perturbatrice.

L'œillet d'Inde, le ray-grass, le sainfoin, le souci officinal ne modifiant ni le nombre total de répondant ni leur répartition, ils sont aussi qualifiés de neutres.

Le souci des champs ne provoque qu'une faible diminution du nombre total de répondants sans autres effets. Il est considéré comme neutre.

### ***Aphis gossypii***

Le melon seul n'augmente pas le nombre total de répondant et ne modifie pas la répartition en sa faveur. Néanmoins on remarque que plusieurs plantes dont le nombre total de répondants est significativement réduit face au blanc, doublent voire triple ce nombre en présence du melon. Sachant cela on peut considérer le melon comme attractif.

Le basilic seul peut être considéré comme répulsif, mais il perd cette propriété en présence du melon qui masque son effet. Un raisonnement assez similaire conduit également à considérer l'œillet d'Inde comme répulsif.

Le ray-grass diminue d'une manière surprenante le nombre total de répondants pour une plante non-aromatique. Son effet reste à confirmer dans la mesure où il n'affecte significativement aucun des autres pucerons. On le considère ici comme perturbateur.

La marjolaine est attractive face au blanc.

Le souci des champs et la pimprenelle sont préférés au melon mais ne sont pas attractives seules. Ils n'engendrent aucun effet sur le nombre total de répondant et peuvent donc être considérés comme neutres.

Le bleuet réduit seul le nombre total de répondants de moitié et peut donc être considéré comme répulsif.

La gesse, le romarin, le sainfoin et le souci officinal ne provoquent aucune réponse chez ce puceron et sont donc neutres.

### ***Myzus persicae***

L'effet attractif du melon, se traduit par l'augmentation du nombre de répondants pour presque tous les traitements face au melon.

Bleuet, pimprenelle, romarin, souci officinal et souci des champs sont attractifs car ils augmentent le nombre total de répondant seuls et face au melon.

L'œillet d'Inde se montre attractif vis-à-vis des deux variables. Cependant, l'augmentation du nombre total de répondants face au melon est associée au melon qui masque en partie l'effet de l'œillet d'Inde. Face à deux propositions qui l'attirent, le puceron se répartit de manière homogène.

La marjolaine est la seule espèce à obtenir une répartition significativement en faveur du melon, alors que le nombre de répondants augmente. Cela peut se traduire par un comportement de fuite des pucerons vers le melon. La marjolaine est considérée comme répulsive.

Comme précédemment l'augmentation du nombre total de répondants face au melon n'étant a priori pas liée aux plantes candidates, le basilic et la gesse peuvent être considérés comme neutres.

Le ray-grass et le sainfoin ne produisent pas d'effet sur les variables observées et sont neutres.

Tableau 5. Récapitulatif des statuts olfactifs pour un couple plante-puceron. (A) attractif ; (N) neutre ; (R) répulsif ; (P) perturbatrice.

Plantes candidates	<i>A. craccivora</i>				<i>A. gossypii</i>				<i>M. persicae</i>			
	A	N	R	P	A	N	R	P	A	N	R	P
Basilic			X				X				X	
Bleuet			X				X		X			
Gesse				X	X						X	
Marjolaine			X		X						X	
Melon		X			X				X			
Œillet d'inde		X					X		X			
Pimprenelle			X		X				X			
Raygrass		X						X		X		
Romarin			X		X				X			
Sainfoin		X			X					X		
Souci officinal		X			X				X			
Souci des champs		X			X				X			

Les réponses fournies par les différents pucerons reflètent en partie leur gamme d'hôte respective (Blackman, 2000). Le généraliste *M. persicae* est ainsi attiré par la majorité des plantes testées, alors qu'une seule le repousse. *A. gossypii*, un généraliste d'envergure plus restreinte n'est pas spécialement attiré par beaucoup d'espèces végétales mais n'est repoussé que par deux. *A. craccivora*, un polyphage avec une préférence prononcée pour les légumineuses, est perturbé ou repoussé par la moitié des plantes.

Le penchant pour la neutralité d'*A. gossypii* est peut-être le résultat de son mode de fonctionnement. En effet, le faible taux de répondants d'*A. gossypii* aux tests (Figure 6) concorde avec le peu de géotactisme dont il fait preuve (Annexe V, Figure 15) et avec le peu d'activité observée au cours de son élevage. *A. craccivora* est quant à lui le plus actif des pucerons. Au vu de ses résultats avec la variable 'préférence', il ne semble pas non plus effectuer des choix aisément, mais son 'nombre total de répondants' varie beaucoup. *M. persicae* est l'espèce qui présente le plus de choix tranchés.

Globalement, la plupart des choix significatifs se produisent face au blanc. En présence du melon, beaucoup d'effets attractifs ou répulsifs observés face au blanc s'effacent, ce qui correspondrait à un effet « masque » (Visser, 1986 ; Nottingham et al., 1991) grâce auquel le melon cacherait les odeurs des autres plantes. Dans certains cas, les effets observés face au blanc sont même modifiés face au melon. Cette modification de l'intégrité du message perçu par le puceron suggère un possible effet cocktail (Visser, 1986), rendant le comportement face à de tels stimuli parfois complexe à interpréter comme le souligne Webster (2012).

La variable 'nombre total de puceron' met en évidence un nombre plus important d'effets significatifs que la variable 'préférence'. Le nombre total de répondants doit cependant être observé à T60, car aucun effet n'est constaté à T20. D'une manière générale, ces deux variables offrent des résultats complémentaires comme suggéré par Medina-Ortiga et al.

(2009), même si certaines constatations étaient contradictoires. Une analyse plus fine prenant en compte les résultats à T20 permettrait peut-être de conclure sur le statut de certaines plantes perturbatrices qui provoquent des effets isolés sans liens apparents les uns avec les autres. Les conclusions pour ces couples plante-puceron sont ainsi difficiles à formuler et de nouvelles expériences pourraient également être conduites pour vérifier les constatations établies par ce travail.

Une forte variabilité entre les répétitions est constatée et encourage le perfectionnement du dispositif expérimental dans le but d'homogénéiser le plus possible les réponses. Quelques améliorations du protocole ont été identifiées et pourront être mises en application lors de prochains tests.

Plusieurs statuts olfactifs obtenus sont en contradiction avec le travail de Ben-Issa et al. (2012) dans lequel le basilic est répulsif pour *M. persicae* et le romarin suit la même tendance. L'âge des plantes ou leur stade phénologique constitue peut-être une explication, puisque Ben-Issa et al. (2012) ont réalisé leurs expériences avec des romarins âgés de dix mois. Nos romarins sont quant à eux tous issus d'un même clone et âgés de 8, 16 et 19 semaines respectivement lors des expérimentations avec *M. persicae*, *A. gossypii* et *A. craccivora*. Le romarin se montre attractif pour *M. persicae*, sans effet sur *A. gossypii*, et tend à être répulsif sur *A. craccivora*. Ce constat nous pousse à conjecturer que plus les romarins sont âgés et plus leur potentiel répulsif se révèle. Cet effet 'âge des plantes' est constaté par Alvarez et al. (2007) qui font remarquer la différence de réaction de *M. persicae* entre un test de choix réalisé avec des feuilles apicales et un autre utilisant des feuilles matures. Le puceron n'était pas attiré par de très jeunes feuilles, alors qu'il répondait à des feuilles âgées. Des mesures des COV ont été effectuées pour chacune des espèces végétales après nos expériences d'olfactométrie au stade végétatif, puis au stade floraison. L'analyse complète de ces relevés pourrait peut-être apporter des informations supplémentaires sur ce point. On constate ainsi dans nos essais sur la marjolaine une modification qualitative du profil olfactif entre le stade végétatif et le stade floral (Annexe IX). Pour conclure sur l'effet des plantes testées, les prochaines expériences devraient les tester à un stade phénologique plus avancé à partir duquel le spectre des COV émis par la plante est le plus large possible.

## **III.2. Test d'acceptation et mesure du potentiel biotique**

### **III.2.1. *Aphis craccivora***

Le taux d'acceptation d'*A. craccivora* est significativement différent selon l'hôte proposé (Kruskal-Wallis :  $\chi^2 = 89,0481$  ; p-value =  $2,13e-13$ ). Ainsi, il accepte à 96% sa plante d'élevage, la fève, qui sert de référence pour la comparaison avec les différentes autres plantes qui obtiennent toutes des taux d'acceptation significativement inférieurs (Figure 10). La gesse (41%), le souci officinal (30%), le sainfoin (22%), le bleuet (16%), le ray-grass (10%), le melon(8%) et l'œillet d'Inde (7%) sont significativement moins acceptés que la fève ( $p < 0,05$ ). Le souci des champs (26%), le romarin (4%), la marjolaine (2%), la pimprenelle (1%) et le basilic (0%) sont quant à eux très significativement moins acceptés que la fève ( $p < 0,01$ ).

*A. craccivora* accepte moyennement la gesse et dans une moindre mesure le souci officinal et le souci des champs et le sainfoin. Les autres espèces végétales sont très peu voire à peine acceptées par ce puceron.

Mise à part la gesse, le potentiel biotique de toutes les espèces candidates ne dépasse jamais un descendant par femelle retrouvée après 24 heures. Cette différence se constate aisément graphiquement (Figure 11). Sur ces figures, la scission entre la plante d'élevage et les plantes de P1 étant suffisamment marquée, l'écart-type n'est pas représenté. Une seule comparaison statistique est réalisée dans le cas de la gesse et son potentiel biotique n'est pas significativement différent de celui de la fêverole, mais se trouve à la limite du seuil d'acceptation statistique ( $W = 241$  ;  $p$ -valeur = 0,0537).

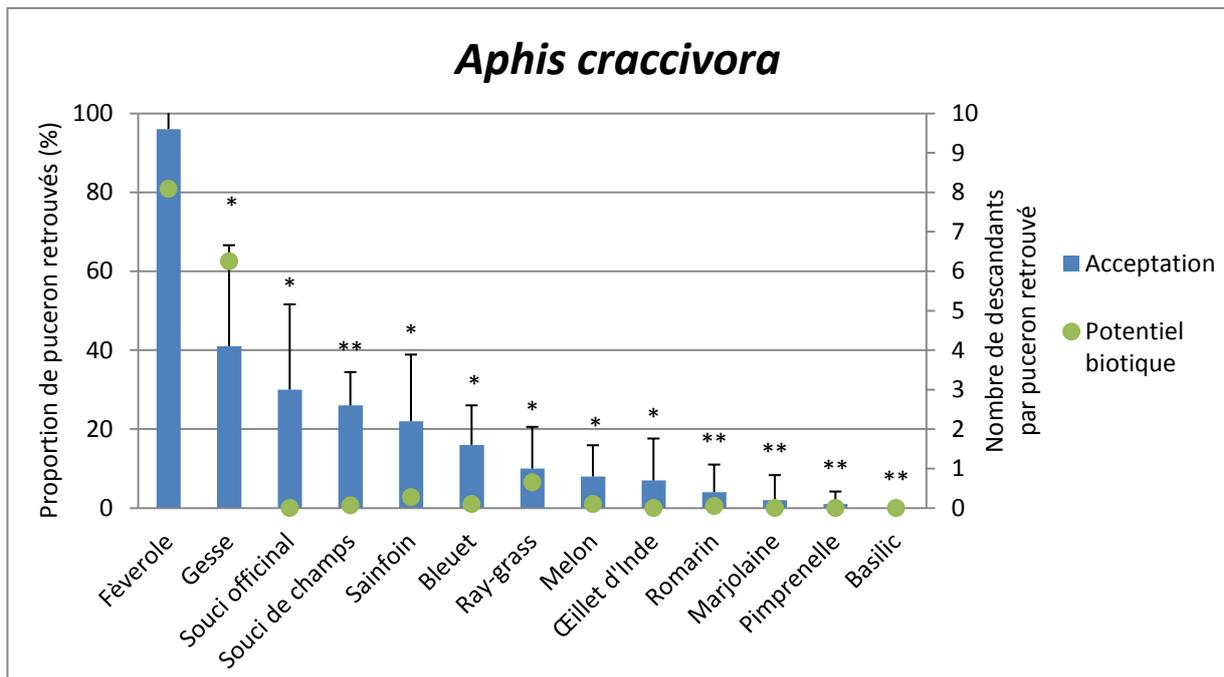


Figure 10. Proportion d'*Aphis craccivora* retrouvé après 24h et nombre de descendant à 7 jours, selon les espèces végétales et leur potentiel biotique.

\*, \*\* exprime une différence significative d'acceptation entre la plante d'élevage et les autres espèces végétales avec respectivement  $p < 0,05$  et  $p < 0,01$  par rapport à la plante d'élevage : la fêverole.

### III.2.2. *Aphis gossypii*

De la même manière, *A. gossypii* n'accepte pas toutes les espèces végétales dans les mêmes proportions (Kruskal-Wallis :  $\chi^2 = 93,7$  ;  $p$ -valeur =  $3,21e-15$ ). Sa plante d'élevage, le melon, obtient le score maximal (100%), suivi de près par quelques autres espèces (Figure 11). Les taux d'acceptation du bleuet (99%), de la marjolaine (97%) et du basilic (82%) ne sont pas significativement différents de celui du melon. Le ray-grass (64%) et le sainfoin (55%) obtiennent des résultats significativement inférieurs au témoin ( $p < 0,05$ ). L'œillet d'Inde (71%), le romarin et le souci des champs (57%), le souci officinal (21%), la gesse (17%) et la pimprenelle (17%) sont tous très significativement inférieurs au melon ( $p < 0,01$ ).

En plus de sa plante d'élevage, *A. gossypii* accepte de manière équivalente le bleuet, la marjolaine et le basilic. L'acceptation est moyennement réduite pour l'œillet d'Inde, le ray-

grass, le romarin, le souci des champs et le sainfoin, alors qu'elle est restreinte pour le souci officinal, la gesse et la pimprenelle.

Pour ce puceron également, le potentiel biotique qu'il développe sur les plantes candidates est largement inférieur à celui qu'il adopte sur sa plante d'élevage.

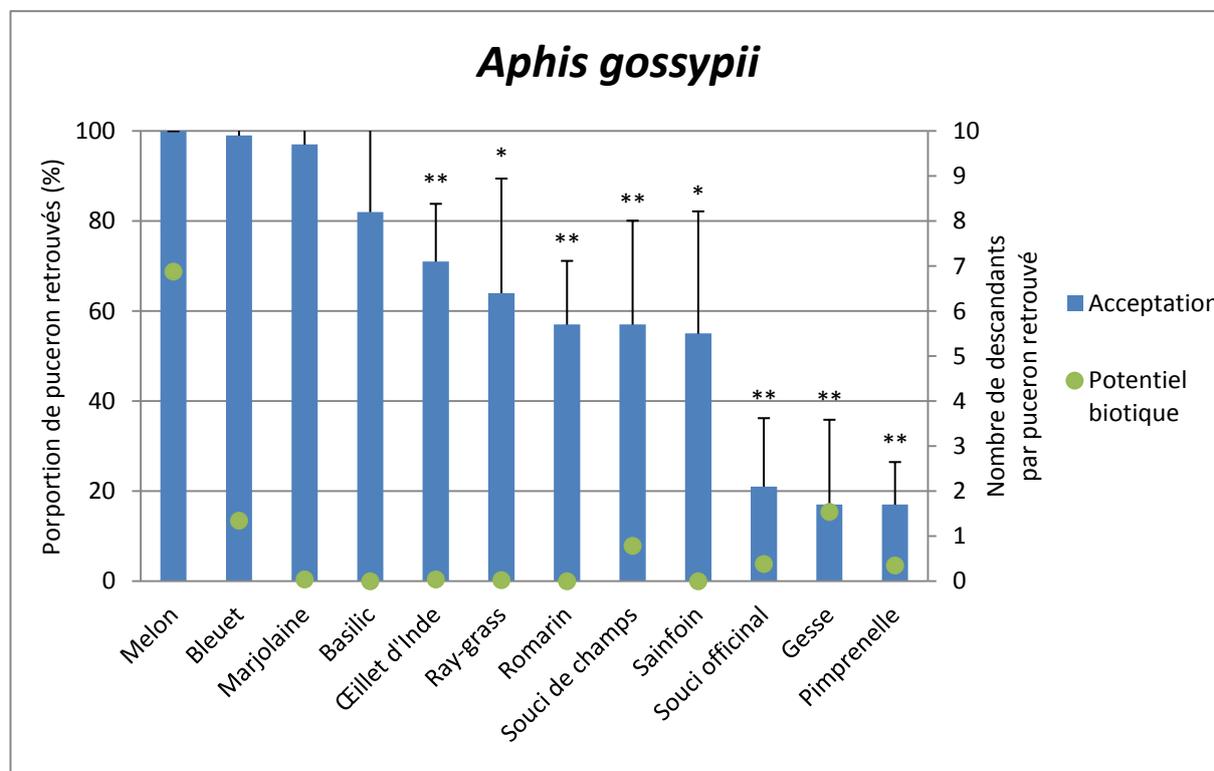


Figure 11. Proportion d'*Aphis gossypii* retrouvé après 24h et nombre de descendant à 7 jours, selon les espèces végétales et leur potentiel biotique.

\*, \*\* exprime une différence significative d'acceptation entre la plante d'élevage et les autres espèces végétales avec respectivement  $p < 0,05$  et  $p < 0,01$  par rapport à la plante d'élevage : le melon.

### III.2.3. *Myzus persicae*

Dans ce cas aussi, *M. persicae* montre des différences d'acceptation en fonction des espèces végétales (Kruskal-Wallis :  $\chi^2 = 110$ ,  $p\text{-value} < 2.2e-16$ ). Le piment, sa plante d'élevage, obtient 96% d'acceptation, et plusieurs plantes se rapprochent fortement de ce résultat (Figure 12). Le souci des champs (96%), le romarin (87%) et le bleuet (85%) ont des résultats sans différence significative avec le témoin et sont donc pleinement acceptés. À l'inverse, la marjolaine (61%), le souci officinal (44%), la gesse (27%) et le basilic (19%) obtiennent des taux d'acceptation significativement différents du piment ( $p < 0,05$ ) et sont moyennement acceptés. Enfin, l'œillet d'Inde (31%), le ray-grass (10%), la pimprenelle (6%), le sainfoin (4%) et le melon (2%) sont très significativement inférieurs au témoin ( $p < 0,01$ ). Le melon n'est pas accepté et obtient même les résultats les plus bas.

Le potentiel biotique sur les plantes testées est pour ce puceron aussi très inférieur à celui de la plante d'élevage.

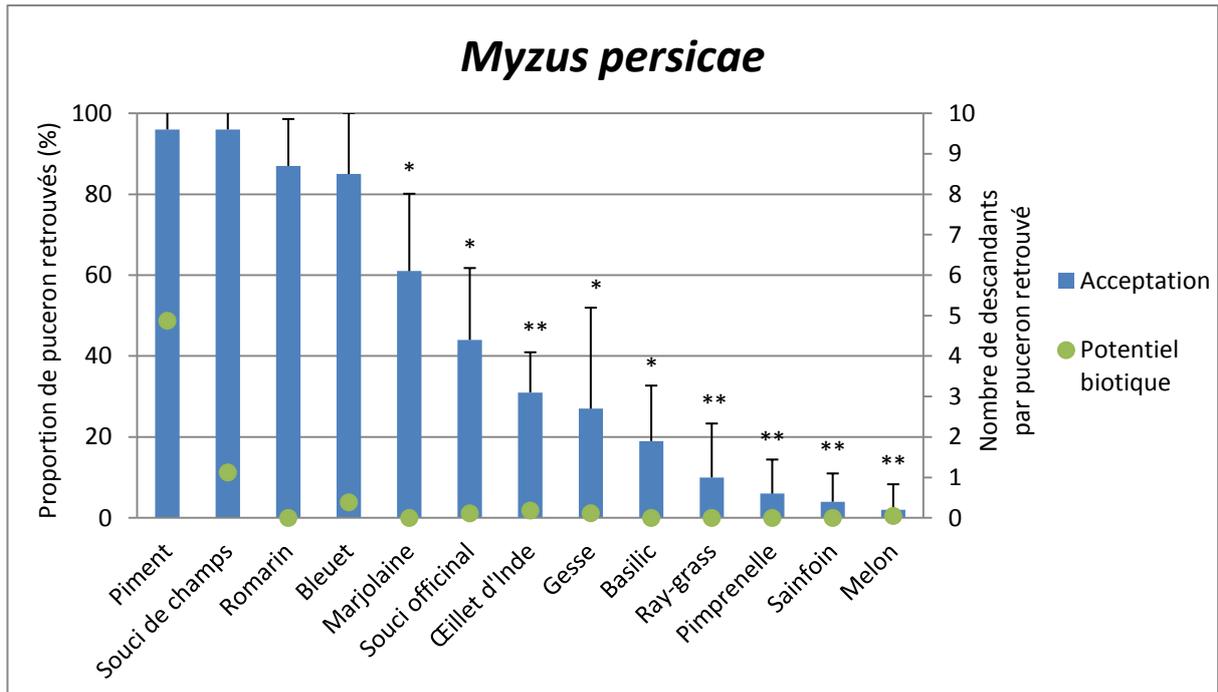


Figure 12. Proportion de *Myzus persicae* retrouvé après 24h et nombre de descendant à 7 jours, selon les espèces végétales et leur potentiel biotique.

\*, \*\* exprime une différence significative d'acceptation entre la plante d'élevage et les autres espèces végétales avec respectivement  $p < 0,05$  et  $p < 0,01$  par rapport à la plante d'élevage : le piment.

### III.2.4. Discussion

On constate que le seuil d'acceptation déduit ici par les analyses statistiques se situe aux alentours de 70%, ce qui correspond au seuil utilisé par Pitrat et Lecoq (1980).

Dans toutes les situations où le taux d'acceptation n'est pas significativement différent de celui de la plante d'élevage, le potentiel biotique est drastiquement réduit. Le risque d'établissement des pucerons sur ces plantes est par conséquent très fortement compromis, et ces plantes peuvent donc être considérées comme non-hôtes.

Dans les situations où le taux d'acceptation est significativement réduit par rapport à celui de la plante d'élevage, le potentiel biotique est généralement fortement réduit. Le risque d'établissement des pucerons sur ces plantes est par conséquent doublement compromis, et ces plantes peuvent donc être considérées comme non-hôtes.

Une plante fait exception : la gesse pour *A. craccivora*. Bien que le taux d'acceptation de cette espèce soit significativement réduit par rapport à celui de la plante d'élevage (i.e. la fève), son potentiel biotique n'est pas significativement différent de celui observé sur le témoin. La probabilité d'établissement d'*A. craccivora* sur cette espèce n'est donc pas négligeable, d'autant que cette plante a déjà été décrite comme hôte de ce puceron en Iran (Azizollah et al., 2012). Elle peut donc être considérée comme hôte potentiel de ce puceron. Cela étant dit, trois années d'expérimentation sur des bandes fleuries n'ont jamais mis en évidence de colonisation des gesses par *A. craccivora* malgré une présence sur la parcelle qui oscille entre 10 et 30% des piégeages (Douste-bacqué, 2013).

De même, les résultats obtenus ne reflètent pas la possibilité de l'établissement d'*A. craccivora* sur sainfoin observée *in natura* par Azizollah et al. (2012). Notre étude ne prenant pas en compte les éventuelles larves observées après 7 jours, il est possible qu'elle ne détecte pas un développement ralenti du puceron sur la plante testée. On pourrait par exemple conjecturer qu'*A. craccivora* émet une descendance sur sainfoin, mais qu'elle n'atteint pas le stade adulte en 7 jours. Les prochaines expériences devraient incorporer cette variable pour pleinement apprécier le développement du puceron sur une espèce.

*A. craccivora* et *M. persicae* révèlent enfin des performances quasiment nulles sur melon alors qu'ils font partie des espèces aphidiennes signalées sur ce légume (Blackman, 2000).

### III.3. Acceptation des principaux virus

L'exploitation des résultats est effectuée à partir de la lecture à 2 heures dans la mesure où les témoins ont atteint le niveau escompté (LNPV, 2010). Les résultats sont synthétisés dans le Tableau 6.

Tableau 6. Synthèse des résultats du test de transmission de virus. Les ratios indiquent le nombre de répétitions séropositives. <sup>(1)</sup> indique une/plusieurs référence(s) signalant la détection de ce virus sur la même espèce végétale.

	Espèce végétale	CABYV	CMV	WMV	WMV	ZYMV	ZYMV
		FIP	14	LL1A	LL2B3	124L11	E9
2011	Bleuet	0/8	5/8 <sup>(4)</sup>	0/8	0/8	0/8	0/8
	Gesse	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	Marjolaine	0/8	7/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	Pimprenelle	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	RGA	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	Sainfoin	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
	Melon	0/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
2013	Basilic	0/8	6/8 <sup>(1)</sup>	0/8	0/8	0/8	0/8
	Œillet d'Inde	0/8	8/8 <sup>(2)</sup>	0/8	0/8	0/8	0/8
	Souci des champs	0/8	8/8	8/8	8/8	0/8	0/8
	Souci officinal	0/8	8/8 <sup>(3)</sup>	0/8	0/8	0/8	0/8
	Romarin	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
	Melon	0/20	4/4	3/4	4/4	4/4	4/4

(1) Lisa & Valle (1979) ; Marini (1955) ; Raj et al. (1997)

(2) Wellman (1935)

(3) Price (1940) ; Crescenzi et al. (1993) ; Valiela (1995) ; Okuno et al. (2002)

(4) Zaitlin et al. (1994) ; Masuta et al. (2002)

### III.3.1. Virus non-persistants

Pour les deux séries de tests 2011 et 2013, mise à part une échappée pour le WMV (LL1A), tous les témoins melon sont positifs pour les trois virus non persistants CMV, WMV et ZYMV traduisant la réussite de l'inoculation.

#### CMV

Comme on pouvait s'y attendre, la gamme d'hôtes du CMV est large parmi les plantes candidates. Le test de transmission positionne le bleuet, la marjolaine, le basilic, l'œillet d'Inde, le souci des champs et le souci officinal comme hôte de ce virus. On note cependant que le basilic et le bleuet n'obtiennent pas un taux de transmission maximal (6/8 et 5/8 respectivement), ce qui laisse à penser que la transmission est moins aisée sur ces espèces végétales. De nombreuses espèces ont déjà été identifiées comme hôte du CMV confirmant ainsi nos analyses. On note que *Tagetes patula* n'a été décrite comme hôte du CMV qu'une seule fois en 1935 (Wellman, 1935) sans confirmation ultérieure, alors que *Tagetes erecta* est reconnue comme hôte à plusieurs reprises (Suteri et al., 1979 ; Jing & Feiyun, 2007 ; Ara et al., 2012). En revanche, le souci des champs et la marjolaine n'ont encore jamais été répertoriés.

#### WMV

Parmi les espèces candidates, le souci des champs est la seule espèce qui semble hôte du WMV pour les deux souches utilisées. Aucune référence ne relate une telle contamination. La présence de ce virus dans les échantillons séropositifs est par ailleurs confirmée par son observation en microscopie électronique à transmission (Annexe X, Figure 18 et Annexe XI).

#### ZYMV

Aucune des plantes testées ne semble hôte du ZYMV ce qui correspond à la description de sa gamme d'hôtes réduite aux Cucurbitacées et à quelques plantes ornementales (Loebenstein & Lecoq, 2012).

### III.3.2. Virus persistant

Pour le CABYV, l'absence de témoins melon positifs nous empêche de conclure quant au statut hôte/non hôte des espèces végétales testées.

Dans la mesure où le melon est un hôte reconnu de ce virus, c'est visiblement la transmission qui a échoué dans cette expérience. Bien que *Myzus persicae* soit décrit comme vecteur du CABYV (Lecoq et al., 1992), la capacité de vection du clone utilisé dans les présentes expériences peut être remise en question. Les résultats des tests d'acceptation semblent en effet aller dans ce sens puisque ce même clone n'accepte pas le melon.

*A. gossypii* présente un taux d'acceptation supérieur à celui de *M. persicae* pour toutes les espèces candidates. Il est également reconnu comme un vecteur du CABYV (Loebenstein & Lecoq, 2012). Ainsi, une nouvelle inoculation utilisant le puceron du melon permettrait d'apporter des résultats fiables.

Une autre hypothèse de cet échec de transmission se tourne vers la virulence de la souche utilisée. Celle-ci pourrait se montrer moins agressive sur melon et sur les plantes candidates qu'elle ne l'est sur physalis. Pour pallier à cette éventualité, un prochain test devrait inclure des physalis comme témoins (Lecoq, 2013, communication personnelle).

## IV. Conclusion et perspectives

---

Cette étude caractérise différentes espèces végétales vis-à-vis des trois espèces de pucerons les plus fréquentes sur melon. Elle se concentre sur la détection de plantes de service aux propriétés répulsives ou pouvant induire des effets non-intentionnels sur la culture de melon. La méthode d'olfactométrie permet de statuer sur le caractère attractif, répulsif ou neutre d'une plante vis-à-vis d'une espèce de puceron. Un test d'acceptation permet ensuite de déduire les capacités d'établissement de ce puceron sur la plante testée. Un test de transmission appuyé par une méthode de détection sérologique conclut sur le statut d'hôte/non-hôte de l'espèce végétale par rapport aux principaux virus des Cucurbitacées. La combinaison de ces résultats offre la possibilité de présélectionner certaines plantes candidates pour une utilisation en lutte par les volatils, et/ou pour une implantation dans des bordures végétalisées et d'en déconseiller certaines.

### Lutte par les COV

Pour ce mode de lutte, les plantes en question se doivent bien évidemment de présenter un statut répulsif pour un des pucerons visés. Cette étude met en avant plusieurs couples plante-puceron présentant ce cas de figure. Parmi eux, nous illustrerons notre raisonnement avec les deux plantes répulsives vis-à-vis d'*A. gossypii* : le basilic, le bleuet et l'œillet d'Inde. Pour pouvoir être intégrée dans une culture de melon, ces plantes ne doivent pas engendrer d'effets non-intentionnels une fois implantées. Pour éviter la création de nouveaux foyers de colonisation du puceron ou d'inoculum viral, elles doivent donc afficher un statut de non-hôte du puceron qu'elles ciblent, et ne doivent pas non plus être en mesure d'amplifier les principaux virus du melon. Ainsi, le basilic, le bleuet et l'œillet d'Inde ne sont pas des hôtes d'*A. gossypii* en conditions contrôlées mais sont tous trois des hôtes potentiels du CMV, ce qui pourrait compromettre leur utilisation en culture de melon si ce risque est confirmé au champ.

L'incorporation de plantes répulsives vis-à-vis des deux autres espèces de puceron suit le même raisonnement avec l'ajout d'une condition supplémentaire concernant *A. gossypii* qui ne doit pas être favorisé. Ainsi, dans le cas du couple marjolaine-*M. persicae*, la marjolaine présente deux caractéristiques compromettant son utilisation en culture de melon malgré son statut non-hôte de *M. persicae* et d'*A. gossypii* : elle attire *A. gossypii* et est hôte du CMV.

Pour *A. craccivora*, le basilic, bleuet, la marjolaine, la pimprenelle et le romarin sont identifiées comme répulsives. Nous avons vu qu'il n'est pas préférable d'utiliser le basilic et le bleuet dans la lutte contre *A. gossypii*, ils sont donc retirés de la liste des candidates. La marjolaine est également exclue car elle attire *A. gossypii*. La pimprenelle et le romarin sont considérés comme olfactivement neutres vis-à-vis d'*A. gossypii* et ont un statut de non-hôtes d'*A. craccivora*. Ils ne sont pas non-plus hôtes d'*A. gossypii* ni d'aucun des virus testés. Ils peuvent donc être utilisés sans risque apparent pour repousser *A. craccivora* en culture de melon.

### Incorporation dans des bordures fleuries

Dans le cas des aménagements de bordure, on recherche des plantes suffisamment attrayante pour que les pucerons s'y posent et puissent y décharger les éventuels virus dont ils sont

porteurs, sans pour autant augmenter la pression en puceron déjà existante. Dans cette optique, un statut olfactif neutre est donc préférable (Hooks & Fereres, 2006). *A. gossypii* étant le principal ravageur en question ici, les espèces végétales olfactivement neutres vis-à-vis de celui-ci sont toutes des candidates potentielles : la gesse, la pimprenelle, le romarin, le sainfoin, le souci officinal et le souci des champs. Le sainfoin, le souci officinal et le souci des champs présentent l'avantage d'être également neutres vis-à-vis d'une ou deux autres espèces de pucerons. Presque toutes ces espèces peuvent potentiellement amplifier les populations de *M. persicae* mais les résultats d'acceptation vis-à-vis de ce puceron suggèrent que le risque pour la culture de melons sera limité. Il en est de même pour les résultats d'acceptation d'*A. gossypii* sur ces plantes. En ce qui concerne les virus, le souci officinal et le souci des champs étant hôte du CMV, il est préférable de ne pas les utiliser tant que le risque réel n'a pas été évalué au champ. Étant toutes non-hôtes des virus testés, la gesse, la pimprenelle, le sainfoin et le romarin peuvent être incorporés sans aucun risque dans des aménagements enherbés et fleuris en bordure de culture de melon. Certaines de ces espèces végétales présentent des potentiels biotiques non nuls, mais les quelques individus engendrés peuvent servir de proies alternatives bénéfiques pour les auxiliaires que l'on souhaite favoriser.

En parallèle des préconisations d'utilisation présentées ici, l'analyse conjointe des résultats des tests d'olfactométrie, d'acceptation et de potentiel biotique pourraient également servir à éclairer les mécanismes de recherche et d'acceptation des plantes hôtes de ces trois pucerons comme le poids des différents stimuli dans le choix de sa plante hôte. Le perfectionnement de ces techniques de caractérisation du végétal trouve son importance dans un contexte où d'autres méthodes de lutte basées sur des propriétés similaires sont en plein essor. Ces techniques peuvent en effet appuyer le développement de telles méthodes en présélectionnant des espèces végétales candidates. On peut par exemple citer les plantes pièges qui vise à concentrer les ravageurs vers des plantes plus attractives que la culture où se concentre la lutte (Shelton & Badenes-Perez, 2006). On parle aussi de la méthode « push-pull » combinant des plantes répulsives à l'intérieur des parcelles et des plantes attractives à l'extérieur dans le but de rediriger les bioagresseurs vers des plantes pièges. Dans une optique un peu similaire, l'utilisation de plantes répulsives aromatiques peut être valorisée par des systèmes en cultures en association (Malézieux et al., 2009). L'identification des composés COV constituant le spectre d'une plante répulsive et/ou attractive peut aussi permettre d'axer la sélection des plantes vers des chémotypes<sup>5</sup> avantageux. Le développement de toutes ces méthodes et leur combinaison devant ainsi tendre à termes vers une gestion agroécologique du puceron en culture de melon.

---

<sup>5</sup> Chémotype : désigne un phénotype chimique particulier au sein d'une même espèce. Une espèce végétale peut se subdiviser en plusieurs chémotypes.

## Liste des références bibliographiques

---

- Alvarez, A.E., Garzo, E., Verbeek, M., Vosman, B., Dicke, M., Tjallingii, W.F., 2007. Infection of potato plants with potato leafroll virus changes attraction and feeding behaviour of *Myzus persicae*. *Entomol. Exp. Appl.* 125, 135–144.
- Ameline, A., Couty, A., Dugravot, S., Campan, E., Dubois, F., Giordanengo, P., 2007. Immediate alteration of *Macrosiphum euphorbiae* host plant-selection behaviour after biotic and abiotic damage inflicted to potato plants. *Entomol. Exp. Appl.* 123.
- Ara, M., Masud, M., Akanda, A., 2012. Detection of Plant Viruses in Some Ornamental Plants That Act as Alternate Hosts. *The Agriculturists* 10.
- Aviron, S., Nitsch, H., Jeanneret, P., Buholzer, S., Luka, H., Pfiffner, L., Pozzi, S., Schüpbach, B., Walter, T., Herzog, F., 2008. Ecological cross compliance promotes farmland biodiversity in Switzerland. *Front. Ecol. Environ.* 7, 247–252.
- Azizollah, M., Jamasb, N., Ali, R., Gholamreza, R., Olivera, P.-O., Ehsan, R., 2012. Aphids (Hemiptera: Aphididae) associated with grasslands of central Alborz, Iran. *Acta Entomol. Serbica* 17, 1–22.
- Ben-Issa, R., Gomez, L., Sauge, M.-H., Gautier, H., 2012. Effects of companion plants on the behavior of the green peach aphid reared on pepper plants. *IOBCwprs Bull.* 75, 23–33.
- Bertolaccini, I., Núñez-Pérez, E., Tizado, E.J., 2011. Alternative plants hosts of legume aphids and predators, in the province of León (Spain). *Cienc. E Investig. Agrar.* 38, 233–242.
- Blackman, R.L., 2000. Aphids on the world's crops: an identification and information guide, 2nd ed. ed. Wiley, Chichester, West Sussex, England ; New York.
- Bohn, G.W., Kishaba, A.N., Principe, J.A., Toba, H.H., 1973. Tolerance to melon aphid in *Cucumis melo* L. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 98, 37–40.
- Brachet, M.-L., 2011. Protection phytosanitaire en culture de melon - Les principaux ravageurs et maladies. *Info CTIFL* septembre, 18–25.
- Burgio, G., Ferrari, R., Nicoli, G., 1997. Biological and integrated control of *Aphis gossypii* in protected cucumber and melon. *Bologna Ist. Entomol.* 171–178.
- Castle, S.J., Mowry, T.M., Berger, P.H., 1998. Differential Settling by *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) on Various Virus Infected Host Plants. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 91, 661–667.
- Chapman, R.F., Bernays, E.A., Simpson, S.J., 1981. Attraction and repulsion of the aphid, *Cavariella aegopodii*, by Plant Odors. *J. Chem. Ecol.* 7, 881–888.
- Chinery, M., 2005. *Insectes de France et d'Europe occidentale*, Flammarion. ed.
- Crescenzi, A., Barbarossa, L., Gallitelli, D., Martelli, G.P., 1993. Cucumber mosaic cucumovirus populations in Italy under natural epidemic conditions and after a satellite-mediated protection test. *Plant Dis.* 77, 28–33.
- Denno, R.F., Eubanks, M.D., 2011. *Insect Ecology: Behavior, Populations and Communities*. Cambridge University Press.
- Dicke, M., Baldwin, I.T., 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the “cry for help”. *Trends Plant Sci.* 15, 167–175.

- Dixon, A.F.G., 1992. Constraints on the rate of parthenogenetic reproduction and pest status of aphids. *Invertebr. Reprod. Dev.* 22, 159–163.
- Douste-bacqué, L., 2013. Etude des dynamiques de population de puceron ailés : vers la compréhension et la gestion des épidémies virales. Bordeaux Science Agro. 52p. (Mémoire ingénieur en agronomie).
- Dudareva, N., Pichersky, E., 2008. Metabolic engineering of plant volatiles. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19, 181–189.
- Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C., 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl* 46, 387–400.
- Emden, H.F.V., Harrington, R., 2007. *Aphids as Crop Pests*. CABI.
- Finch, S., Billiald, H., Collier, R.H., 2003. Companion planting – do aromatic plants disrupt host-plant finding by the cabbage root fly and the onion fly more effectively than non-aromatic plants? *Entomol. Exp. Appl.* 109, 183–195.
- Finch, S., Collier, R., 2005. Answers to questions concerning the “Appropriate/inappropriate landing” theory of host-plant finding (Groupe de Travail « Lutte Intégrée en Culture de Légumes »). OILB / SROP, Belgique.
- Finch, S., Collier, R. h., 2000. Host-plant selection by insects – a theory based on “appropriate/inappropriate landings” by pest insects of cruciferous plants. *Entomol. Exp. Appl.* 96, 91–102.
- Griffiths, D.C., Pickett, J.A., Woodcock, C., 1982. Behaviour of alatae of *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) on chemically treated surfaces after tethered flight. *Bull. Entomol. Res.* 72, 687–693.
- Guerineau, C., Aubert, C., 1998. *Le Melon : pour un produit de qualité*. CTIFL, Paris.
- Haaland, C., Naisbit, R.E., Bersier, L.-F., 2011. Sown wildflower strips for insect conservation: a review. *Insect Conserv. Divers.* 4, 60–80.
- Hardie, J., 1989. Spectral specificity for targeted flight in the black bean aphid, *Aphis fabae*. *J. Insect Physiol.* 35, 619–626.
- Hardie, J., Powell, G., 2000. Close-up video combined with electronic monitoring of plant penetration and behavioral effects of an aphid antifeedant. *Princ. Appl. Electron. Monit. Tech. Study Homopteran Feed. Behav.* 201.
- Hooks, C.R.R., Fereres, A., 2006. Protecting crops from non-persistently aphid-transmitted viruses: A review on the use of barrier plants as a management tool. *Virus Res.* 120, 1–16.
- Hori, M., 1999a. Role of host plant odors in the host finding behaviors of aphids. *Appl Entomol Zool* 34, 293–298.
- Hori, M., 1999b. The effects of rosemary and ginger oils on the alighting behavior of *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) and on the incidence of yellow spotted streak. *Appl. Entomol. Zool.* 34, 351–358.
- Hullé, M., Turpeau-Ait Ighil, E., Robert, Y., Monnet, Y., 1999. *Les pucerons des plantes maraîchères : cycles biologiques et activités de vol*. Association de coordination technique agricole : Institut national de la recherche agronomique, Paris.
- Ibbotson, A., Kennedy, J.S., 1959. Interaction Between Walking and Probing in *Aphis Fabae* Scop. *J. Exp. Biol.* 36, 377–390.

- James, D.G., 2003. Field Evaluation of Herbivore-Induced Plant Volatiles as Attractants for Beneficial Insects: Methyl Salicylate and the Green Lacewing, *Chrysopa nigricornis*. *J. Chem. Ecol.* 29, 1601–1609.
- Jing, L., Feiyun, Z., 2007. Cloning and Sequence Analysis of Coat Protein Genes of Cucumber mosaic virus Isolated from *Tagetes erecta*. *Biotechnol. Bull.* 023.
- Kennedy, J.S., Day, M.F., Eastop, V.F., 1962. A conspectus of aphid as vectors of plant viruses. *Commonw. Institute Entomol.* 114.
- Kim, T.H., Kim, J.S., 2004. Development and Adult Life Span of *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani) (Diptera: Cecidomyiidae) Fed on the Melon Aphid, *Aphis gossypii* Glover or the Green Peach Aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Korean J. Appl. Entomol.* v. 43(4) p. 297-304.
- Kishaba, A.N., Bohn, G.W., Toba, H.H., 1971. Resistance to *Aphis gossypii*1 in Muskmelon 2,3. *J. Econ. Entomol.* 64, 935–937.
- Kogel, W.J. de, Visser, J.H., Tol, R.W.H.M. van, 2000. Repellent odours to protect crops from aphids. *Agro Food Ind. Hi-Tech* 11, 42–44.
- Kostal, V., Finch, S., 1994. Influence of background on host-plant selection and subsequent oviposition by the cabbage root fly (*Delia radicum*). *Entomol. Exp. Appl.* 70, 153–163.
- Landis, D.A., Wratten, S.D., Gurr, G.M., 2000. Habitat Management to Conserve Natural Enemies of Arthropod Pests in Agriculture. *Annu. Rev. Entomol.* 45, 175–201.
- Langellotto, G.A., Denno, R.F., 2004. Responses of invertebrate natural enemies to complex-structured habitats: a meta-analytical synthesis. *Oecologia* 139, 1–10.
- Leclant, F., 2000. Les Pucerons des plantes cultivées : clefs d'identification. 3, Cultures fruitières. Editions Quae.
- Lecoq, H., 1999. Epidemiology of Cucurbit aphid-borne yellows virus. *The Luteoviridae*, (H.G. Smith and Barkers, eds), CAB International, Wallingford, UK. 243–248.
- Lecoq, H., Bourdin, D., Wipf-Scheibel, C., Bon, M., Lot, H., Lemaire, O., Herrbach, E., 1992. A new yellowing disease of cucurbits caused by a luteovirus, cucurbit aphid-borne yellows virus. *Plant Pathol.* 41, 749–761.
- Lecoq, H., Desbiez, C., 2008. Watermelon mosaic virus and Zucchini yellow mosaic virus. *Encycl. Virol.* Third Ed Elsevier.
- Lecoq, H., Wipf-Scheibel, C., Chandeysson, C., Lê Van, A., Fabre, F., Desbiez, C., 2009. Molecular epidemiology of Zucchini yellow mosaic virus in France: An historical overview. *Virus Res.* 141, 190–200.
- Lisa, V., Valle, G. della, 1979. Isolation of two viruses from *Calendula officinalis* in Liguria [North Italy]. *Inf. Fitopatol.* v. 29(11-12) p. 7-9.
- Loebenstein, G., Lecoq, H., 2012. Viruses and virus diseases of vegetables in the Mediterranean basin. Elsevier Academic, Amsterdam.
- Lopes, C., 2007. Dynamique d'un système hôte-parasitoïde en environnement spatialement hétérogène et lutte biologique Application au puceron *Aphis gossypii* et au parasitoïde *Lysiphlebus testaceipes* en serre de melons. AgroParisTech.
- M F Clark, A.N.A., 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34, 475–83.

- Maffei, M.E., Mithöfer, A., Boland, W., 2007. Insects feeding on plants: Rapid signals and responses preceding the induction of phytochemical release. *Phytochemistry* 68, 2946–2959.
- Malet, J.-C., Noyer, C., Maisonneuve, J.-C., Canard, M., 1994. *Chrysoperla lucasina* (Lacroix) (Neur., Chrysopidae), prédateur potentiel du complexe méditerranéen des *Chrysoperla* Steinmann: premier essai de lutte biologique contre *Aphis gossypii* Glover (Hom., Aphididae) sur melon en France méridionale. *J. Appl. Entomol.* 118, 429–436.
- Malézieux, E., 2011. Designing cropping systems from nature. *Agron. Sustain. Dev.* 32, 15–29.
- Malézieux, E., Crozat, Y., Dupraz, C., Laurans, M., Makowski, D., Ozier-Lafontaine, H., Rapidel, B., Tourdonnet, S. de, Valantin-Morison, M., 2009. Mixing Plant Species in Cropping Systems: Concepts, Tools and Models: A Review, in: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S., Alberola, C. (Eds.), *Sustainable Agriculture*. Springer Netherlands, pp. 329–353.
- Marini, E., 1955. Una virosi apparsa sul basilic (*Ocimum basilicum*). *Riv. Dell Ortoflorofrutticoltura Ital.* 360–362.
- Masuta, C., Seshimo, Y., Mukohara, M., Jung, H.J., Ueda, S., Ryu, K.H., Choi, J.K., 2002. Evolutionary Characterization of Two Lily Isolates of Cucumber mosaic virus Isolated in Japan and Korea. *J. Gen. Plant Pathol.* 68, 163–168.
- Medina-Ortega, K.J., Bosque-Pérez, N.A., Ngumbi, E., Jiménez-Martínez, E.S., Eigenbrode, S.D., 2009. *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae) Responses to Volatile Cues from Barley Yellow Dwarf Virus-Infected Wheat. *Environ. Entomol.* 38, 836–845.
- Neal, J.J., Tingey, W.M., Steffens, J.C., 1990. Sucrose esters of carboxylic acids in glandular trichomes of *Solanum berthaultii* deter settling and probing by green peach aphid. *J. Chem. Ecol.* 16, 487–497.
- Nentwig, W., Frank, T., Lethmayer, C., 1998. Sown weed strips: artificial ecological compensation areas as an important tool in conservation biological control, in: *Conservation Biological Control*. San Diego, pp. 133–153.
- Ninkovic, V., Glinwood, R., Dahlin, I., 2009. Weed–barley interactions affect plant acceptance by aphids in laboratory and field experiments. *Entomol. Exp. Appl.* 133, 38–45.
- Nottingham, S.F., Hardie, J., 1993. Flight behaviour of the black bean aphid, *Aphis fabae*, and the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*, in host and non-host plant odour. *Physiol. Entomol.* 18, 389–394.
- Nottingham, S.F., Hardie, J., Dawson, G.W., Hick, A.J., Pickett, J.A., Wadhams, L.J., Woodcock, C.M., 1991. Behavioral and electrophysiological responses of Aphids to host and nonhost plant volatiles. *J. Chem. Ecol.* 17, 1231–1242.
- Okuno, K., Kameya-Iwaki, M., Takeshita, M., Furuya, N., Takanami, Y., 2002. A Cucumber mosaic virus Isolated from *Silene armeria*. *J. Gen. Plant Pathol.* 68, 108–109.
- Pelletier, Y., 1990. The role of the color of the substratum on the initiation of the probing behavior in *Myzus persicae* (Sulzer) and *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Homoptera: Aphididae). *Can. J. Zool.* 68, 694–698.

- Pettersson, J., Karunaratne, S., Ahmed, E., Kumar, V., 1998. The cowpea aphid, *Aphis craccivora*, host plant odours and pheromones. *Entomol. Exp. Appl.* 88, 177–184.
- Pickett, J.A., Wadhams, L.J., Woodcock, C.M., Hardie, J., 1992. The Chemical Ecology of Aphids. *Annu. Rev. Entomol.* 37, 67–90.
- Pitrat, M., Lecoq, H., 1982. Relations génétiques entre les résistances par non-acceptation et par antibiose du melon à *Aphis gossypii*. Recherche de liaisons avec d'autres genes [pucerons, heredite, transmission de virus, liaison genetique; Cucumis melo]. *Agronomie* 2.
- Plantegenest, M., Le Ralec, A., 2007. Lutter contre les pucerons en respectant l'environnement. *Biofutur* 279, 31–34.
- Powell, G., Hardie, J., Pickett, J.A., 1995. Behavioural evidence for detection of the repellent polygodial by aphid antennal tip sensilla. *Physiol. Entomol.* 20, 46–141.
- Powell, G., Maniar, S.P., Pickett, J.A., Hardie, J., 1999. Aphid responses to non-host epicuticular lipids, in: Simpson, S.J., Mordue, A.J., Hardie, J. (Eds.), *Proceedings of the 10th International Symposium on Insect-Plant Relationships, Series Entomologica*. Springer Netherlands, pp. 115–123.
- Powell, G., Tosh, C.R., Hardie, J., 2006. Host plant selection by aphids: Behavioral, Evolutionary, and Applied Perspectives. *Annu. Rev. Entomol.* 51, 309–330.
- Price, W.C., 1940. Comparative Host Ranges of Six Plant Viruses. *Am. J. Bot.* 27, 530–541.
- R Development Core Team, 2005. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Raj, S.K., Chandra, G., Singh, B.P., 1997. Some Indian strains of cucumber mosaic virus (CMV) lacking satellite RNA. *Indian J. Exp. Biol.* 35, 1128–1131.
- Roush, R.T., Plapp, F.W., 1982. Effects of Insecticide Resistance on Biotic Potential of the House Fly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 75, 708–713.
- Shambaugh, G.F., Frazier, J.L., Castell, A.E.M., Coons, L.B., 1978. Antennal sensilla of seventeen aphid species (homoptera: Aphidinae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 7, 389–404.
- Shelton, A.M., Badenes-Perez, F.R., 2006. Concepts and Applications of Trap Cropping in Pest Management. *Annu. Rev. Entomol.* 51, 285–308.
- Storer, J.R., Powell, G., Hardie, J., 1996. Settling responses of aphids in air permeated with non-host plant volatiles. *Entomol. Exp. Appl.* 80, 76–78.
- Straub, C.S., Finke, D.L., Snyder, W.E., 2008. Are the conservation of natural enemy biodiversity and biological control compatible goals? *Biol. Control* 45, 225–237.
- Suteri, B.D., Joshi, C.C., Bala, S., 1979. Some ornamentals and weeds as reservoirs of potato virus Y and cucumber mosaic virus in Kumaon. *Indian Phytopathol.* 32, 640.
- Szendrei, Z., Rodriguez-Saona, C., 2010. A meta-analysis of insect pest behavioral manipulation with plant volatiles. *Entomol. Exp. Appl.* 134, 201–210.
- Tomova, B.S., Waterhouse, J.S., Doberski, J., 2005. The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on aphid reproduction. *Entomol. Exp. Appl.* 115, 153–159.
- Valiela, F., 1995. *Virus patógenos de las plantas y su control*, Cuarta edición. ed. Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria, Buenos Aires.

- Visser, J.H., 1986. Host Odor Perception in Phytophagous Insects. *Annu. Rev. Entomol.* 31, 121–144.
- Webster, B., 2012. The role of olfaction in aphid host location. *Physiol. Entomol.* 37, 10–18.
- Wellman, F.L., 1935. The host range of the southern celery mosaic virus. *Phytopathology* 25, 377.
- Wezel, A., Bellon, S., Doré, T., Francis, C., Vallod, D., David, C., 2011. Agroecology as a Science, a Movement and a Practice, in: Lichtfouse, E., Hamelin, M., Navarrete, M., Debaeke, P. (Eds.), *Sustainable Agriculture Volume 2*. Springer Netherlands, pp. 27–43.
- Zaitlin, M., Anderson, J.M., Perry, K.L., Zhang, L., Palukaitis, P., 1994. Specificity of Replicase-Mediated Resistance to Cucumber Mosaic Virus. *Virology* 201, 200–205.
- Zhu, J., Park, K.-C., 2005. Methyl Salicylate, a Soybean Aphid-Induced Plant Volatile Attractive to the Predator *Coccinella septempunctata*. *J. Chem. Ecol.* 31, 1733–1746.

## Sitographie

---

- APREL, CEHM, 2013. Protection du melon Serre et plein champ.  
[http://www.herault.chambagri.fr/fileadmin/Pub/CA34/Internet\\_CA34/Documents\\_Internet\\_CA34/AP-FL-technique/Melon\\_2013.pdf](http://www.herault.chambagri.fr/fileadmin/Pub/CA34/Internet_CA34/Documents_Internet_CA34/AP-FL-technique/Melon_2013.pdf) (consulté le 12/08/2013)
- Agreste, 2013. Agreste conjecture. Agreste.  
<http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/saa2013T5spca.pdf> (consulté le 26/07/2013)
- CIRAD, 2007. Dynamique des populations et potentiel biotique. Les Criquets Ravageurs.  
[http://locust.cirad.fr/tout\\_savoir/dynpop/dynampop\\_1.html](http://locust.cirad.fr/tout_savoir/dynpop/dynampop_1.html) (consulté le 30/07/2013)
- CIVAM Bio, 2012. Fiche technique : le melon sous abris froid en Roussillon.  
<http://www.sud-et-io.com/sites/default/files/Fiche%20Protection%20Phyto%20Melon%20sous%20abri.pdf> (consulté le 07/07/2013)
- E-phy, 2013. CATALOGUE DES USAGES ACTUEL > MELON. E-Phy.  
<http://e-phy.agriculture.gouv.fr/> (consulté le 20/07/2013)
- Evelyne Turpeau, M.H., 2013. Virus circulants.  
<https://www6.inra.fr/encyclopedie-pucerons/Pucerons-et-agriculture/Virus/Virus-circulants> (consulté le 09/08/2013).
- Fralval, A., 1999. Insectes auxiliaires : la lutte biologique. INRA Opie-Insectes.  
<http://www7.inra.fr/opie-insectes/luttebio.htm> (consulté le 27/06/2013).
- Lecoq, H., 2013. Virus transmis par pucerons. E-Phytia.  
<http://ephytia.inra.fr/fr/Contents/view/7661> (consulté le 09/07/2013).
- Lecoq, H., Pitrat, M., Mayet, V., Chamont, S., Arnaud, J.-M., Blancard, D., 2012. Melon. E-Phytia. <http://147.100.108.242/index.php?portail=LEGUMES&produit=melon> (consulté le 15/06/2013)

- Leroy, P., Capella, Q., Haubruge, E., 2009. L'impact du miellat de puceron au niveau des relations tritrophiques entre les plantes-hôtes, les insectes ravageurs et leurs ennemis naturels <http://orbi.ulg.ac.be/handle/2268/36038> (consulté le 18/08/2013).
- LNPV, 2010. Techniques ELISA : Bactériologie/Virologie (Réf. : MOA 008 version 1a ). <http://www.anses.fr/sites/default/files/documents/LABO-Ft-MOA008-ELISA.pdf> (consulté le 04/05/2013)
- MAAF, 2013. EcophytoPIC. Agriculture.gouv.fr. <http://agriculture.gouv.fr/Auxiliaires-lachers-inondatifs> (consulté le 14/07/2013)
- Maffei, M., 2010. Essay 13.7 : The Plant Volatilome. Plant Physiol. Fifth Ed. Online. <http://5e.plantphys.net/article.php?ch=&id=520> (consulté le 10/08/2013).
- Maynard, David, Maynard, Donald, M., 1997. II.C.6. - Cucumbers, Melons, and Watermelons. Camb. World Hist. Food. <http://www.cambridge.org/us/books/kiple/cucumbers.htm> (consulté le 17/07/2013)
- Mazollier, C., 2011. La Conduite du melon en agriculture biologique. <http://www.grab.fr/wp-content/uploads/2011/07/mazollier-melon-bio-MIFFEL-2011.pdf> (consulté le 17/06/2013)
- Murphy, G., Ferguson, G., Shipp, L., 2006. Les pucerons en serriculture. Ont. Ministère Agric. Aroalimentaire. <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/06-082.htm> (consulté le 24/08/2013).
- SAID AGRI, 2013. Etude Technique du melon. SAID AGRI. <http://www.said-agri.net/la-conduite-technique/etude-technique-du-melon/> (consulté le 18/08/2013).

# Annexes

---

## Annexe I. Illustration de l'appareil olfactif d'un puceron

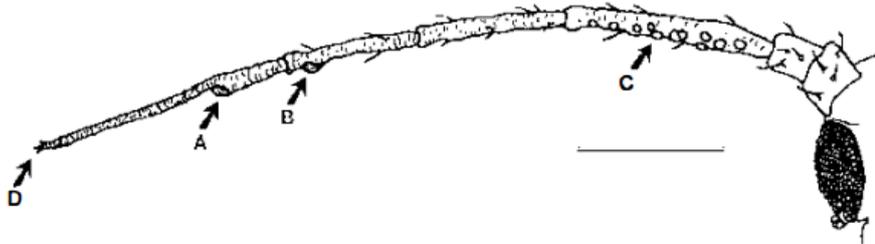


Figure 13. Schématisation d'une antenne de puceron illustrant l'appareil olfactif. La barre représente 0,25 mm. (A) Rhinarie primaire de l'extrémité distale ; (B) Rhinarie primaire de l'extrémité proximale ; (C) Rhinaries secondaire ; (D) Processus terminalis. (Pickett et al., 1992)

## Annexe II. Littérature pour la sélection des plantes de service aromatiques

Tableau 7. Liste des plantes de service présélectionnées par Ben-Issa et al. (2012).

Common name	Latin name	Plant family	Aphid specie	Specific action	Effect	Experiment	Source
Rosemary	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Myzus persicae</i>	essential oil	repellent	field, laboratory	Hori 1998
Basil	<i>Ocimum basilicum</i>	<i>Lamiaceae</i>	<i>Aphis citricola</i>	intact plant	repellent	field	Beizhou et al. 2010
Pot marigold	<i>Calendula officinalis L.</i>	<i>Asteraceae</i>	<i>Brevicoryne brassicae L</i>	intact plant	repellent	field	Jankowska et al. 2009
French marigold	<i>Tagetes patula nana L</i>	<i>Asteraceae</i>	<i>Brevicoryne brassicae L</i>	intact plant	repellent	field	Jankowska et al. 2009

### Annexe III. Caractéristiques de la solution nutritive employée

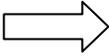
Tableau 8. Détails du produit fertilisant soluble *Fertiplant 11* fourni par la société Plantin

N				P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	MgO	SO <sub>3</sub>
Total	Nitrique	Ammoniacal	Uréique				
16	10,5	5,5		10	24	3	6
Fer	Bore	Manganèse	Cuivre	Zinc	Molybdène	Équilibre	
40 g EDDHA	25 g	60 g	3 g	15 g	3 g	1-0,62-1,5	

**Annexe IV. Protocole détaillé du test d'olfactométrie**



**1**



**2**



**3**



**4**



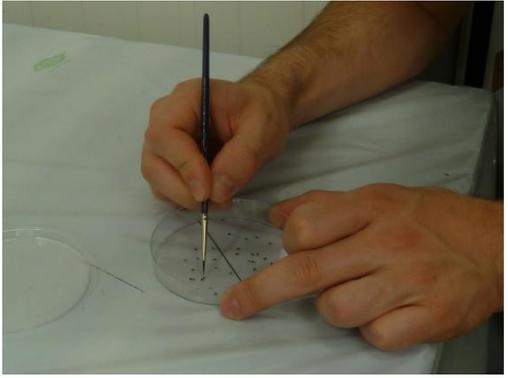
**5**



**6**



**7**



**8**



9

Éteindre la lumière

Allumer la ventilation

10

- 1) Prélever 8 x 30 pucerons. Et prévoir une petite boîte dans laquelle on prélève 2-3 pucerons en extra pour remplacer les éventuels pucerons qui mourraient pendant la période de jeûne.
- 2) Mettre les pucerons à jeûner dans la boîte noire pour 1h, à plat.
- 3) Disposer les boîtes (chambre intermédiaire et supérieure) de manière aléatoire dans la pièce.
- 4) Disposer les plantes de service.
- 5) Disposer les melons, si besoin.
- 6) Introduire les plantes dans la chambre supérieure en veillant à mettre à peu près autant de biomasse et/ou de surface foliaire de chaque côté de la chambre supérieure. Toujours commencer par la boîte à l'entrée de la pièce et finir par celle au fond.
- 7) Plantes mises en place.
- 8 et 9) Disposer une boîte de pucerons sur chaque plateau.  
A partir de là tous les éléments suivants sont à répéter **olfactomètre par olfactomètre !**  
Répartir de manière à peu près homogène les pucerons dans la boîte : environ 15 de chaque côté. Penser à déplacer légèrement chacun des pucerons pour homogénéiser le stress provoqué par le repositionnement. Et positionner la chambre intermédiaire sur la chambre inférieure, et positionnez le tout sous la chambre supérieure (étape 9).  
Respecter l'ordre des répétitions : d'abord les boîtes côté entrée...
- 10) Une fois toutes les boîtes terminées, éteindre la lumière et activer la ventilation.
- 11) A T=20 min, arrêter la ventilation, entrouvrir la porte et ne pas allumer la lumière. Sortir le complexe chambre inférieure/chambre intermédiaire du dispositif, l'ouvrir, le photographier, puis le refermer et le replacer dans le dispositif. Faire de même pour les 7 autres dispositifs. Le tout doit être fait le plus délicatement possible !  
Remettre la ventilation.
- 12) A T=60 min, arrêter la ventilation, allumer la lumière puis photographier chaque boîte comme décrite dans le point 11).
- 13) Retirer les plantes, supprimer les pucerons puis nettoyer l'ensemble du dispositif à l'alcool à 70%.

## Annexe V. Comportement des pucerons dans le dispositif à vide ('blanc vs blanc')

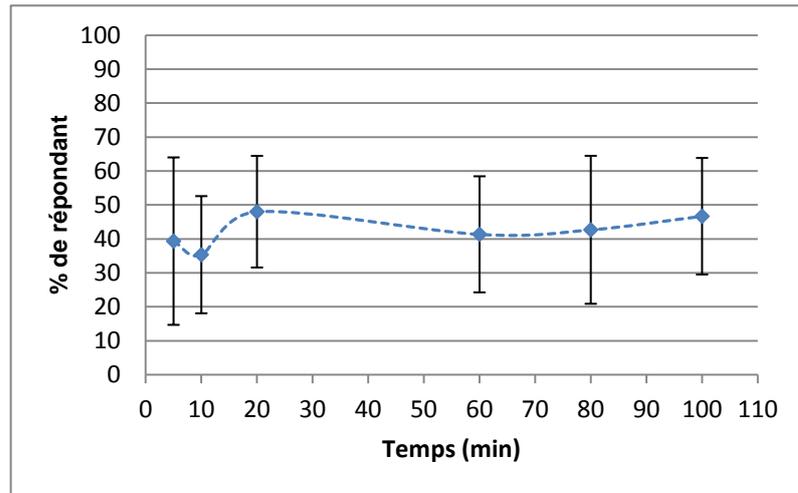


Figure 15. Évolution du % de répondeur au cours du temps du dispositif à vide pour *M. persicae*. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

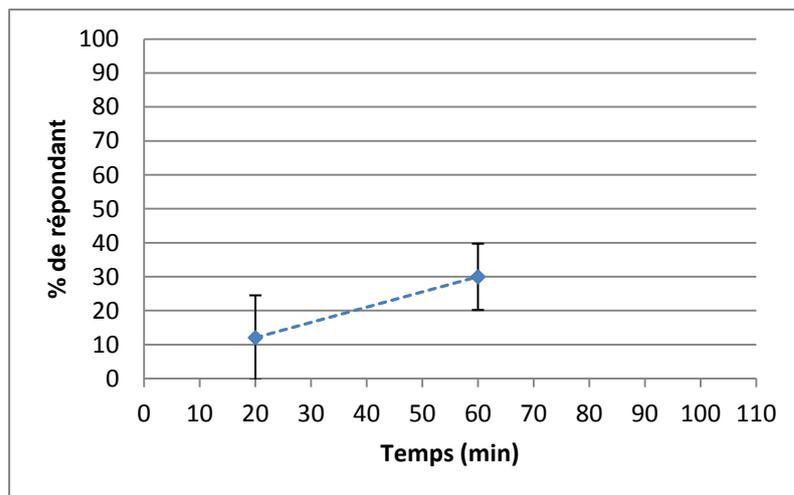


Figure 14. Évolution du % de répondeur au cours du temps du dispositif à vide pour *A. gossypii*. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

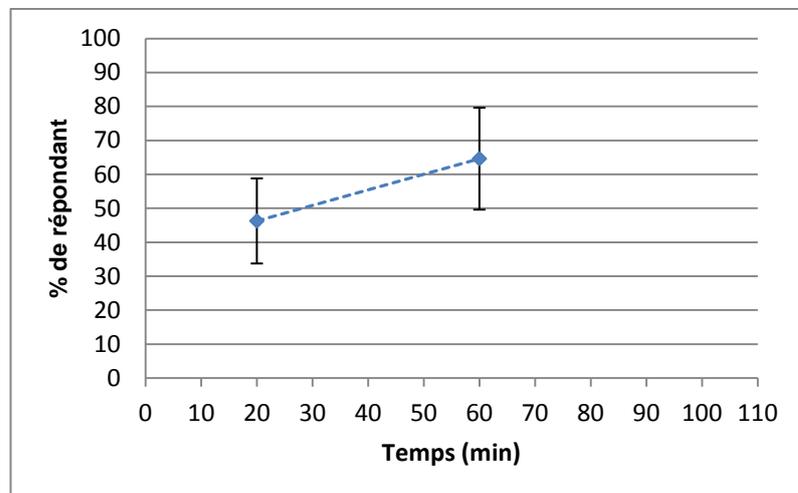


Figure 16. Évolution du % de répondeur au cours du temps du dispositif à vide pour *A. craccivora*. Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

## Annexe VI. Plans des microplaques utilisés en détection DAS-ELISA.

ELISA N° : T.C												
Tampon :		Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> +Dieca						Date : 24-25/07/13				
Nature :		Plantes de service										
Virus		WMV	ZYMV	CMV	CABYV							
IgG:		1/1000	1/1000	1/2000	1/1000							
Conjugué:		1/2000	1/4000	1/4000	1/2000	Volume / puits: 150 µl						
Plaque:		WMV, ZYMV, CMV inoc 1 (Broyat : 1/10 sauf CMV : 1/10 et 1/100)										
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>A</b>												
<b>B</b>	T	TS B1	TS O1	B1	B4	Ca3	Co2	O1	O4	R3	M2	
<b>C</b>	A	TS B1	TS O1	B1	B4	Ca3	Co2	O1	O4	R3	M2	
<b>D</b>	M	TS Ca1	TS R1	B2	Ca1	Ca4	Co3	O2	R1	R4	TM	
<b>E</b>	P	TS Ca1	TS R1	B2	Ca1	Ca4	Co3	O2	R1	R4	TM	
<b>F</b>	O	TS Co1	TS M1	B3	Ca2	Co1	Co4	O3	R2	M1		
<b>G</b>	N	TS Co2	TS M1	B3	Ca2	Co1	Co4	O3	R2	M1		
<b>H</b>												
(B) Basilic, (Ca) Calendula arvensis, (Co) Calendula officinalis, (O) Œillet d'Inde, (R) Romarin, (M) Melc												
Plaque:		WMV, ZYMV, CMV inoc 2 (Broyat : 1/10 sauf CMV : 1/10 et 1/100)										
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>A</b>												
<b>B</b>	T	TS B2	TS O2	B5	B8	Ca7	Co6	O5	O8	R7	M6	
<b>C</b>	A	TS B2	TS O2	B5	B8	Ca7	Co6	O5	O8	R7	M6	
<b>D</b>	M	TS Ca2	TS R2	B6	Ca5	Ca8	Co7	O6	R5	R8	TM	
<b>E</b>	P	TS Ca2	TS R2	B6	Ca5	Ca8	Co7	O6	R5	R8	TM	
<b>F</b>	O	TS Co2	TS M2	B7	Ca6	Co5	Co8	O7	R6	M5		
<b>G</b>	N	TS Co2	TS M2	B7	Ca6	Co5	Co8	O7	R6	M5		
<b>H</b>												

								<b>ELISA N° : T.C</b>				
Tampon :		<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>+Dieca</b>						<b>Date : 24-25/07/13</b>				
Nature :		<b>Plantes de service</b>										
Virus:		<b>WMV</b>	<b>ZYM</b>	<b>CMV</b>	<b>CABYV</b>							
IgG:		<b>1/1000</b>	<b>1/1000</b>	<b>1/2000</b>	<b>1/1000</b>							
Conjugué:		<b>1/2000</b>	<b>1/4000</b>	<b>1/4000</b>	<b>1/2000</b>			Volume / puits: <b>150</b> µl				
Plaque:		<b>CABYV FIP inoc 1 (Broyat : 1/10)</b>										
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>A</b>												
<b>B</b>	T	TS B1	TS O1	B1	B4	Ca3	Co2	O1	O4	R3		
<b>C</b>	A	TS B1	TS O1	B1	B4	Ca3	Co2	O1	O4	R3		
<b>D</b>	M	TS Ca1	TS R1	B2	Ca1	Ca4	Co3	O2	R1	R4		
<b>E</b>	P	TS Ca1	TS R1	B2	Ca1	Ca4	Co3	O2	R1	R4		
<b>F</b>	O	TS Co1	TS M1	B3	Ca2	Co1	Co4	O3	R2	TM CABY V		
<b>G</b>	N	TS Co2	TS M1	B3	Ca2	Co1	Co4	O3	R2	TM CABY V		
<b>H</b>												
(B) Basilic, (Ca) Calendula arvensis, (Co) Calendula officinalis, (O) Œillet d'Inde, (R) Romarin												
Plaque:		<b>CABYV FIP inoc 2 (Broyat : 1/10)</b>										
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>
<b>A</b>												
<b>B</b>	T	TS B2	TS O2	B5	B8	Ca7	Co6	O5	O8	R7		
<b>C</b>	A	TS B2	TS O2	B5	B8	Ca7	Co6	O5	O8	R7		
<b>D</b>	M	TS Ca2	TS R2	B6	Ca5	Ca8	Co7	O6	R5	R8		
<b>E</b>	P	TS Ca2	TS R2	B6	Ca5	Ca8	Co7	O6	R5	R8		
<b>F</b>	O	TS Co2	TS M2	B7	Ca6	Co5	Co8	O7	R6	TM CABY V		
<b>G</b>	N	TS Co2	TS M2	B7	Ca6	Co5	Co8	O7	R6	TM CABY V		
<b>H</b>												



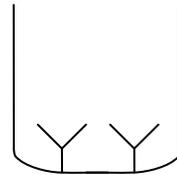
## Annexe VII. Principe du DAS-ELISA

1- Dépôt des anticorps (IgG) spécifiques d'un virus.

Incubation 3h à 37°C

Adsorption des anticorps spécifiques au fond des puits

Rinçage de la plaque à l'eau puis au PBS tween.

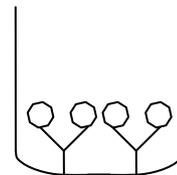


2- Dépôt de l'extrait de plante à tester.

Incubation une nuit à 4°C.

Formation du complexe virus-anticorps, si la plante est infectée.

Rinçage de la plaque à l'eau puis au PBS tween.

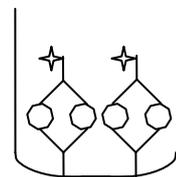


3- Addition du conjugué composé d'anticorps spécifiques couplés à la phosphatase alcaline.

Incubation 3h à 37°C.

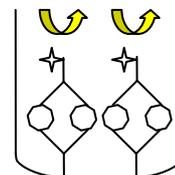
Fixation du conjugué sur le virus s'il est présent.

Rinçage de la plaque à l'eau puis au PBS tween.



4- Addition du substrat de l'enzyme.

Hydrolyse du substrat donnant une couleur jaune mesurée à 405nm



## Annexe VIII. Composition des différents tampons utilisés lors du test de transmission des virus

Tableau 9. Composition des différents tampons utilisés lors du test de transmission des virus.  
q.s.p : quantité suffisante pour

Nom du tampon	Composants	q.s.p 1Litre	pH
PBS	H2O distillée	1 L	
	NaCl	8 g	
	Na2HPO4 12H2O	2,9 g	
	KH2PO4	0,2 g	
	KCl	0,2 g	
Tampon de rinçage PBS Tween	PBS	1 L	
	Tween 20	0,5 ml	7,4
Tampon de dilution des IgG	H2O distillée	1 L	
	Na2CO3	1,6 g	9,6
	NaHCO3	3 g	
Tampon de dilution du conjugué	PVP	20 g	
	OVALBUMINE	2g	7,1 - 7,3
	NaN3	0.2g	
	PBS Tween	ajusté à 1 L	
Tampon substrat	H2O distillée	800 ml	amené à 9,8
	Diethanolamine	97 ml avec HCl fumant ajusté à 1 L	
Tampon d'extraction	Na2HPO4	0,03M	
	DIECA	0,20%	

## Annexe IX. Spectre COV de la marjolaine à deux stades phénologiques

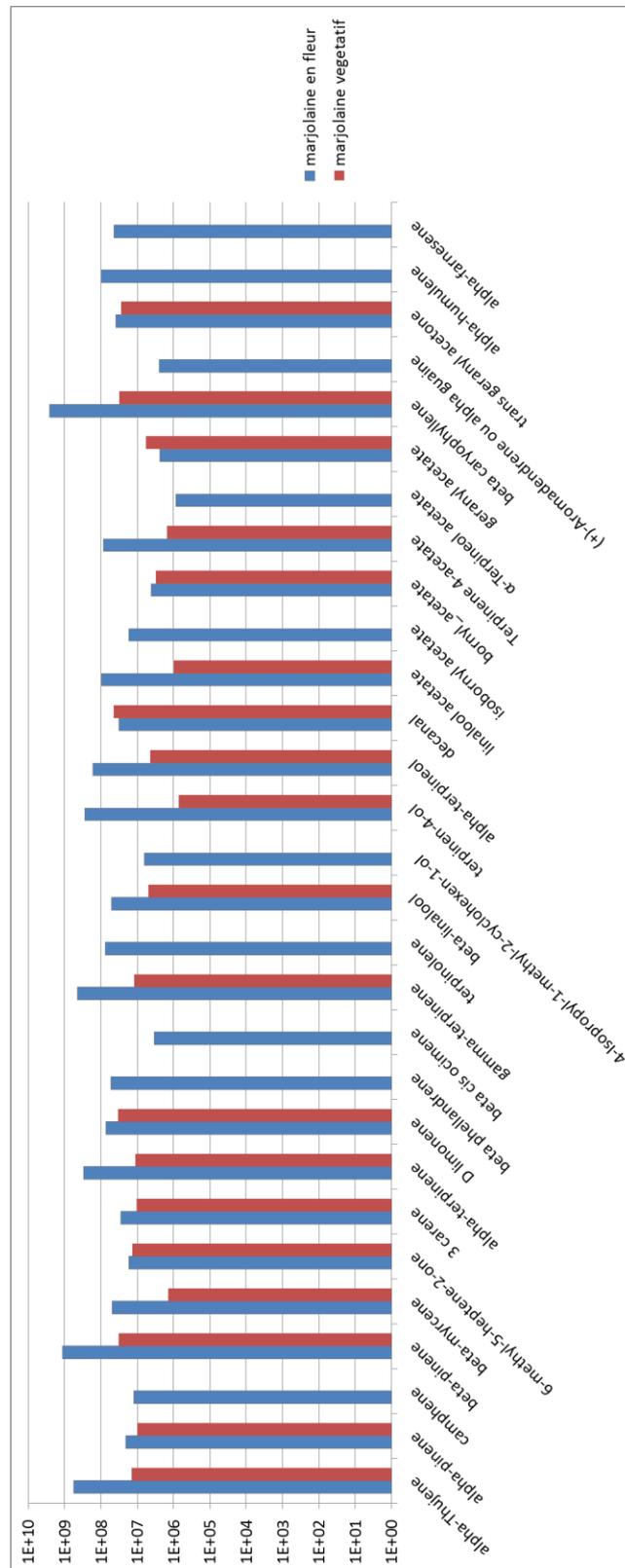


Figure 17. Spectre COV de la marjolaine au stade végétatif et floral.

**Annexe X. Observations au des certains virus au Microscope Electronique à Transmission (MET)**

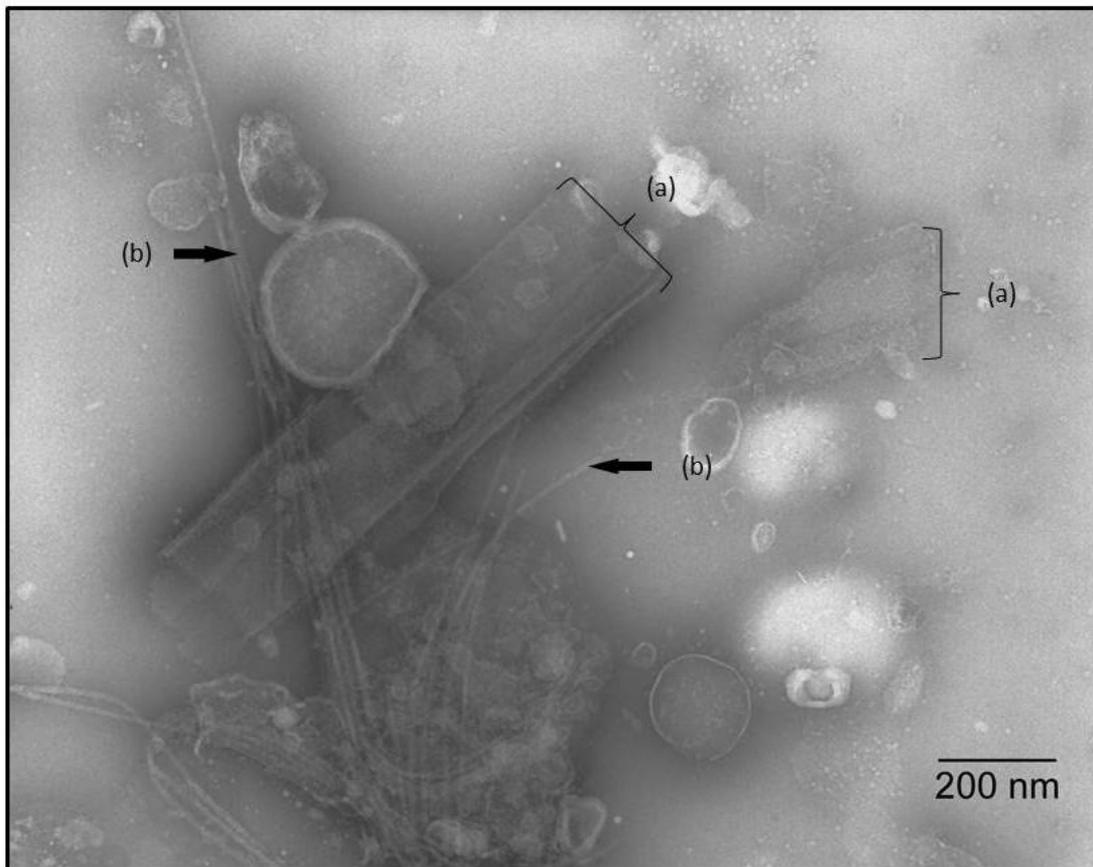


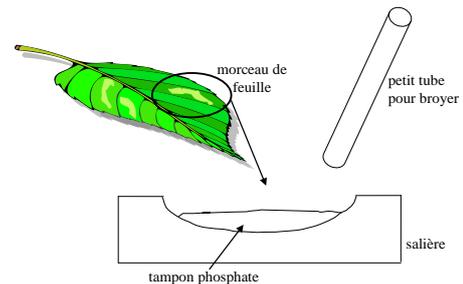
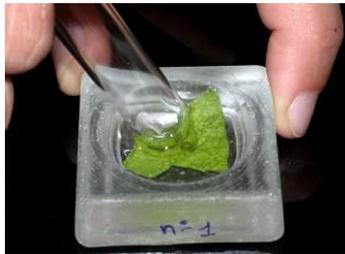
Figure 18. Photographie au MET d'un échantillon de souci des champs contenant le WMV, souche LL1A (x 27500). (a) : pinweels ; (b) : flexueux.

## Annexe XI. Fiche explicative du principe de la Microscopie Electronique à Transmission (document interne)

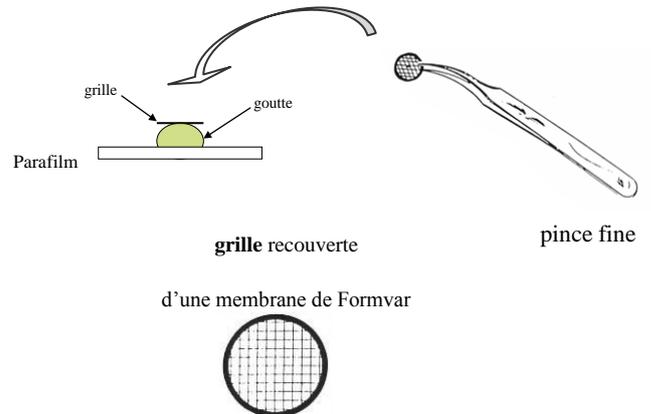
### Préparation d'un échantillon pour observation au microscope électronique à transmission (MET) : technique de coloration négative par Isabelle Bornard

#### • Préparation :

- Préparer un extrait brut de la plante malade en broyant un morceau de feuille dans du tampon phosphate.

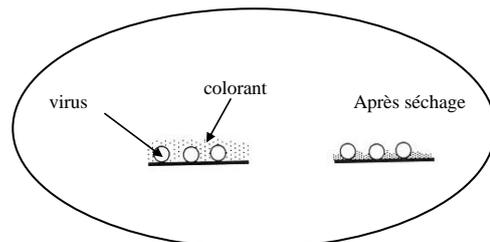
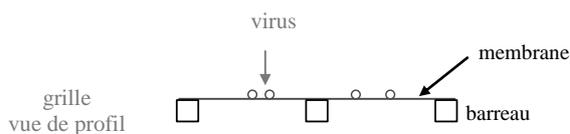


- Déposer une goutte de l'extrait obtenu sur du Parafilm et mettre en contact avec une grille de microscopie.

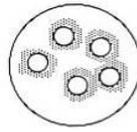


- Les particules virales vont se coller sur la membrane.

- On ajoute un colorant (molybdate d'ammonium ou acétate d'uranyle) pour permettre leur observation sous le microscope électronique.

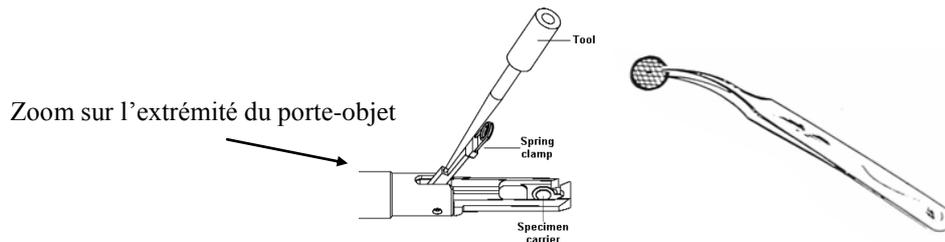


Ce traitement donne du contraste : les particules virales apparaissent en clair sur un fond sombre.



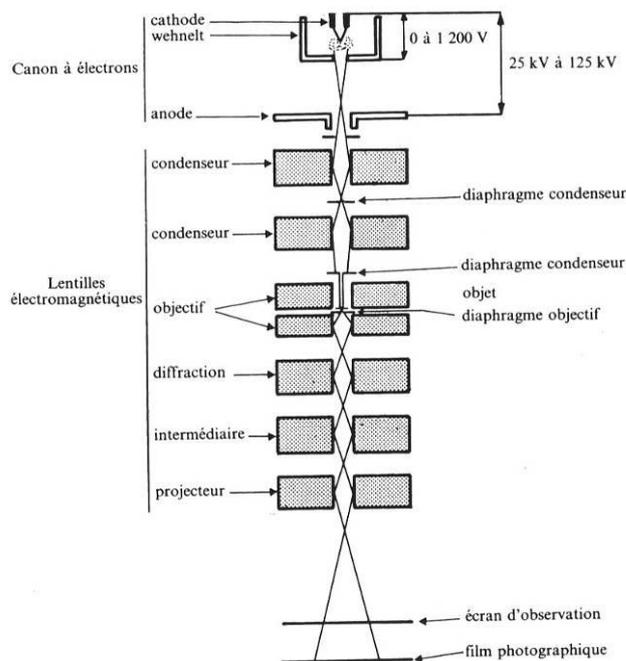
• **Observation :**

Les grilles sont positionnées à l'extrémité du porte-objet du microscope.



Le porte-objet est introduit dans la colonne du microscope via un sas, ce qui permet de préserver le vide.

- **Le microscope :** schéma et photo d'un microscope électronique à transmission (MET) :



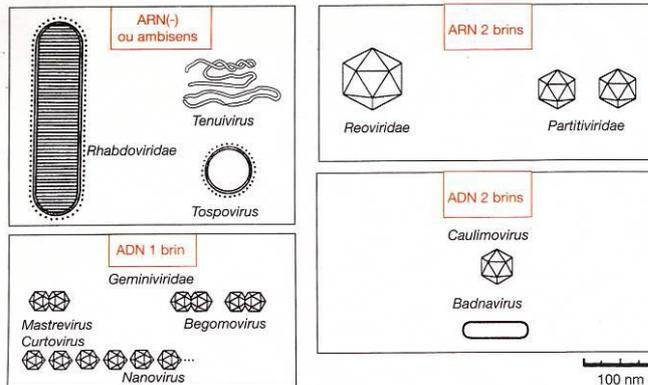
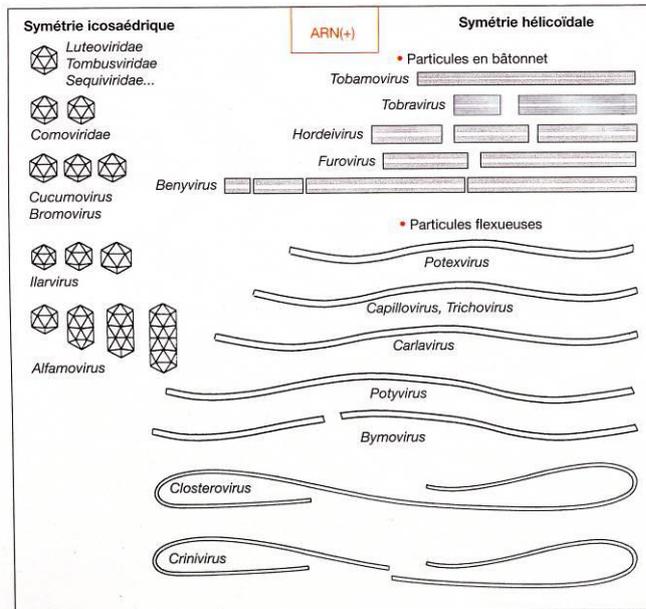
La forme et la taille des particules sont caractéristiques d'un genre de virus.

L'observation nous permet d'orienter le diagnostic selon deux grands groupes morphologiques :

- particules parasphériques
- particules allongées (bâtonnets rigides ou flexueux)

Il existe aussi quelques morphologies particulières comme les particules bacilliformes, les particules doubles et les pléomorphes.

- Schéma illustrant la **classification des virus** des plantes en fonction de leur morphologie :  
(tous les genres ne sont pas mentionnés)







Diplôme : Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du paysage

Spécialité : Horticulture

Spécialisation / option : Gestion Durable du Végétal

Enseignant référent : Josiane LE CORFF

Auteur(s) : Thomas COSTES

Date de naissance : 26 mars 1990

Nb pages : 57 (dont 34 corps mémoire)

Annexe(s) : 11

Année de soutenance : 2013

Organisme d'accueil : INRA

Adresse : Centre Provence-Alpes-Côtes d'Azur

Maîtres de stage : Alexandra SCHOENY, Hélène GAUTIER et Laurent GOMEZ

Titre français : Vers la sélection de plantes de service pour une gestion agroécologique des pucerons en culture de melon

Titre anglais : Toward companion plant selection for agroecological management of aphids in melon crops

#### Résumé :

Le puceron est particulièrement problématique en culture de melon puisqu'il induit des dégâts directs importants. Il est par ailleurs le vecteur privilégié des principaux virus de cette culture et peut donc indirectement engendrer des épidémies virales considérables. La lutte chimique montre ses limites et les actuelles méthodes alternatives sont encore trop peu efficaces, en particulier au champ. Pour réduire la pression en pucerons tout en diminuant l'utilisation de produits de synthèse, la diversification des agrosystèmes est un axe de travail majeur. Elle vise à favoriser des mécanismes naturels d'interactions biotiques bénéfiques à la culture, convertibles en outils de régulation des populations de pucerons. Dans ce contexte, cette étude s'intéresse en particulier à l'écologie chimique par le biais de plantes répulsives, et au principe de lutte biologique par conservation via l'aménagement de bandes enherbées et fleuries. Elle vise à caractériser onze espèces végétales vis-à-vis de trois espèces de pucerons et des quatre principaux virus du melon. Elle se concentre ainsi sur la détection de potentielles plantes de service aux propriétés répulsives, et évalue d'éventuels effets non-intentionnels qu'elles pourraient provoquer en culture de melon. La combinaison de ces résultats permet de présélectionner certaines plantes candidates pour une utilisation en lutte par les volatils, et/ou pour une implantation dans des bordures végétalisées, et d'en déconseiller certaines.

#### Abstract :

Aphids are serious pests in melon crops inducing important direct damages. Besides, it is the main vector of melon viruses and can indirectly induce massive epidemics. Chemical management shows its limits and current alternative methods are not efficient enough yet, especially in field. To control aphid populations and reduce the use of chemicals at the same time, diversification of agroecosystems is a main work axis. It aims to favour natural crop-beneficial biotic interaction mechanisms, convertible in aphid management tools. In this context, this study takes particular interest in chemical ecology through repellent plants, and in biological conservation with the implementation of flower strips. It aims to characterise eleven plant species according to the behaviour of three aphid species and four main melon viruses. Thus this work focuses on the detection of potential repellent companion plants, and evaluates eventual side effects induced by each plant within melon crop. The results lead to preselect some plants to use in chemical ecology and/or within flower strips; some other plants appeared to be unsuitable.

Mots-clés : agroécologie, *Aphis craccivora*, *Aphis gossypii*, écologie chimique, lutte biologique par conservation, melon, *Myzus persicae*, olfactométrie, plante hôte, puceron, virus

Key words : agroecology, aphid, *Aphis craccivora*, *Aphis gossypii*, biological conservation, chemical ecology, melon, *Myzus persicae*, olfactometry, host plant, virus