



HAL
open science

Utilisation de *G. macrorrhizum* en tant que plante compagne dans la lutte contre les pucerons ravageurs

Jean Dorland

► **To cite this version:**

Jean Dorland. Utilisation de *G. macrorrhizum* en tant que plante compagne dans la lutte contre les pucerons ravageurs. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03480229

HAL Id: dumas-03480229

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03480229>

Submitted on 14 Dec 2021

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

Avec le soutien du Fonds Européen de
Développement Régional

CFR Angers **CFR Rennes**

<p>Année universitaire : 2020 - 2021</p> <p>Spécialité : Horticulture</p> <p>Spécialisation (et option éventuelle) :</p> <p>PPEH (Protection des Plantes et Environnement en Horticulture)</p>	<p>Mémoire de fin d'études</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> d'ingénieur d'AGROCAMPUS OUEST (École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage), école interne de L'institut Agro (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)</p> <p><input type="checkbox"/> de master d'AGROCAMPUS OUEST (École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage), école interne de L'institut Agro (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)</p> <p><input type="checkbox"/> de Montpellier SupAgro (étudiant arrivé en M2)</p> <p><input type="checkbox"/> d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)</p>
--	--

Utilisation de *G. macrorrhizum* en tant que plante compagne dans la lutte contre les pucerons ravageurs

Par : Jean Dorland



Soutenu à Angers

le 01.09.2021

Devant le jury composé de :

Président : Nicolas Chen

Autres membres du jury (Nom, Qualité) : Sylvia Anton

Maître de stage : Arnaud Ameline

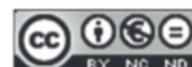
Enseignant référent : Philippe Robert (représenté par Yann Tricault)

Co-encadrant du stage :

Géraldine Doury et Aude Couty

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

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation «Paternité-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France» disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>



Remerciements

Je tiens pour commencer à remercier Guillaume Decocq, directeur de l'Unité de Recherche EDYSAN pour m'avoir permis de réaliser ce stage de Master 2 au sein de cette unité ainsi que le Fonds européen de développement régional qui a financé le projet Interreg ZERO-PH(F)YTO F&L(G), projet ayant apporté le financement de mon stage.

Je remercie de plus mes encadrants, Arnaud Ameline, Aude Couty ainsi que Géraldine Doury pour leurs conseils concernant les manipulations, les présentations ainsi que l'écriture de ce rapport. Je tiens également à les remercier pour m'avoir donné l'opportunité et le soutien nécessaire afin de réaliser le stage ainsi que de m'avoir aidé à me faire une première place dans le milieu scientifique notamment en m'aidant à participer à un congrès international, le Symposium on Insect Plant Interactions (SIP) tenu par l'université de Leiden au Pays-Bas, mais aussi d'entrevoir comment mon travail peut faire l'objet d'une valorisation à travers une publication scientifique »

Je remercie également toutes les personnes ayant contribué à ce stage comme Marie-Pierre Boley, Françoise Dubois, Yvelise Fourdrain ou encore Marine Hubert pour leur soutien administratif ou encore technique. Je tiens plus particulièrement à remercier Thomas Denoirjean, doctorant au sein de l'unité EDYSAN, pour son aide précieuse autant à titre professionnel au travers des analyses statistiques qu'à titre personnel pour son soutien moral et amical.

D'un autre côté je souhaite remercier l'ensemble du corps enseignant d'Agrocampus Ouest Angers et particulièrement celui impliqué dans ma dernière année de spécialisation PPEH (Protection des Plantes et Environnement en Horticulture) qui m'a fourni les connaissances nécessaires afin de mener à bien ce stage et l'écriture de ce rapport.

Enfin, je souhaite remercier mes proches pour leur aide de loin comme de près à l'écriture ou à la relecture de ce rapport ou encore pour leur soutien moral notamment en cette période de Covid 19, période quelquefois trouble et pesante. Je tiens tout particulièrement à remercier Aline Henry pour son soutien au quotidien et son aide précieuse dans l'écriture de ce rapport.

Table des matières

Liste des abréviations.....	1
Table des figures	2
Table des tableaux	4
Table des annexes.....	5
I. Introduction.....	1
A. Contexte.....	1
B. Synthèse bibliographique	2
1. Intérêts agronomiques des plantes compagnes.....	2
2. Les Geraniaceae, et plus particulièrement <i>Geranium macrorrhizum</i> , des plantes émettant des COVs permettant la gestion des insectes ravageurs.....	5
3. Les pucerons	6
C. Problématique d'étude et hypothèses	8
D. Mes missions.....	9
II. Matériel et Méthodes	9
A. Matériel.....	9
B. Méthodes.....	10
1. Stimulation mécanique des feuilles de géranium	10
2. Comportement de choix du puceron	11
3. Comportement alimentaire du puceron	11
4. Traits d'histoire de vie des pucerons (Boîtes de Pétri et Clip-cages).....	12
5. Analyses statistiques des données collectées	13
III. Résultats.....	14
1. Comportement de choix des pucerons	14
2. Comportement alimentaire des pucerons	14
3. Traits d'histoire de vie des pucerons (boîtes de Pétri et clip-cages)	15
A. Etude des traits d'histoire de vie en boîtes de Pétri	15
B. Etude des traits d'histoire de vie en clip-cages.....	15
IV. Discussion	17
1. La présence de <i>G. macrorrhizum</i> en tant que plante compagne ne perturbe pas le comportement d'orientation du puceron	17
2. La présence de <i>G. macrorrhizum</i> en tant que plante compagne peut altérer le comportement alimentaire du puceron.....	18
3. La présence de géranium en tant que plante compagne impacte négativement la reproduction et peut réduire la survie du puceron.....	19
V. Conclusion et perspectives	21
Bibliographie	22

Liste des abréviations

EPG = ElectroPénétroGraphie

PC = Plante Compagne

PCE = Plante Compagne Effleurée

PH = Plante Hôte

PH + PC = Plante Hôte associée à une Plante Compagne

PH + PCE = Plante Hôte associée à une Plante Compagne Effleurée

SEM = Standard Error of the Mean = Erreur Standard

COVs = Composés Organiques Volatils

Table des figures

Figure 1 : Dispositif utilisé pour les tests de choix du puceron entre le poivron, la plante hôte (PH), et le géranium, la plante compagne (PC).

Figure 2 : Dispositif utilisé pour les tests de choix du puceron entre le poivron seul, la plante hôte (PH), et le poivron associé à un plant de géranium (PH+PC).

Figure 3 : Dispositif d'analyse du comportement alimentaire d'un puceron sur la plante hôte associée à la plante compagne (PH+PC) à l'aide de la technique d'électropénétrographie (EPG).

Figure 4 : Dispositif de suivi des traits d'histoire de vie du puceron sur la plante hôte associée à la plante compagne (PH+PC) grâce à une clip-cage.

Figure 5 : Choix des pucerons entre la Plante Hôte (PH) et le Géranium (PC). * : $p < 0,05$.

Figure 6 : Choix des pucerons entre la Plante Hôte (PH) et le Géranium dont les feuilles ont été Effleurées (PCE). *** : $p < 0,001$

Figure 7 : Choix des pucerons entre la Plante Hôte seule (PH) et la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC). NS : Non Significatif.

Figure 8 : Choix des pucerons entre la Plante Hôte seule (PH) et la Plante Hôte associée à la Plante Compagne dont les feuilles ont été Effleurées (PH+PCE). NS : Non Significatif.

Figure 9 : Fécondité totale moyenne cumulée sur les 9 jours d'expérimentation (\pm SEM) des pucerons adultes (âgé de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci sont sur une feuille de la Plante Hôte (PH), sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) ou lorsqu'ils sont sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en boîte de Pétri. Des lettres différentes indiquent une différence significative au seuil de 5%.

Figure 10 : Suivi de la fécondité journalière (\pm SEM) pendant 9 jours des pucerons adultes (âgés de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci sont sur une feuille de la Plante Hôte (PH), sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) ou lorsqu'ils sont sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en boîte de Pétri.

Figure 11 : Pourcentage de survie au bout des 9 jours d'expérimentation des pucerons adultes (âgés de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci sont sur une feuille de la Plante Hôte (PH), sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) ou lorsqu'ils sont sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en boîte de Pétri.

Figure 12 : Fécondité totale moyenne cumulée sur les 9 jours d'expérimentation (\pm SEM) des pucerons adultes (âgés de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci sont sur la Plante Hôte (PH), sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) ou sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en clip-cage.

Figure 13 : Suivi de la fécondité journalière (\pm SEM) pendant 9 jours des pucerons adultes (âgés de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci sont sur la Plante Hôte (PH), sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) ou lorsqu'ils sont sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en clip-cage.

Figure 14 : Pourcentage de survie au bout des 9 jours d'expérimentation des pucerons adultes (âgés de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci sont sur la Plante Hôte (PH), sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) et lorsqu'ils sont sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en clip-cage.

Table des tableaux

Tableau 1 : Paramètres de comportement alimentaire des pucerons (moyenne \pm erreur standard) analysé par EPG lorsque ceux-ci étaient sur la Plante Hôte (PH), sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) et lorsqu'ils étaient sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE).

Table des annexes

Annexe I : Analyse des COVs émis par *G. macrorrhizum* par SPME et GC-MS par Pierre-Yves Werrie, doctorant à l'université de Liège Agro-bio Tech, Gembloux, encadré par Marie-Laure Fauconnier dans le cadre du projet ZEROPH(F)YTO F&L (G).

Annexe II : Poster présenté au Symposium on Insect Plant interactions (SIP) 2021 organisé par l'université de Leiden, Pays-Bas

Annexe III : Script R du test de χ^2 de conformité avec une probabilité de sélection équivalente dans le cadre de l'analyse statistique des données issues des tests de choix des plantes par les pucerons.

Annexe IV : Script R du Modèle Linéaire Généralisé (GLM) suivant une loi de Poisson couplé à la comparaison post-hoc deux à deux en utilisant la méthode des moindres carrés de la moyenne (« ls-means ») pour évaluer la différence entre les traitements, utilisé dans le cadre de l'analyse de données de fécondité journalière et totale en physiologie.

Annexe V : Script R de la régression de COX couplée une comparaison post-hoc deux à deux en utilisant la méthode « estimated marginal means » pour évaluer la différence entre les traitements, utilisée dans l'analyse des données de mortalité en physiologie

Annexe VI : Script R de la régression de COX utilisée dans l'analyse de données du comportement alimentaire ($t > 1Pr$ et $t > 1E2$)

Annexe VII : Script R du test de Kruskal Wallis dans le cadre de l'analyse statistique des données du comportement alimentaire.

Annexe VIII : Script R de la comparaison post-hoc deux à deux en utilisant le test de permutation de Monte-Carlo (5000 répétitions) associé à une correction de la p-value grâce à la méthode de Bonferroni pour évaluer la différence entre les traitements dans le cadre de l'étude du comportement alimentaire.

I. Introduction

A. Contexte

Mon stage s'est déroulé au sein de l'unité de recherche EDYSAN (Ecologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), UMR 7058, unité de recherche du CNRS et de l'Université de Picardie Jules Verne (UPJV) à Amiens. La thématique de recherche de cette unité s'articule autour de plusieurs axes correspondant à l'analyse de la dynamique des espaces et systèmes de production (agrosystèmes et systèmes forestiers) dans le contexte de changements globaux tels que le réchauffement climatique, les invasions biologiques, les changements d'usages des terres ainsi que des pratiques, ... L'axe 1 de cette unité s'articule autour de l'intensification écologique des systèmes de production visant à construire une agriculture et une sylviculture productives, durables, plus économes en intrants et plus respectueuses de l'environnement. L'axe 2, quant à lui, s'articule autour de l'écologie fonctionnelle des néo-écosystèmes forestiers en tant qu'espaces de production, réservoirs de biodiversité, ... et de leurs changements dus à différents facteurs tels que le changement climatique, l'anthropisation, les invasions biologiques, ... Enfin, le dernier axe s'articule autour de l'écologie historique des forêts et des paysages afin d'appréhender les effets à long terme sur la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes.

En ce sens, les études que j'ai menées au sein d'EDYSAN s'inscrivent dans le premier axe (axe 1 : Intensification écologique des systèmes de production), dans le cadre du projet Interreg ZERO-PH(F)YTO F&L(G), déposé en 2019, issu d'une collaboration transfrontalière entre la Flandre, la Wallonie (Belgique) et les Hauts de France (France), visant à identifier et à transmettre des leviers permettant de lutter contre les ravageurs au sein des productions fruitières et légumières afin de réduire les pulvérisations de produits phytopharmaceutiques. Les partenaires Belges sont le CRA-W ainsi qu'INAGRO, et le PCG. Les partenaires Français sont la FREDON Hauts de France, Bio en Hauts-de-France et EDYSAN.

Le projet ZEROPH(F)YTO F&L(G) s'inscrit dans une démarche globale à l'échelle transfrontalière au travers du plan ECOPHYTO. En effet, afin de réduire l'utilisation des produits phytopharmaceutiques ainsi que leur impact sur les milieux naturels et sur la santé humaine, le ministère de l'agriculture a présenté en 2009 le plan ECOPHYTO 2018 visant à réduire de 50% l'utilisation des produits phytosanitaires en France, et ce, sur une durée de dix ans. Les objectifs de ce plan n'ayant pas été atteints, le plan ECOPHYTO II+, publié en 2018, a été mis en place afin de donner une nouvelle impulsion et de nouveaux objectifs reprenant les précédentes réformes (ECOPHYTO I et II). Les objectifs de cette révision sont : une réduction de 25% des produits phytosanitaires à l'horizon 2020, de 50% d'ici 2025 ainsi que l'absence de leur utilisation dans les jardins, les espaces végétalisés et les infrastructures.

Aujourd'hui, de nombreux leviers agronomiques permettent de réduire l'utilisation des produits phytopharmaceutiques. Parmi ceux-ci, il existe le désherbage thermique et mécanique, le recours à des auxiliaires de cultures, utilisés en lutte biologique ou encore grâce à des lâchers inondatifs. Un autre levier vise la valorisation de substances d'origines végétales notamment par l'utilisation de substances allélopathiques grâce à la biofumigation, l'utilisation d'huiles essentielles issues de plantes contenant des substances potentiellement nocives pour les ravageurs ou encore l'utilisation de plantes compagnes émettrices de Composés Organiques Volatils (COVs) visant à protéger les cultures. Dans le cadre du projet ZEROPH(F)YTO F&L (G), plusieurs études ont été effectuées en ce qui concerne l'utilisation de plantes compagnes au sein de systèmes de production afin de perturber la colonisation des pucerons. C'est le cas des travaux réalisés dans le cadre d'un stage de master 2 (2020), par Xavier Baudry, qui a travaillé sur les effets d'*Allium porrum* (poireau), utilisé en tant que plante compagne, sur la colonisation des pucerons sur leur plante hôte. Dans cette idée, mon objectif a été d'identifier les potentiels effets d'une plante appartenant aux Geraniaceae nommée *Geranium macrorrhizum* (ou communément appelée « géranium à grosses racines ») utilisée en tant que plante compagne, sur la colonisation du puceron sur sa plante hôte. Effectivement, cette plante est odorifère et procure un très bon couvre sol, ces caractéristiques nous ont donc poussés à étudier les effets de cette plante en tant que plante compagne. Le but est alors d'évaluer le potentiel de son utilisation en tant que nouvelle plante compagne réduisant les dégâts causés par les pucerons, et ce, tout en limitant les intrants.

B. Synthèse bibliographique

1. Intérêts agronomiques des plantes compagnes

a) Les différentes utilisations des plantes compagnes

Depuis plusieurs décennies, les plantes compagnes ont été utilisées par les agriculteurs afin de préserver la biodiversité dans leur espace de production (Altieri *et al.* 2004). En effet, l'apport de plantes compagnes à la culture est une technique ancienne et traditionnelle implémentée dans le but d'apporter des caractéristiques bénéfiques issues de différentes plantes ainsi que des effets, eux aussi bénéfiques, découlant de l'interaction entre ces plantes, permettant une meilleure gestion de l'espace agricole (Vandermeer *et al.* 1992 et Sarker *et al.* 2009). Ces interactions permettent non seulement de conserver une certaine biodiversité, mais aussi de réduire l'impact de différents ravageurs sur les cultures et notamment des insectes (Collier *et al.* 2003 et Cunningham *et al.* 1998) ou encore l'amélioration de la fixation de l'azote par les plantes, une augmentation des rendements de culture et même la réduction des adventices (Chen *et al.* 2020 et Verret *et al.* 2017).

L'utilisation des plantes compagnes est due notamment à leur émission de Composés Organiques Volatils (COVs). En effet, dans le règne végétal, de nombreuses familles de plantes sont capables d'émettre ces COVs. Les organes permettant l'émission de ces COVs sont multiples. Ceux-ci peuvent être les fleurs, les feuilles ou encore les rhizomes. La composition des COVs est très variable en fonction de la plante émettrice pouvant alors différer entre plusieurs familles, genres ou encore espèces de plantes. De plus, la composition des COVs émis peut également dépendre des conditions environnementales comme montré par Chen *et al.* en 2019 et ainsi varier en fonction des saisons mais aussi en fonction du stade physiologique de la plante ou encore de son développement. L'une des deux méthodes décrites par Parolin *et al.* en 2012 de valorisation des émissions de COVs est l'utilisation de plantes compagnes, la seconde étant l'utilisation d'huiles essentielles extraites à partir de plantes.

Les plantes compagnes permettent d'apporter différents bénéfices aux cultures. En ce sens, les plantes compagnes, grâce à leur émission de COVs peuvent attirer les pollinisateurs au sein des jardins ou des parcelles de productions, permettant ainsi d'augmenter la pollinisation et potentiellement les rendements de production (Griffiths-Lee *et al.* 2020).

De plus, les plantes compagnes peuvent être utilisées dans le but de contrôler les mauvaises herbes et d'en réduire leur densité pouvant causer de lourds effets sur le rendement. En effet, certaines plantes compagnes, dites allélopathiques, émettent des COVs nocifs pour certaines autres plantes, limitant ainsi leur présence aux alentours (Cheema *et al.* 2002 et Al-Bedairy *et al.* 2012).

Enfin, les plantes compagnes apportent une meilleure gestion des ravageurs, et ce, grâce à différentes méthodes.

b) Les différents effets des plantes compagnes contre les ravageurs

Il est possible que l'utilisation de plantes compagnes perturbe la localisation de la plante hôte par le ravageur. Il existe plusieurs explications à ce phénomène.

Premièrement, l'émission de COVs par la plante compagne peut avoir un effet répulsif sur le ravageur, on appelle alors ces COVs des allomones, à l'inverse des COVs attractifs (nommés kairomones) lui permettant de localiser plus facilement sa plante hôte. Ces allomones peuvent avoir plusieurs conséquences : un dérangement du ravageur, une irritabilité de celui-ci ou encore une inappétence. Selon Deletre *et al.* en 2016, ces effets semblent être dus à un effet dose modifiant le comportement et/ou à la présence de récepteurs spécifiques aux COVs émis et/ou à l'inhibition de la transduction neuronale. Cet aspect répulsif est cependant très souvent spécifique au ravageur. Effectivement, un COV répulsif pour un ravageur peut être, au contraire, attractif pour un autre. Quoiqu'il en soit, de par la coévolution qui existe entre les ravageurs et leurs plantes hôtes, il semble que les ravageurs monophages soient plus impactés et donc davantage sensibles aux COVs répulsifs de plantes qu'ils ne colonisent habituellement pas, par rapport aux ravageurs polyphages (Dugravot *et al.* 2004). Souvent, dans le cadre de la lutte contre les ravageurs, l'utilisation de composés répulsifs est associée à l'utilisation de composés attractifs. Cette méthode, appelée "push and pull", consiste alors en un éloignement des ravageurs de la plante hôte que l'on souhaite protéger grâce aux COVs répulsifs suivis d'une attraction de ces mêmes ravageurs sur une autre plante cible émettant des COVs plus attractifs que ceux émis par la plante hôte que l'on souhaite protéger (Seigies et Pritts, 2006). Une autre méthode similaire est nommée "attract and kill" ou "attirer et tuer". Le but est alors d'attirer, sur une plante émettant des COVs attractifs, les ravageurs ciblés permettant ainsi de les concentrer au même endroit. Une fois une population importante ainsi rassemblée, une élimination des plantes attractives est alors effectuée, éliminant alors les ravageurs des cultures (Vernon *et al.* 2015).

Deuxièmement, l'émission de COVs par la plante compagne peut permettre un camouflage des odeurs de la plante hôte (Held *et al.* 2003 et Togni *et al.* 2010) ou encore créer une barrière physique empêchant l'accès à la plante hôte. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce phénomène de masquage. Effectivement, la saturation des organes olfactifs des ravageurs ou la modification du bouquet olfactif émis par l'ajout de nouveaux COVs peuvent expliquer un masquage des odeurs de la plante hôte.

Troisièmement, les plantes compagnes peuvent attirer les ennemis naturels des ravageurs de cultures en leur fournissant nourriture et/ou un habitat (Khan *et al.* 2020 et Parker *et al.* 2013). Les ennemis naturels ainsi attirés peuvent alors prédater les ravageurs de cultures, permettant ainsi de protéger la plante hôte de leurs attaques.

2. Les Geraniaceae, et plus particulièrement *Geranium macrorrhizum*, des plantes émettant des COVs permettant la gestion des insectes ravageurs

De nombreuses études ont été réalisées sur quelques familles telles que les Alliaceae, les Lamiaceae, ... en ce qui concerne leur utilisation en tant que plante compagne (Ben Issa *et al.* 2017) mais très peu concernant les Geraniaceae. Cependant, les Geraniaceae, notamment *G. macrorrhizum* sont des plantes qui ont un potentiel fort en ce qui concerne l'utilisation en tant que plante compagne. En effet, *G. macrorrhizum* émet des COVspotentiellement nocifs pour les ravageurs, caractéristique souvent retrouvée sur les plantes compagnes.

a) Composition des COVs et organes de stockages chez *G. macrorrhizum*

Les sesquiterpènes représentent la plus grande partie des fractions volatiles de *G. macrorrhizum* (92% selon Ilić *et al.* 2019). L'un des sesquiterpènes émis en grande quantité par *G. macrorrhizum*, le germacrone, représente le composant majoritaire parmi les COVs émis malgré une certaine variation d'abondance en fonction des différentes études (environ 73% selon Ilić *et al.* 2019, 50% selon Radulović *et al.* 2010 et 37% selon Chalchat *et al.* 2002). Cette émission de germacrone est assez singulière chez les Geraniaceae. Effectivement, Ilić *et al.* en 2019 ont étudié les fractions volatiles émises par huit espèces de Geraniaceae et seul *G. macrorrhizum* émettait du germacrone montrant ainsi une certaine hétérogénéité dans l'émission de COVs au sein même de la famille des Geraniaceae. Cette hétérogénéité est d'autant plus marquée que les autres espèces de Geraniaceae produisent en moins grandes quantités des sesquiterpènes que *G. macrorrhizum*.

D'un autre côté, comme de nombreuses plantes, *G. macrorrhizum* possède des trichomes. Il en existe des non-glandulaires ainsi que deux types de glandulaires présents sur les feuilles, les tiges et les calices (Kremer *et al.* 2013). Or, les trichomes glandulaires, sont connus pour leurs capacités à stocker des COVs (souvent des sesquiterpènes) qui sont relargués dans l'air suite à une rupture ou une stimulation (Mofikoya *et al.* 2019). Les trichomes glandulaires apparaissent donc comme l'un des organes les plus importants en ce qui concerne la synthèse et le stockage de COVs (Wang *et al.* 2008 et Glas *et al.* 2012).

b) Les effets des COVs de *G. macrorrhizum* sur les insectes ravageurs

De nombreuses études ont montré que les sesquiterpènes émis par certaines plantes sont responsables de nombreux effets sur les insectes, notamment des effets anti-appétents sur les Lépidoptères ou les Chrysomélidés (Asakawa *et al.* 1980 et González-Coloma *et al.* 2002) mais aussi des effets répulsifs, voire même toxiques sur les Arthropodes (Paluch *et al.* 2009 et Zhang *et al.* 2009).

De plus, le germacrene, un des sesquiterpènes émis par *G. macrorrhizum* et représentant le composant majoritaire des COVs émis par cette plante, est connu pour ses effets répulsifs contre les Curculionidae (Doss *et al.* 1980), ses effets anti-appétant sur les Aphididae ainsi que ses effets toxiques sur les Arthropodes appartenant à la famille des Anobiidae, les Tenebrionidae, les Noctuidae ou encore les Ixodidae (Liang *et al.* 2021 et Navarro-Rocha *et al.* 2018).

Enfin, les composés volatils stockés au sein des trichomes ont souvent un effet répulsif sur les herbivores et/ou un effet attractif sur les ennemis naturels de ces herbivores (Voigt *et al.* 2007 et Tissier *et al.* 2017).

3. Les pucerons

Les pucerons font partie des insectes ravageurs les plus destructeurs sur plantes cultivées (Dedryver *et al.* 2010). Ils font partie de l'ordre des Hémiptères et sont regroupés au sein de la super famille des *Aphidoidea*. Au sein de cette super famille, il existe plus de 4700 espèces différentes, dont 450 considérées comme parasites colonisatrices de grandes cultures (Blackman et Eastop, 2000).

a) Le système sensoriel des pucerons

Chez les pucerons, il existe différents organes sensibles permettant la reconnaissance et l'acceptation de leur plante hôte. Ces organes sont ainsi sensibles aux perturbations potentielles de l'environnement, qui peuvent notamment être amenées grâce à l'utilisation de plantes compagnes.

Parmi les sens permettant la perception de l'environnement figure la vision, comme sens prédominant, suivi de l'olfaction et du goût. Ces trois sens seraient essentiels dans l'orientation des pucerons ainsi que dans la reconnaissance des plantes. Selon Pickett *et al.* 1992, la perception des COVs joue un grand rôle dans le choix de la plante pour les insectes et donc également pour les pucerons. La perception de ces COVs chez les Hémiptères se fait grâce à des sensilles qui sont soit olfactives soit gustatives. Ces sensilles sont associées à des neurones récepteurs permettant la transmission des informations perçues. Chez les pucerons, l'olfaction s'effectue grâce aux rhinaries, situées sur les antennes, permettant la reconnaissance des COVs (Pickett *et al.* 1997 et 1992). Quant à la gustation, celle-ci est assurée grâce à des sensilles gustatives situées à l'extrémité du labium, à l'extrémité des antennes et sur les tarse, permettant ainsi aux pucerons d'analyser leur environnement.

b) La colonisation d'une plante par les pucerons

La colonisation se déroule en plusieurs étapes successives, menant à l'établissement des pucerons et à la création d'une population au sein d'un espace donné. Elle a été découpée en cinq étapes qui sont : la migration des adultes d'une plante initiale, l'atterrissage suivi d'une examination de la plante, l'alimentation sur celle-ci, et enfin la reproduction (Powell *et al.* 2006). L'olfaction et la vision sont les sens ayant le rôle le plus important concernant le choix de la plante sur laquelle les pucerons vont se poser, c'est-à-dire sur l'étape consistant en l'atterrissage du puceron sur la plante. Le goût associé à l'olfaction vont constituer les sens les plus déterminants pour l'acceptation de la plante sur laquelle se trouve le puceron et notamment grâce à un comportement d'évaluation de la plante par le puceron appelé « probing » qui mobilise aussi bien l'olfaction par la perception de COVs en surface de la plante (Tosh *et al.* 2002) que la gustation par des actions brèves de piques intra et extracellulaires. Ces piques traversent les cellules de l'épiderme et du mésophylle et permettent aux pucerons d'évaluer la qualité nutritive de la plante sondée ainsi que la présence ou l'absence de métabolites secondaires contenus dans la sève élaborée, présente dans les tissus du phloème, pouvant engendrer une anti-appétence voire une toxicité (Powell *et al.* 2006).

C. Problématique d'étude et hypothèses

En se fondant sur la bibliographie, *G. macrorrhizum* semble être une plante possédant de nombreux effets notamment grâce à la production de COVs potentiellement nocifs contre les ravageurs indiquant une potentialité d'utilisation en tant que plante compagne.

L'objectif de cette étude était de caractériser le comportement et la physiologie de pucerons ravageurs des cultures mis en présence de COVs de plantes de la famille des Geraniaceae. Pour cela, nous avons évalué l'impact de *G. macrorrhizum*, une plante ayant un profil de COVs singulier parmi les Geraniaceae, utilisé en tant que plante compagne sur le puceron vert du pêcher *Myzus persicae* au travers d'études de son comportement d'orientation (tests de choix), de son comportement alimentaire (électropénétophographie) et de mesures de ses traits d'histoire de vie (suivis physiologiques en « clip-cage ») s'intéressant respectivement à trois étapes clés de la colonisation du poivron (utilisé comme plante-hôte) par des pucerons : la reconnaissance de l'hôte, l'acceptation de l'hôte et la reproduction. Les tests de choix permettent d'évaluer l'effet potentiellement répulsif des odeurs du géranium sur les pucerons tandis que la technique d'électropénétophographie permet d'identifier une éventuelle perturbation dans le comportement alimentaire des pucerons en présence de ces COVs. Enfin, les suivis physiologiques en « clip-cage » permettent d'évaluer l'impact des COVs de géranium sur la reproduction et la survie des adultes et de leurs descendances.

Ainsi, le travail réalisé s'inscrit dans la problématique suivante : Quels sont les effets de *G. macrorrhizum* en tant que plantes compagne sur la colonisation du puceron vis-à-vis de sa plante hôte ? Pour cela, la plante hôte utilisée sera le poivron, *Capsicum annuum*.

En vue des études montrant les effets des COVs émis par *G. macrorrhizum*, nous pouvons émettre certaines hypothèses sur l'utilisation de *G. macrorrhizum* en tant que plante compagne.

Tout d'abord, *G. macrorrhizum* aurait un effet répulsif sur le puceron, ce qui impacterait négativement l'orientation des pucerons vers la plante hôte.

Ensuite, *G. macrorrhizum* aurait un effet anti-appétent sur le puceron et impacterait donc son comportement alimentaire sur la plante hôte.

Enfin, *G. macrorrhizum* aurait un impact négatif sur la survie et la fécondité du puceron découlant de la réduction de son alimentation sur sa plante hôte, de la perturbation de son orientation vers la plante hôte ainsi que d'une toxicité des COVs émis.

D. Mes missions

Mes missions principales s'inscrivent dans le cadre du projet ZERO-PH(f)YTO et plus particulièrement dans la réponse à la problématique évoquée précédemment. Dans cet objectif, ma principale mission a été d'effectuer des recherches bibliographiques ainsi que de réaliser des expérimentations telles que les tests de choix, les EPG et les suivis physiologiques en boîte de Pétri ou en clip-cage. Suites à ces expérimentations, les résultats ont été traités grâce à des analyses statistiques menées sur R, afin de valider ou invalider les hypothèses émises précédemment. Un autre objectif était de valoriser la collaboration transfrontalière avec nos partenaires Belges, en mettant en place une expérimentation visant à analyser les COVs émis par la plante *G. macrorrhizum* (Annexe I) afin de confronter les résultats à ceux de la bibliographie et de les mettre en relation avec ceux que nous avons obtenus. Ensuite, un de mes buts était la rédaction de mon mémoire de fin d'étude. De plus, j'avais pour mission de diffuser les résultats auprès des différents partenaires du projet et du laboratoire d'accueil grâce notamment à des visioconférences ou les réunions et séminaires du laboratoire EDYSAN. Enfin, le dernier objectif consiste en la mise en valeur des résultats obtenus au sein des différents laboratoires à travers la communication scientifique et ce, grâce au congrès international SIP (Symposium on Insect Plant interactions), ayant eu lieu du 25 au 30 juillet 2021, organisé par l'université de Leiden, Pays-Bas lors duquel un poster vlog a été présenté (Annexe II) ou encore à travers une publication qui serait rédigée et soumise dans une revue internationale à comité de lecture.

II. Matériel et Méthodes

A. Matériel

Toutes les expérimentations ont été effectuées en utilisant des plants de poivron (*Capsicum annuum* L. cv. 'Sprinter') représentant la plante hôte (PH) ainsi que des plants de géranium à grosses racines (*Geranium macrorrhizum*) représentant la plante compagne (PC).

Les poivrons utilisés pour les expérimentations étaient âgés de 5 à 6 semaines après semis. Ils ont été semés à partir de graines, en provenance de PCG (Belgique) et ont ensuite été placés en phytotron (24 ± 1 °C, $60 \pm 5\%$ d'hygrométrie relative et 16 h/ 8h jour/nuit à 2,5 klux).

Les plants de géranium, en provenance du CRA-W (Belgique), ont été maintenus en serre (24 ± 1 °C, $60 \pm 5\%$ d'hygrométrie relative et 16 h/ 8h jour/nuit). Les plants qui ont été utilisés pour les expérimentations sont des rejets de pieds mères obtenus grâce à la multiplication végétative par rhizome du géranium. Ces rejets étaient non fleuris et étaient à un stade de 8 à 12 feuilles (masse de 6 ± 1 g).

Les insectes utilisés étaient les pucerons verts du pêchers (*Myzus persicae*) qui sont tous des descendants parthénogénétiques d'un puceron collecté en 1999 dans un champ de pommes de terre proche de Loos-en-Gohelle (France). Ces pucerons ont été maintenus dans un élevage sur plants de colza au sein d'une cage en plastique de 50x50x50cm dans une salle climatisée ($21 \pm 1^\circ\text{C}$, $40 \pm 10\%$ d'hygrométrie relative, 16h/8h jour/nuit, 2,5 klux). Les pucerons utilisés pour les expérimentations ont été synchronisés sur feuille de poivron incorporée dans un gel d'agar-agar à 2% en boîte de Pétri dans les mêmes conditions d'humidité et de température que l'élevage et étaient tous âgés de 7 ± 1 jours (stade adulte) au moment des expérimentations.

L'objectif est d'étudier les effets du géranium utilisé en tant que plante compagne (PC) sur la perturbation de la colonisation du puceron vis-à-vis de sa plante hôte ainsi que l'amplification éventuelle de ces effets suite à une stimulation mécanique des feuilles de cette PC (effleurement des feuilles). Pour cela, les études sur la colonisation du puceron ont été réalisées selon trois modalités : la première représentait notre modalité témoin dans laquelle la plante hôte (PH) était utilisée seule ; la seconde était constituée de la PH accompagnée de la plante compagne (PC) (PH+PC) ; la dernière correspondait à la PH accompagnée de la PC dont les feuilles avaient été, préalablement à chaque expérimentation, stimulées de façon mécanique (PH+PCE où PCE= Plante Compagne Effleurée). Les résultats obtenus dans ces trois différentes modalités ont ensuite été comparés, afin de tester les éventuels effets de la présence de *G. macrorrhizum* en tant que PC ainsi que les effets d'une stimulation mécanique de cette PC.

B. Méthodes

1. Stimulation mécanique des feuilles de géranium

Préalablement à chaque étude, dans le cadre de la modalité poivron associé à la plante compagne Effleurée (PH+PCE), un effleurement de toutes les feuilles de géranium (PC) a été réalisé sur la totalité des feuilles de la plante juste avant les expérimentations en ce qui concerne les EPG ainsi que les tests de choix. Pour cela, toutes les feuilles de la PC ont été effleurées à l'aide d'un pinceau (Pinceau MANET - Petit Gris - série 408, N°10) de manière à réaliser cinq passages horizontaux successifs sur l'entièreté de la surface abaxiale de chaque feuille. Pour les expérimentations sur la physiologie en clip-cages ainsi qu'en boîtes de Pétri, l'effleurement a été réalisé tous les jours, au milieu de la photopériode (heure de prise de données) à partir du premier jour de l'expérimentation jusqu'à l'avant-dernier.

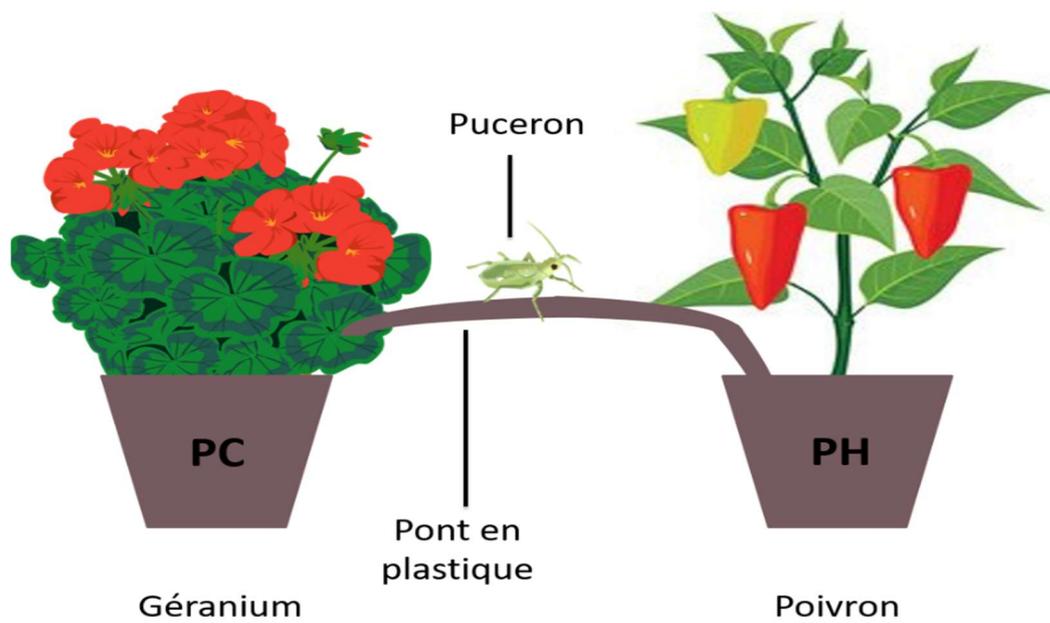


Figure 1 : Dispositif utilisé pour les tests de choix du puceron entre le poivron, la plante hôte (PH), et le géranium, la plante compagne (PC).

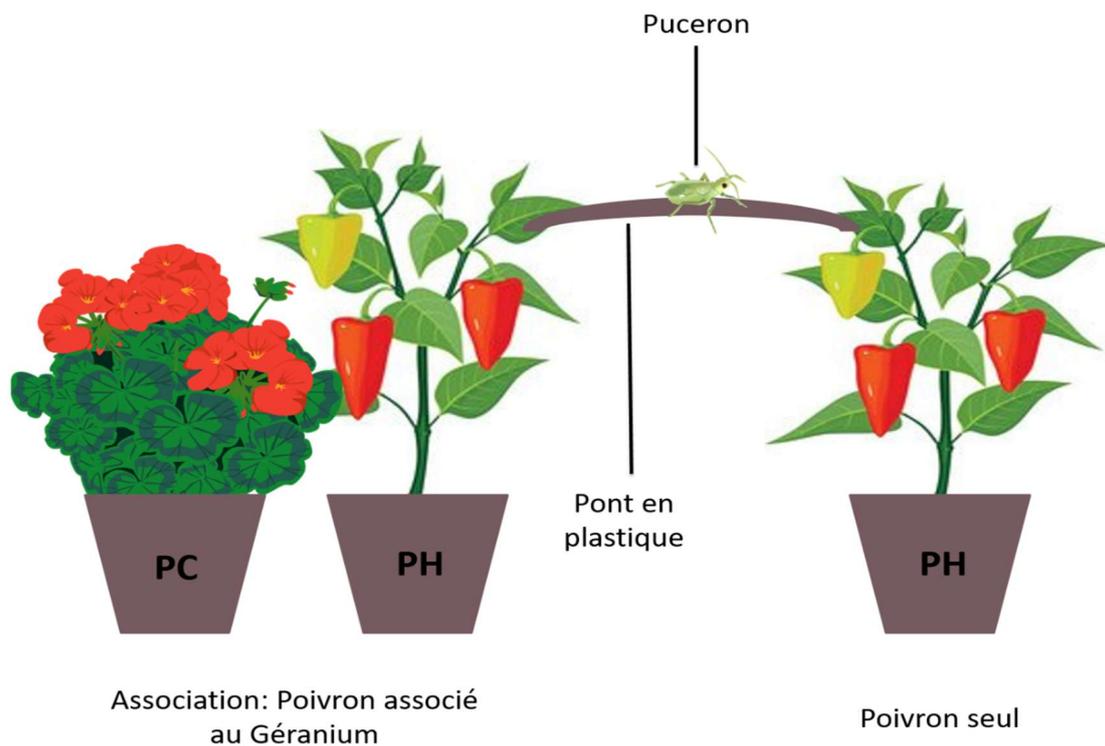


Figure 2 : Dispositif utilisé pour les tests de choix du puceron entre le poivron seul, la plante hôte (PH), et le poivron associé à un plant de géranium (PH+PC).

2. Comportement de choix du puceron

Cette étude s'appuie sur la méthode mise en œuvre dans Baudry *et al.* (2021). Pour ce test, deux plantes étaient reliées par un pont en plastique (10cm de long et 2cm de large) au milieu duquel un puceron aptère était placé. A chaque extrémité du pont se trouvait une feuille de chaque plante testée, ces deux feuilles étant espacées de 2cm, soit chacune de leurs extrémités à une distance de 1cm du milieu du pont. Chaque puceron était alors observé pendant 3 minutes après son dépôt, le choix de la plante par le puceron était ensuite noté lorsque celui-ci entrait en contact avec celle-ci. Chaque puceron ne rentrant pas en contact avec une plante au bout de 3min, était comptabilisé comme non-répondant. Différentes combinaisons de plantes ont été testées : poivron contre géranium (PH vs PC) (figure 1), poivron contre géranium effleuré (PH vs PCE), poivron associé au géranium contre poivron seul (PH+PC vs PH) (figure 2), poivron associé au géranium effleuré contre poivron seul (PH+PCE vs PH). Les lâchers individuels ont été répétés environ 40 fois par modalité (46 pour PH vs PC, 39 pour PH vs PCE, 40 pour PH+PC vs PH et 39 pour PH+PCE vs PH). Lors des expérimentations, la position relative des plantes a été alternée tous les cinq essais afin d'éviter tout biais dû à la position de la plante. Dans le même objectif, la feuille utilisée de la plante a également été changée tous les cinq essais et les plantes, quant à elles, ont été changées tous les 10 essais. Ces expérimentations ont eu lieu dans une pièce ventilée dans des conditions contrôlées ($21 \pm 1^\circ\text{C}$, $40 \pm 10\%$ d'hygrométrie relative, 16h/8h jour/nuit, 2,5 klux).

3. Comportement alimentaire du puceron

Le comportement alimentaire du puceron sur la plante hôte (le poivron) selon les trois modalités citées précédemment (PH, PH + PC et PH + PCE) a été étudié grâce à la technique d'électropénétrographie (EPG). Les enregistrements ont eu lieu pendant huit heures, au milieu des 16h de photophase, sous conditions contrôlées ($21 \pm 1^\circ\text{C}$, $40 \pm 10\%$ d'hygrométrie relative, 16h/8h jour/nuit, 2,5 klux). Les enregistrements ont pu être obtenus grâce à une installation consistant en un collage d'un mince fil d'or sur l'abdomen du puceron grâce à une colle conductrice à base d'argent. Ce fil d'or était ensuite relié à une électrode, elle-même reliée à un amplificateur. Une seconde électrode (elle aussi reliée à l'amplificateur) était ensuite placée dans le pot de poivron afin de fermer le circuit électrique lorsque le puceron se trouve sur la plante hôte (PH) et d'obtenir les données sur son comportement alimentaire (figure 3). L'installation utilisée a permis l'enregistrement simultané de 8 signaux issus de 8 pucerons sur leur plante hôte (PH). Les pucerons ont ainsi été placés sur la partie abaxiale d'une des feuilles les plus jeunes d'un plant de poivron (PH). L'acquisition et l'analyse des données concernant le comportement alimentaire ont été faites grâce au logiciel EPG Stylet + software (EPG Systems, www.epgsystems.eu). Les paramètres EPG ont ensuite été obtenus grâce au logiciel EPG-Calc (version 6.1.7, 05/06/2019). Dans ces conditions, il a été possible d'enregistrer 35 profils pour la modalité PH, 35 profils pour PH+PC et 34 profils pour PH+PCE.

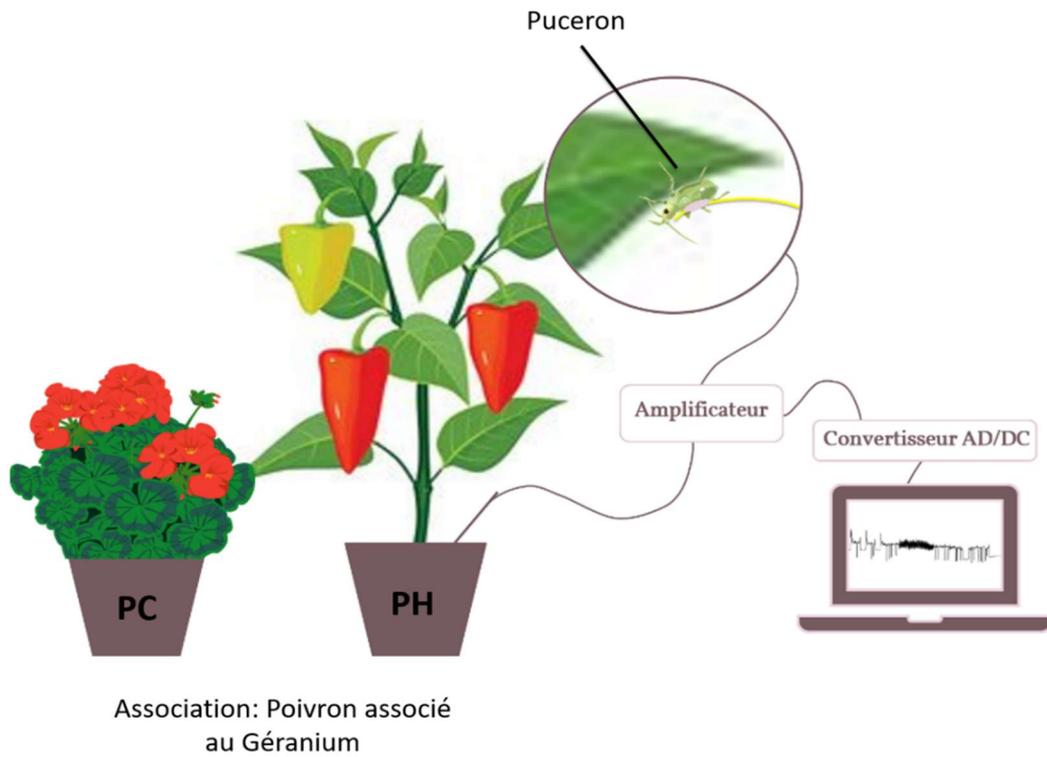


Figure 3 : Dispositif d'analyse du comportement alimentaire d'un puceron sur la plante hôte associée à la plante compagne (PH+PC) à l'aide de la technique d'électropénétrographie (EPG).

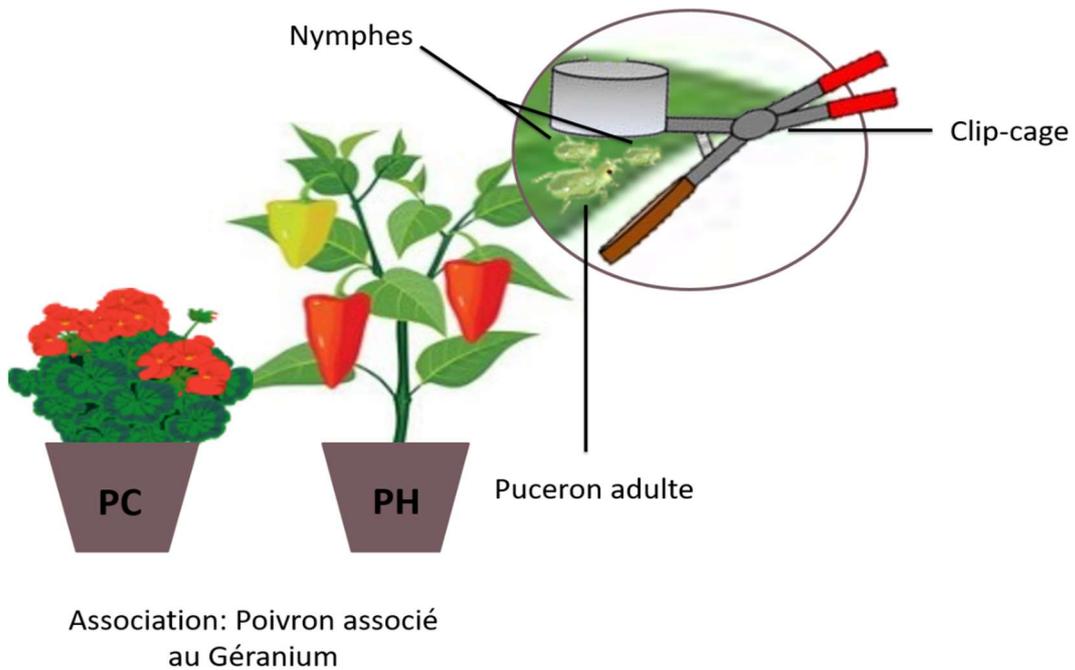


Figure 4 : Dispositif de suivi des traits d'histoire de vie du puceron sur la plante hôte associée à la plante compagne (PH+PC) grâce à une clip-cage.

Neuf paramètres EPG différents ont ainsi été retenus afin d'étudier le comportement alimentaire du puceron sous les différentes conditions d'étude. La durée totale de probing (s_{Pr}) correspondant à la durée totale d'activité des stylets du puceron dans l'ensemble des tissus de la plante hôte et le nombre de probing (n_{Pr}) correspondant au nombre d'insertion des stylets du puceron dans la plante. Ont également été évaluées la durée totale de l'insertion des stylets du puceron dans les tissus du mésophylle (s_C) ainsi que la durée totale du déraillement des stylets correspondant à une difficulté d'insertion et de progression des stylets du puceron dans le mésophylle (s_F), la durée totale de l'ingestion de la sève du xylème (s_G), la durée totale de salivation dans le phloème (s_{E1}) et la durée totale d'ingestion de sève élaborée au sein du phloème (s_{E2}). Enfin, le temps avant le premier probing ($t > 1Pr$) correspondant au temps avant la première insertion des stylets du puceron dans la plante hôte ainsi que le temps avant la première ingestion de sève du phloème ($t > 1E2$) ont été enregistrés.

4. Traits d'histoire de vie des pucerons (Boîtes de Pétri et Clip-cages)

Des études physiologiques ont également été menées afin de mesurer certains traits d'histoire de vie des pucerons placés soit en boîtes de Pétri soit en dispositifs de clip-cages. Chaque clip-cage était composée d'une pince supportant un cylindre transparent en acrylique (\varnothing 15 mm, 8 mm de long) fermé par une gaze de nylon permettant ainsi de laisser passer l'air tandis que l'étanchéité était assurée grâce à du feutre. Les clip-cages ont été placées de manière à déposer les pucerons sur la face abaxiale des jeunes feuilles des plants de poivron. Il y avait au maximum une clip-cage par feuille et ce sur la même feuille tout au long de l'expérimentation (figure 4). Les feuilles sélectionnées étaient les feuilles les plus jeunes et ayant une taille suffisante pour supporter le poids de la clip-cage. Concernant les études en boîtes de Pétri, une feuille de poivron a été incorporée dans un gel d'agar-agar à 2%, dans chaque boîte de Pétri de 90mm de diamètre, de manière à laisser l'accès aux pucerons à la face abaxiale de la feuille. Dans le cadre des modalités PH+PC et PH+PCE, une feuille de géranium était aussi coulée dans le gel, face abaxiale vers le haut, à 2 ± 1 cm de distance de la feuille de poivron. Les expérimentations en boîte de Pétri ainsi qu'en clip-cage ont eu lieu dans des conditions contrôlées ($21 \pm 1^\circ\text{C}$, $40 \pm 10\%$ d'hygrométrie relative, 16h/8h jour/nuit, 2,5 klux) dans des salles ventilées. Toutes ces études physiologiques ont eu lieu durant 9 jours, une durée correspondant à celle de la période pré-reproductive des pucerons, pendant lesquels la survie individuelle et la reproduction de chaque puceron, âgé de 7 ± 1 jours au début de l'expérimentation (stade adulte), ont été notées chaque jour. Concernant les expérimentations en boîtes de Pétri, un total de 36 individus a été suivi pour la modalité poivron seul (PH), 38 individus pour la modalité poivron associé au géranium (PH+PC) et 39 individus pour la modalité poivron associé au géranium effleuré (PH+PCE). De même, pour les expérimentations en clip-cages, 41 individus ont été suivis pour la modalité PH, 39 individus pour PH+PC et 38 individus pour PH+PCE. En boîte de Pétri, un changement des feuilles et du gel d'agar-agar avait lieu au cinquième jour.

5. Analyses statistiques des données collectées

L'ensemble des analyses statistiques a été réalisé en utilisant le programme statistique 'R' (version 4.0.3, 2020-10-10). Les données collectées ne suivaient pas une loi normale et ne respectaient pas la règle d'homoscédasticité, les analyses ont donc été menées à l'aide de test non-paramétriques.

Pour les tests de choix, la préférence des pucerons dans les différentes configurations testées a été comparée grâce à un test de χ^2 de conformité avec une probabilité de sélection équivalente, en cas d'absence de préférence, pour l'une ou l'autre des plantes ou associations (Annexe III).

Les données de fécondité journalière et totale ont été analysées à l'aide d'un Modèle Linéaire Généralisé (GLM) suivant une loi de Poisson. Lorsqu'un effet significatif était observé, une comparaison post-hoc deux à deux, en utilisant la méthode des moindres carrés de la moyenne (package R : « ls-means »), a été réalisée pour évaluer la différence entre les traitements (Annexe IV).

Les données de mortalité ainsi que les données du comportement alimentaire indiquant le temps avant le premier probing ($t > 1Pr$) et la première ingestion de sève phloémienne ($t > 1E2$) ont été analysées grâce à une régression de Cox. Le test a été réalisé grâce à la fonction `coxph` (package R : « survival »). Lorsqu'un effet significatif était observé, une comparaison post-hoc deux à deux, en utilisant la méthode « estimated marginal means » (package R : « em-means »), a été réalisée pour évaluer la différence entre les traitements (Annexe V et VI).

Le reste des données de comportement alimentaire ont été analysées à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis (Annexe VII). Lorsqu'un effet significatif était observé, une comparaison post-hoc deux à deux, en utilisant le test de permutation de Monte-Carlo (5000 répétitions), a été réalisée afin de tester la significativité de différence des moyennes des différents paramètres entre les traitements. Dans la mesure où le même jeu de données a été utilisé pour des comparaisons multiples, un ajustement de la p-value a été réalisé grâce à la méthode « p-ajust » en utilisant une correction de Bonferroni (Annexe IX).

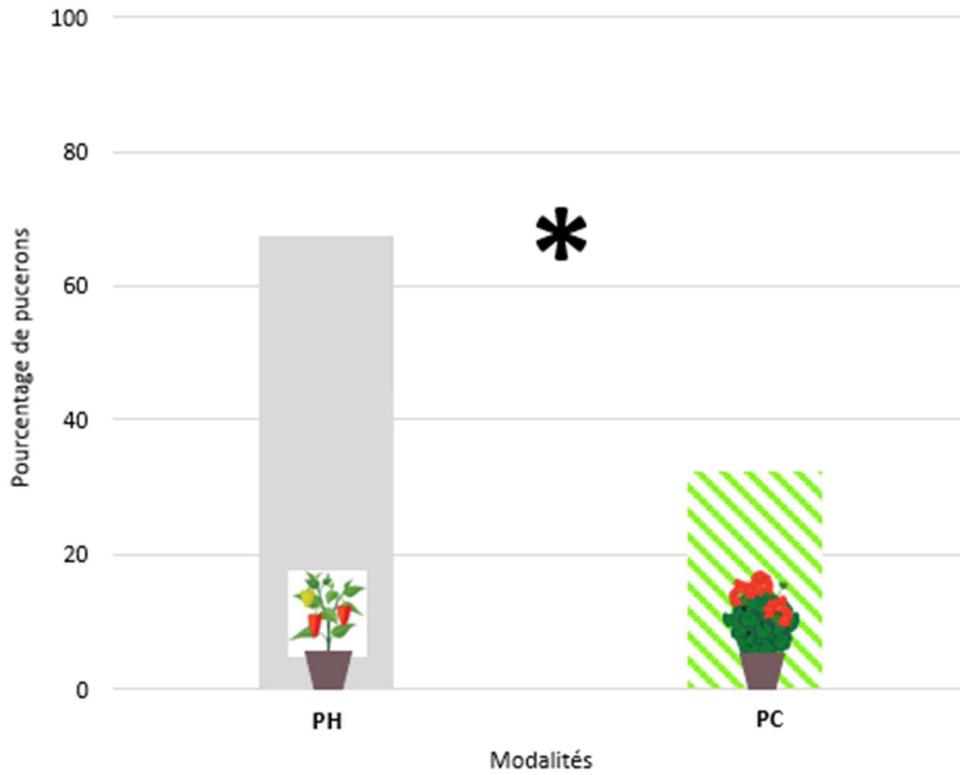


Figure 5 : Choix des pucerons entre la Plante Hôte (PH) et le Géranium (PC). * : $p < 0,05$.

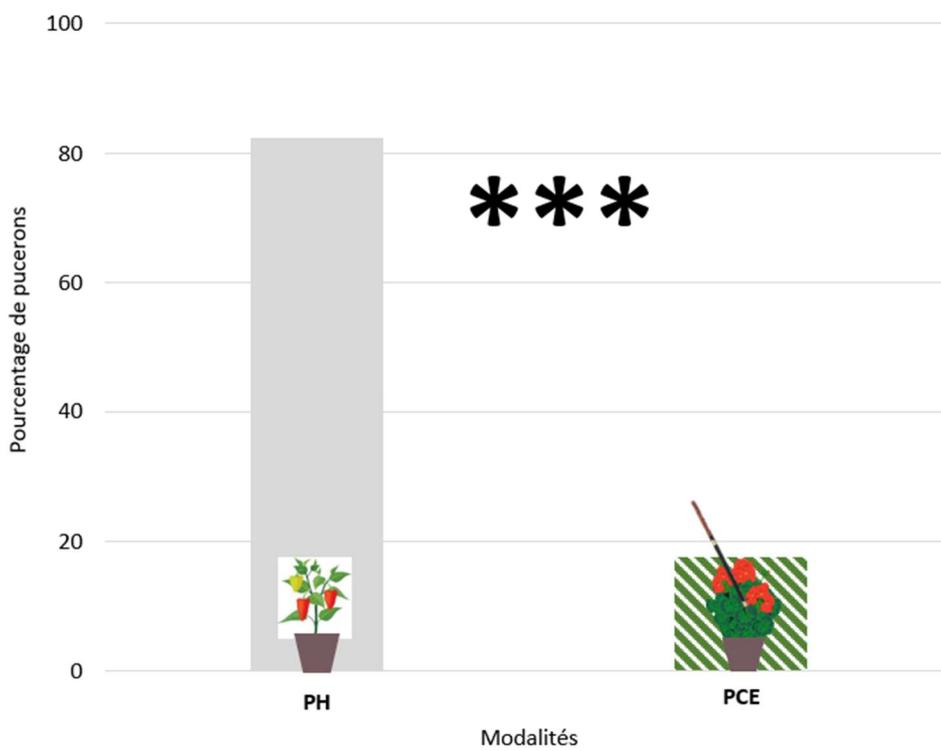


Figure 6 : Choix des pucerons entre la Plante Hôte (PH) et le Géranium dont les feuilles ont été Effleurées (PCE). *** : $p < 0,001$

III. Résultats

1. Comportement de choix des pucerons

Les tests de choix ont montré que les pucerons étaient significativement plus attirés par la PH (poivron) que par la PC (géranium). En effet, environ 68% des pucerons répondants se sont orientés vers la PH contre 32% vers la PC (figure 5) (Chi² test, p-value = 0,040) et ce avec 74% d'individus répondants. Ce comportement de préférence pour la PH était de plus accentué lorsque les feuilles de la PC avaient été stimulées mécaniquement. En effet, 82% des pucerons répondants (87% des pucerons testés étaient répondants) se sont orientés vers leur PH contre 18% vers la PCE (figure 6) ce qui représente une différence avec un degré de significativité plus important que lorsqu'il n'y avait pas eu de stimulation mécanique des feuilles de la PC (Chi² test, p-value < 0,001). Cependant, l'utilisation du géranium en tant que PC n'a pas eu d'impact significatif sur le comportement d'orientation des pucerons, et ce, qu'il y ait eu stimulation mécanique de ses feuilles ou non. En effet, le choix des pucerons répondants vers la PH seule est d'environ 55% contre environ 45% vers la PH associée à la PC, et ce, que les feuilles de la PC aient été stimulées mécaniquement (figure 7) ou non (figure 8). Le taux de répondants pour la modalité PH+PC était de 90% et pour PH+PCE de 77%.

2. Comportement alimentaire des pucerons

L'étude des paramètres de comportement alimentaire grâce à l'analyse EPG a permis de montrer une diminution significative de la durée totale d'ingestion phloémienne lorsque les pucerons étaient sur poivron associé à du géranium stimulé mécaniquement (PH+PCE). En effet, la durée totale d'ingestion phloémienne (s_E2) moyenne était de 33 ± 8 min pour les pucerons sur poivron associé au géranium stimulé mécaniquement (PH+PCE) contre 152 ± 34 min pour les pucerons dans la modalité témoin (PH) et 127 ± 30 min pour ceux dans la modalité poivron associé au géranium (PH+PC) (Tableau 2) (Kruskal Wallis : p-value = 0,013 ; Post-hoc : p-value = 0,023 pour PH vs PH+PCE et p-value = 0,022 pour PH+PC vs PH+PCE). Aucune autre des données EPG étudiées n'a montré de différence significative entre les différentes modalités testées.

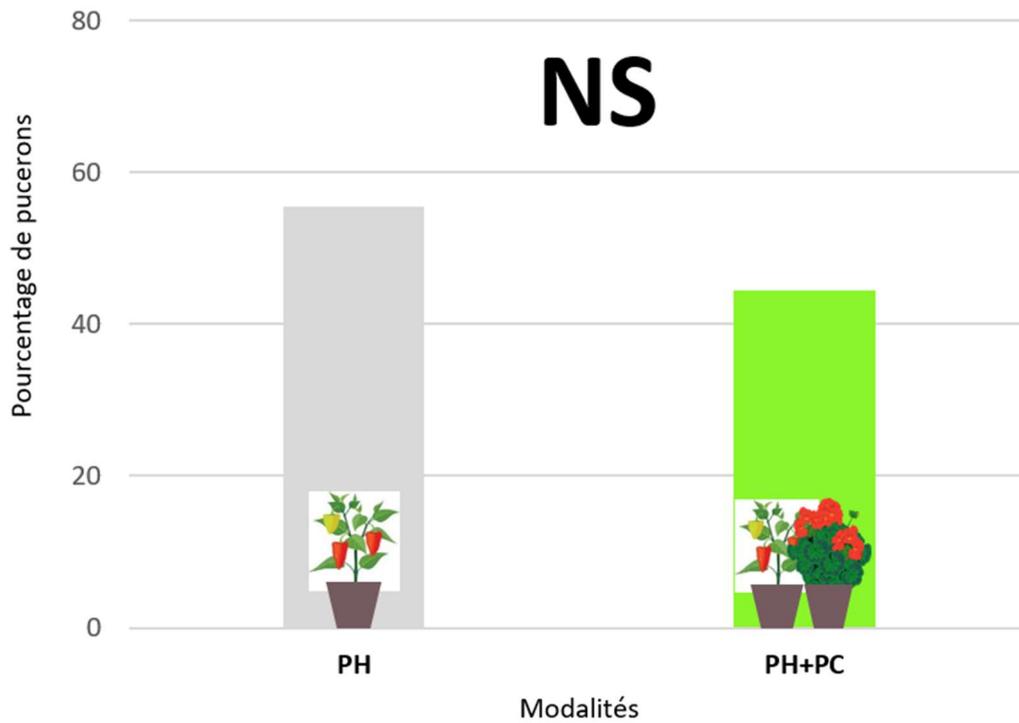


Figure 7 : Choix des pucerons entre la Plante Hôte seule (PH) et la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC). NS : Non Significatif.

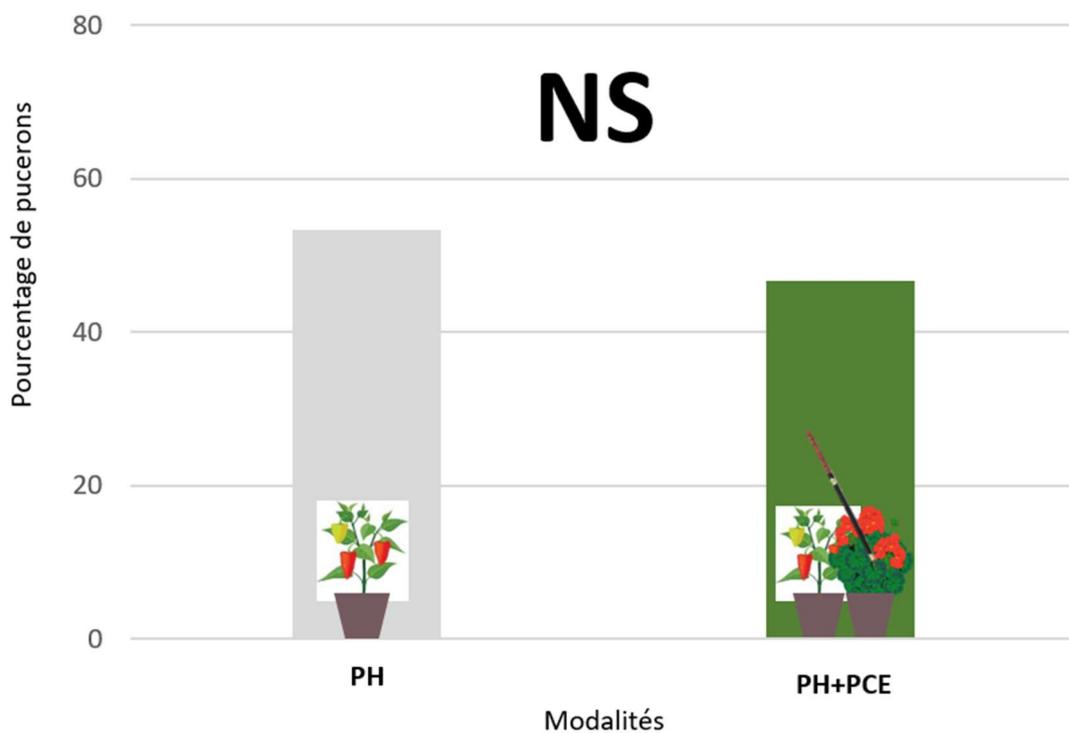


Figure 8 : Choix des pucerons entre la Plante Hôte seule (PH) et la Plante Hôte associée à la Plante Compagne dont les feuilles ont été Effleurée (PH+PCE). NS : Non Significatif.

3. Traits d'histoire de vie des pucerons (boîtes de Pétri et clip-cages)

A. Etude des traits d'histoire de vie en boîtes de Pétri

Les suivis en boîtes de Pétri sur la physiologie des pucerons ont permis de montrer que la présence d'une feuille de géranium stimulée mécaniquement permettait de réduire significativement la fécondité totale cumulée sur les 9 jours des pucerons (GLM, p -value < 0,001). En effet, la fécondité totale moyenne était significativement plus faible pour la modalité poivron associé au géranium effleuré (PH+PCE), avec $14,3 \pm 0,9$ nymphes produites au cours des 9 jours, par rapport aux deux autres modalités avec $18,7 \pm 0,8$ nymphes pour le témoin (PH) et $16,7 \pm 0,9$ nymphes pour la modalité poivron associé au géranium (PH+PC) (figure 9) (Comparaison post-hoc avec ls-means, p -value < 0,001 pour PH vs PH+PCE et p -value = 0,047 pour PH+PC vs PH+PCE).

Sur la figure 10 qui reprend la fécondité journalière des pucerons par modalité, on peut également voir qu'au jour 6 de l'expérimentation, on trouve une différence significative (GLM, p -value < 0,001), entre le témoin (PH) avec $2,8 \pm 0,2$ nymphes produites et la modalité poivron associé au géranium effleuré (PH+PCE) avec $1,6 \pm 0,2$ nymphes produites (Comparaison post-hoc avec ls-means, p -value = 0,001 pour PH vs PH+PCE).

Enfin, concernant la survie des pucerons au cours de l'expérimentation, il n'existe aucune différence significative entre les modalités (figure 11).

B. Etude des traits d'histoire de vie en clip-cages

Les suivis de la physiologie des pucerons sur plantes entières grâce aux clip-cages ont permis de montrer que la présence de géranium en tant que PC, qu'il soit stimulé mécaniquement ou non, permettait de réduire significativement la fécondité totale cumulée sur les 9 jours des pucerons (GLM, p -value < 0,001). La fécondité totale moyenne était significativement plus faible pour la modalité poivron associé au géranium (PH+PC) ainsi que pour la modalité poivron associé au géranium effleuré (PH+PCE), avec $9,8 \pm 0,6$ nymphes produites au cours des 9 jours pour la modalité PH+PC et $9,1 \pm 0,6$ nymphes pour la modalité PH+PCE, par rapport à la modalité témoin (PH) avec $14,0 \pm 1,0$ nymphes (figure 12) (Comparaison post-hoc avec ls-means, p -value < 0,001 pour PH vs PH+PC et pour PH vs PH+PC).

Tableau 1 : Paramètres de comportement alimentaire des pucerons (moyenne \pm erreur standard) analysé par EPG lorsque ceux-ci sont sur la Plante Hôte (PH), sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) et lorsqu'ils sont sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE).

	PH, N=25		PH+PC, N=25		PH+PCE, N=22		Kruskal Wallis	Test post hoc		
	n		n		n			PH vs PH+PC	PH vs PH+PCE	PH+PC vs PH+PCE
Phase Générale de probing (Pr)										
Nombre de probing (n_Pr)	25	15,04 \pm 1,65	25	17,80 \pm 1,81	22	12,27 \pm 1,30	0,105			
Durée totale du probing (min. s_Pr)	25	441,73 \pm 4,54	25	430,27 \pm 6,85	22	450,59 \pm 2,88	0,136			
Temps avant le premier probing (min. t>1Pr)	25	5,52 \pm 1,82	25	7,82 \pm 3,07	22	4,72 \pm 0,93	0,299			
Phase du mésophylle (C)										
Durée totale d'insertion des stylets dans le mésophylle (min. s_C)	25	198,15 \pm 16,94	25	209,79 \pm 13,17	22	240,00 \pm 13,32	0,151			
Phase phloémienne (E)										
Durée totale de la phase de salivation (min. s_E1)	25	29,73 \pm 4,10	25	29,13 \pm 4,72	22	38,86 \pm 5,80	0,376			
Durée totale d'ingestion phloémienne (min. s_E2)	18	152,39 \pm 34,43	16	127,00 \pm 29,67	13	33,01 \pm 7,88	0,013*	1	0,023*	0,022*
Temps avant la première ingestion phloémienne (min. t>1E2)	25	257,38 \pm 33,00	25	279,76 \pm 35,84	22	335,35 \pm 35,34	0,296			
Autres phases (G et F)										
Durée totale de la phase xylémienne (min. s_G)	20	92,64 \pm 12,68	14	49,78 \pm 12,80	22	94,05 \pm 13,95	0,010*	0,075	1	0,099
Durée totale de la phase de déraillement des stylets (min. s_F)	13	57,72 \pm 9,54	18	114,24 \pm 17,71	14	91,40 \pm 17,25	0,102			

Sur la figure 13 qui représente la fécondité journalière des pucerons par modalité, on peut également voir qu'il existait des différences significatives entre le témoin (PH) et les deux modalités tests (PH+PC et PH+PCE), montrant que les pucerons ont eu une meilleure reproduction sur le témoin que lorsque le géranium était présent en tant que PC (GLM, p-value < 0,001). C'est notamment le cas pour les jours 5, 7, 8 et 9 : en effet, pour le jour 5 par exemple, la fécondité était de $2,0 \pm 0,2$ nymphes pour les pucerons dans la modalité témoin (PH) contre $1,1 \pm 0,2$ nymphes pour les pucerons dans la modalité poivron associé au géranium (PH+PC) et $1,0 \pm 0,1$ nymphes pour ceux dans la modalité poivron associé au géranium stimulé mécaniquement (PH+PCE) (Comparaison post-hoc avec ls-means, p-value = 0,004 pour PH vs PH+PC et p-value = 0,001 pour PH vs PH+PCE). De plus, au jour 3, les pucerons montraient des fécondités significativement différentes entre la modalité poivron associé au géranium effleuré (PH+PCE) et les deux autres modalités : la fécondité était plus faible en présence de géranium effleuré (PH+PCE) avec $0,8 \pm 0,1$ nymphes produites contre $1,4 \pm 0,2$ dans la modalité témoin (PH) et la modalité poivron associé au géranium (PH+PC) (Comparaison post-hoc avec ls-means, p-value = 0,030 pour PH vs PH+PCE et p-value = 0,028 pour PH+PC vs PH+PCE). Étonnamment, on trouve de plus une différence significative au jour 1 montrant une fécondité significativement plus élevée en présence de géranium effleuré (PH+PCE), avec $1,6 \pm 0,2$ nymphes produites comparé à celle sur un géranium non stimulé (PH+PC), avec $1,0 \pm 0,2$ nymphes (Comparaison post-hoc avec ls-means, p-value = 0,035). Cependant, il n'y avait pas de différence significative au jour 1 entre les pucerons de la modalité témoin (PH) et ceux des deux autres modalités (PH+PC et PH+PCE).

Enfin, concernant la mortalité des pucerons au cours de l'expérimentation, il y a eu une hausse significative de la mortalité (Régression de Cox, p-value = 0,010) lorsque les pucerons étaient sur poivron associé au géranium stimulé mécaniquement (PH+PCE) par rapport aux pucerons de la modalité témoin (PH). En effet, on observe un taux de survie au bout de 9 jours de 90% sur poivron seul (PH) contre 62% sur poivron associé au géranium stimulé mécaniquement (PH+PCE) (figure 14) (Comparaison post-hoc avec em-means, p-value = 0,029 pour PH vs PH+PCE).

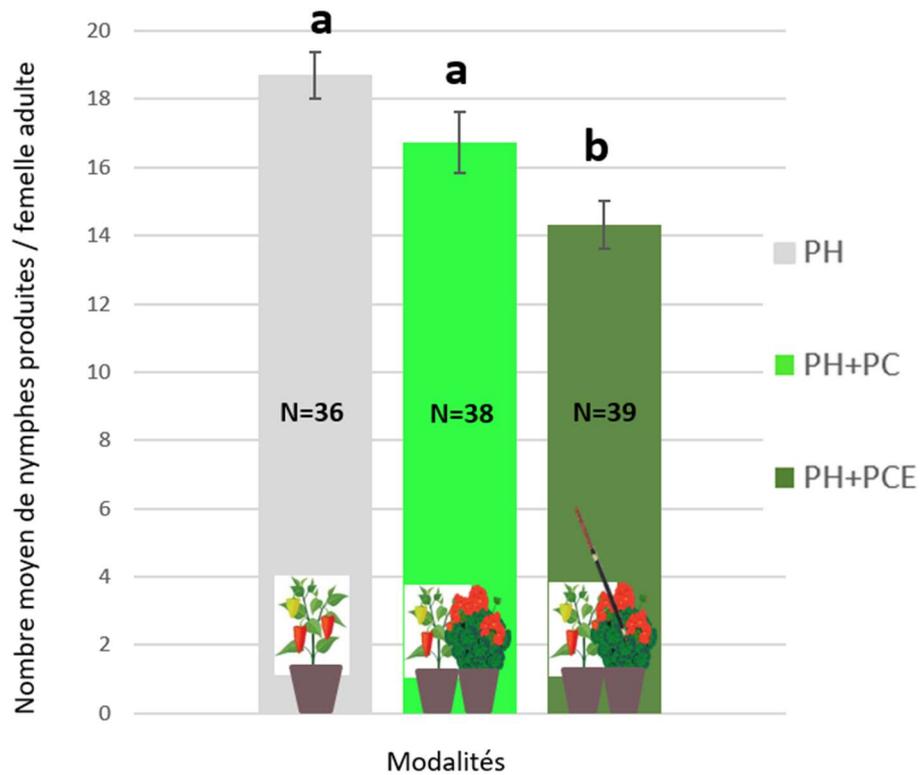


Figure 9 : Fécondité totale moyenne cumulée sur les 9 jours d'expérimentation (\pm SEM) des pucerons adultes (âgé de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci sont sur une feuille de la Plante Hôte (PH), sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) ou lorsqu'ils sont sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en boîte de Pétri. Des lettres différentes indiquent une différence significative au seuil de 5%.

IV. Discussion

Les résultats présentés dans cette étude ont permis de mettre en évidence les effets de *G. macrorrhizum* utilisé en tant que plante compagne sur la colonisation du poivron par le puceron vert du pêcher *M. persicae*.

Nos résultats peuvent être mis en relation avec les travaux de Singer (2000) et de Schoonhoven *et al.* (1998) qui ont décrit les concepts généraux de préférence et d'acceptation de la plante hôte par les pucerons. Selon ces études, la préférence d'un puceron s'exprime au niveau des étapes précédant le premier contact avec la plante, les premières insertions des stylets dans la plante hôte. Cette préférence lui permet ainsi d'évaluer la plante et d'identifier si elle correspond à une plante hôte ou non-hôte. D'un autre côté, l'acceptation de la plante se traduit par le prélèvement de sève élaborée dans le phloème et l'initiation à la reproduction sur la plante. Ainsi, notre étude montre que le géranium, utilisé en tant que plante compagne, n'a pas d'effets sur la préférence du puceron vis-à-vis de sa plante hôte. En effet, le géranium n'influence pas le comportement d'orientation du puceron. Cependant, il a un impact négatif sur l'acceptation du puceron de par la diminution d'ingestion de la sève élaborée du phloème lorsque ses feuilles sont effleurées ainsi que par la baisse de la fécondité et de la survie du puceron sur la plante hôte.

1. La présence de *G. macrorrhizum* en tant que plante compagne ne perturbe pas le comportement d'orientation du puceron

Dans notre étude, nous avons pu montrer que le puceron s'orientait préférentiellement vers le poivron lorsqu'on lui laissait le choix entre le géranium et le poivron. De plus, une stimulation mécanique des feuilles du géranium permettait d'accentuer cette préférence. Il est alors possible d'expliquer cela par l'émission de COVs répulsifs issus de la plante de géranium comme montré par Doss *et al.* en 1980 qui ont prouvé, grâce à une étude sur le rhododendron l'effet répulsif du germacrone, l'un des composants majoritaires des COVs émis par le géranium (Ilić *et al.* 2019), sur les Curculionidae. Cette émission est alors plus importante en cas de stimulation mécanique comme confirmé par nos collaborateurs dans l'étude sur l'émission des COVs par le géranium montrant une émission 1,25 fois plus importante de germacrone et de β -elemenone lorsque la plante est effleurée (Annexe 1). De plus, comme évoqué dans l'introduction, la stimulation ou la cassure des trichomes provoque une émission plus importante de COVs nocifs pour le ravageur (Mofikoya *et al.* 2019, Voigt *et al.* 2007 et Tissier *et al.* 2017). Il n'est également pas exclu que les COVs émis par le poivron puissent être attractifs pour le puceron.

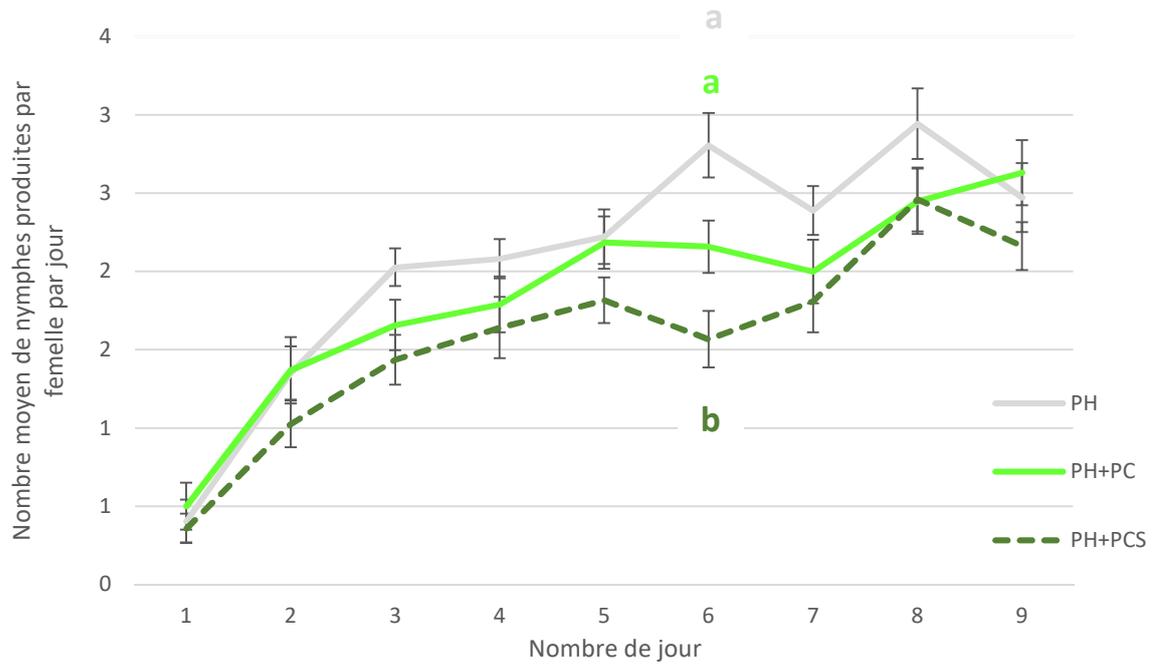


Figure 10 : Suivi de la fécondité journalière (\pm SEM) pendant 9 jours des pucerons adultes (âgé de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci sont sur une feuille de la Plante Hôte (PH), sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) ou lorsqu'ils sont sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en boîte de Pétri.

Cependant, la présence de géranium en tant que plante compagne n'a pas impacté le comportement d'orientation du puceron, et ce, que le géranium ait été effleuré ou non. Une explication possible est que la présence de COVs répulsifs dans un mélange n'implique pas qu'il possède une propriété répulsive comme le montre Dardouri *et al.* en 2018 en travaillant sur l'implication des COVs émis par les plantes de services sur la perturbation du comportement d'orientation de *M. persicae*. Il est également probable que la répulsion du puceron par les COVs émis par le géranium soit moins puissante que l'attraction des COVs émis par le poivron. C'est ce qu'a pu montrer Lamy en 2016, dans son rapport de thèse concernant la communication entre les plantes et les insectes pour la protection de culture, avec une répulsivité plus faible de la plante compagne que l'attractivité de la plante hôte sur la mouche du chou

2. La présence de *G. macrorrhizum* en tant que plante compagne peut altérer le comportement alimentaire du puceron

L'étude sur le comportement alimentaire du puceron a permis de montrer que la présence de géranium en tant que plante compagne n'impacte pas l'alimentation du puceron lorsque le géranium n'est pas effleuré. Cependant, lorsque l'on effectue une telle stimulation mécanique sur les feuilles, on observe un impact négatif sur l'alimentation du puceron se traduisant par une diminution de l'ingestion de la sève du phloème, constituant la nourriture principale du puceron. L'explication de cette différence entre la présence de géranium, qu'il soit stimulé ou non, pourrait se trouver en la présence de COVs anti-appétents émis par la plante de géranium de façon plus importante lorsque celle-ci est stimulée. En effet, comme évoqué dans l'introduction, c'est par la stimulation ou la rupture des trichomes présents sur les feuilles de géranium qu'une quantité plus importante de COVs potentiellement nocifs pour les ravageurs va être émis (Kremer *et al.* 2013 et Mofikoya *et al.* 2019). Ainsi, la présence de ces COVs en plus grande quantité peut expliquer la perturbation du comportement alimentaire du puceron. De plus, l'un des composants majoritaires émis par *G. macrorrhizum* est le germacrone (Ilić *et al.* 2019) connu pour avoir des propriétés anti appétantes sur les pucerons *M. persicae* et *R. padi* (Navarro-Rocha *et al.* 2018). Comme dit dans la partie précédente, ce germacrone est émis en plus grande quantité suite à une stimulation des trichomes des feuilles (effleurement) du géranium (Annexe 1). Ceci pourrait alors expliquer l'effet anti-appétant sur les pucerons uniquement en présence de géranium effleuré. Cependant, il est très rare qu'un seul des principaux paramètres du comportement alimentaire soit touché, comme ici au sein de notre étude. En effet, il est souvent associé à une diminution d'ingestion phloémienne, une augmentation de prélèvement au sein des tissus du xylème, montrant un stress du puceron et un dérangement dans l'acceptation de son hôte par le puceron (Sauge *et al.* 2002) ou encore une perturbation de l'activité de probing du puceron. Ainsi, une hypothèse peu probable, du fait de l'unique effet sur l'ingestion phloémienne, serait que le germacrone soit une substance répulsive pour le puceron et que son émission perturbe ainsi l'ingestion phloémienne de ce dernier sans impacter les autres composantes de son alimentation.

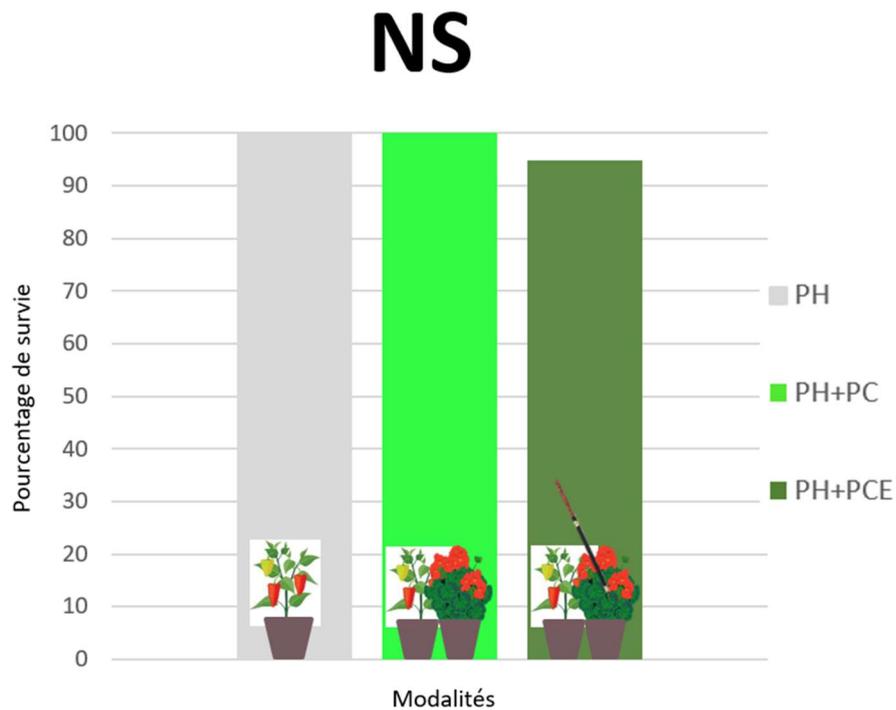


Figure 11 : Pourcentage de survie au bout des 9 jours d'expérimentation des pucerons adultes (âgés de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci sont sur une feuille de la Plante Hôte (PH), sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) ou lorsqu'ils sont sur une feuille de la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en boîte de Pétri.



Figure 12 : Fécondité totale moyenne cumulée sur les 9 jours d'expérimentation (\pm SEM) des pucerons adultes (âgés de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci étaient sur la Plante Hôte (PH), sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) ou sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en clip-cage.

En effet, comme montré par Dardouri *et al.* en 2020, un dérangement olfactif du puceron engendre un dérangement du comportement alimentaire par une augmentation du nombre de piqures. Il est difficilement concevable que le germacrene masque les odeurs du poivron en le rendant plus difficilement reconnaissable, car cette hypothèse impliquerait que d'autres paramètres alimentaires soient impactés comme le nombre d'insertion des stylets du puceron dans le mésophylle ou encore la durée de prélèvement dans le xylème. De la même manière, du fait que le temps avant la première insertion des stylets dans les tissus du phloème ($t > 1E2$) n'ait pas été modifié par la présence de géranium, il semble que le dérangement du comportement alimentaire du puceron ne puisse pas être dû à la modification de composés de surfaces ou à une imprégnation du poivron dû à l'émission de COVs par la plante compagne comme cela a pu être montré avec la ciboulette (Amarawardana *et al.* 2007). Enfin, il est possible que les COVs émis par le géranium aient un effet toxique sur les pucerons et qu'une stimulation du géranium permette d'augmenter l'émission de ces COVs toxiques impactant ainsi l'alimentation des pucerons. En ce sens, les études de Benelli *et al.* en 2016 et de Liang *et al.* en 2021 montrent des effets toxiques du germacrene sur des insectes tels que *Tribolium castaneum*, *Lasioderma serricornis* ou encore sur des Tetranychidae tel que *Tetranychus urticae* (Tetranychidae).

Quelle que soit l'hypothèse retenue, la durée de prélèvement de sève phloémienne est impactée négativement par la présence de géranium effleuré, en tant que plante compagne, ce qui montre une perturbation du puceron dans l'acceptation de la plante hôte (Powell *et al.* 2006).

3. La présence de géranium en tant que plante compagne impacte négativement la reproduction et peut réduire la survie du puceron.

Grâce à l'étude sur la physiologie, nous avons pu montrer que le géranium, utilisé en tant que plante compagne, entraîne une réduction de la fécondité du puceron, et même une diminution de sa survie lorsque ses feuilles sont effleurées.

La toxicité de plusieurs COVs, notamment provenant d'huiles essentielles, a déjà été décrite dans d'autres études (Regnault-Roger *et al.* 2008). La réduction de la survie, uniquement lorsque le géranium est effleuré, peut alors être expliquée par l'émission plus importante de germacrene et de β -Elemenone évoquée précédemment (Annexe 1). Ces COVs toxiques peuvent soit impacter directement la survie et la fécondité, soit réduire l'alimentation des pucerons, réduisant par le fait leur survie et leur fécondité comme ont pu le montrer Dardouri *et al.* en 2020 qui ont effectué des études en boîtes de Pétri sur la survie et la fécondité du puceron *M. persicae* sur sa plante hôte lorsque celui-ci était mis en présence de COVs d'une plante non-hôte.

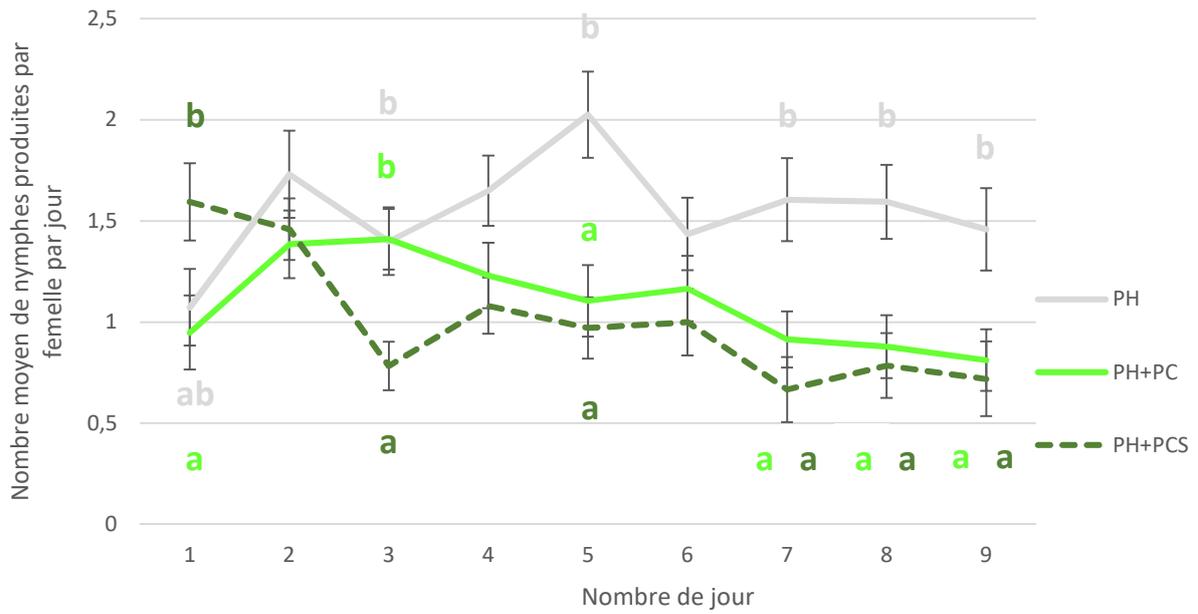


Figure 13 : Suivi de la fécondité journalière (\pm SEM) pendant 9 jours des pucerons adultes (âgé de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci étaient sur la Plante Hôte (PH), sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) ou lorsqu'ils étaient sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en clip-cage.

L'impact sur la fécondité peut être expliqué par l'émission de COV(s) perturbant la reproduction du puceron comme il a été montré par Ben Issa *et al.* 2016 dans leurs études sur les effets de différentes plantes compagnes dont une Geraniaceae (*Pelargonium zonal*) montrant des effets négatifs sur la reproduction des pucerons. Il existe alors plusieurs explications au fait que la stimulation mécanique du géranium n'amplifie pas les effets obtenus sur la fécondité. La première est que le(s) COV(s) perturbant la fécondité ne seraient pas émis en plus grande quantité lorsqu'il y a stimulation. La deuxième est que l'amplification de l'émission ne serait pas suffisante pour causer une baisse de fécondité plus importante. La troisième consisterait en l'absence d'effet dose sur ce ou ces composés, c'est-à-dire que, quelle que soit la dose du ou des composés émis, les effets seraient toujours identiques comme montré par Görür *et al.* en 2008 dans leurs études sur les effets d'huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Veronica officinalis* et *Agrimonia eupatoria* sur le puceron du chou *Brevicoryne brassicae*.

Nous avons obtenu des résultats montrant une baisse plus importante sur la fécondité ainsi que sur la survie lorsque nous avons effectué les expérimentations grâce aux clip-cages plutôt qu'en boîtes de Pétri. Ces résultats sont contraires à d'autres études comme celle de Baudry *et al.* 2021 durant laquelle l'effet probiotique du poireau, utilisé en tant que plante compagne était plus important en boîte de Pétri qu'en clip-cage. En effet, on pourrait s'attendre à ce que les COVs soient plus concentrés au sein des boîtes de Pétri, qui constituent un environnement clos, qu'au sein des clip-cages, qui représentent un environnement plus ouvert. L'explication se trouve probablement dans le fait que le géranium ne pourrait émettre des COVs que lorsque la plante est entière. En effet, lors des expérimentations en boîte de Pétri, était utilisée uniquement une feuille de géranium, changée au bout de 5 jours tandis qu'en clip-cage, étaient utilisées des plantes entières. Une autre explication serait que la feuille coupée de géranium en boîte de Pétri émette des COVs différents ou de nouveaux COVs ajoutés à ceux normalement émis du fait de la lésion de la feuille. Ainsi, il y aurait création d'un nouveau bouquet d'odeurs pouvant avoir des effets moindres sur la physiologie du puceron. C'est ce qui a pu être démontré par Gouw *et al.* en 1999, qui ont observé que l'herbe et les trèfles, lorsque soumis à une lésion, émettent de nouveaux COVs. D'un autre côté, une lésion peut engendrer une diminution d'émission de certains COVs. C'est ce qu'ont pu montrer Santos Tozin *et al.* en 2017, grâce à leur étude sur les effets d'une attaque de fourmis coupeuses de feuilles ce qui a modifié l'émission de COVs de la plante de faux basilic en l'augmentant pour certains composés ou en la réduisant pour d'autres. En ce sens, il est possible que dans notre étude la lésion causée par la coupure de la feuille de géranium ait pu engendrer une réduction d'émission du ou des composés responsables de la réduction de la fécondité ou de la survie du puceron.



Figure 14 : Pourcentage de survie au bout des 9 jours d'expérimentation des pucerons adultes (âgé de 7 ± 1 jours) lorsque ceux-ci étaient sur la Plante Hôte (PH), sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne (PH+PC) et lorsqu'ils étaient sur la Plante Hôte associée à la Plante Compagne Effleurée (PH+PCE) en clip-cage.

V. Conclusion et perspectives

De nombreux travaux sur les plantes compagnes montrent des effets soit neutres soit négatifs vis-à-vis des pucerons ravageurs de cultures, permettant ainsi de protéger les plantes-hôtes (Ben-Issa *et al.* 2017). Cependant, peu d'études ont été menées sur la famille des Geraniaceae, représentant pourtant une famille prometteuse pour son utilisation en tant que plante compagne, comme nous avons pu le prouver dans cette étude. En effet, malgré les effets neutres de *G. macrorrhizum*, utilisé en tant que plante compagne, sur la préférence du puceron, nous avons pu montrer que cette plante présente des effets négatifs sur l'acceptation du puceron vis-à-vis de sa plante hôte. De plus, *G. macrorrhizum* est également connu pour ses effets attractifs sur les pollinisateurs comme le montrent Masierowska *et al.* en 2018 ce qui rend cette plante d'autant plus bénéfique dans son utilisation en tant que plante compagne. Une perspective d'étude pourrait s'articuler autour de la potentielle attractivité de *G. macrorrhizum*, en tant que plante compagne, sur les ennemis naturels des pucerons. Il pourrait également être envisagé d'étudier la toxicité des composés émis par *G. macrorrhizum* et tout particulièrement le germacrone connu pour sa toxicité et ce par les différentes méthodes telles que l'ingestion, l'inhalation et le contact sur différents insectes afin de découvrir de nouvelles méthodes de luttés et la méthode la plus efficace. Enfin, il pourrait être envisageable d'étudier les modalités de stimulation des trichomes et de réfléchir à des méthodes d'applications. En ce sens, lors des expérimentations nous avons pu observer un dégagement d'odeurs plus prononcé suite à un arrosage ou un déplacement des plantes de géranium. Ainsi, des méthodes d'irrigation ou même d'agencement des plantations pourraient être envisagées afin de faciliter une stimulation des trichomes par l'eau et/ou le vent.

Bibliographie

Al-Bedairy, N. R.; Alsaadawi, I. S.; Shati, R. K.; Combining effect of allelopathic *Sorghum bicolor* L. (Moench) cultivars with planting densities on companion weeds; Archives of Agronomy and Soil Science; 2012; Volume 59; Issue 7; 955-961

Altieri, M.; Nicholls, C.; Biodiversity and Pest Management in Agroecosystems; CRC Press: New York, NY, USA, 2004; 185

Amarawardana, L.; Bandara, P.; Kumar, V.; Pettersson, J.; Ninkovic, V.; Glinwood, R.; Olfactory response of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) to volatiles from leek and chive: Potential for intercropping with sweet pepper; Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science; 2007; Volume 57; Issue 1; 87-91

Asakawa, Y.; Yoyota, M.; Takemoto, T.; Kubo, I.; Nakanishi, K.; Insect antifeedant secoaromadendrane-type sesquiterpenes from *Plagiochila* species; Phytochemistry; 1980; Volume 19; Issue 10; 2147-2154

Baudry, X.; Doury, G.; Couty, A.; Fourdrain, Y.; Van Havermaet, R.; Lateur, M.; Ameline, A.; Antagonist effects of the leek *Allium porrum* as a companion plant on aphid host plant colonization; Scientific Reports; 2021; Volume 11; Article number: 4032

Benelli, G.; Pavela, R.; Canale, A.; Nicoletti, M.; Petrelli, R.; Cappellacci, L.; Galassi, R.; Maggi, F.; Isofuranodiene and germacrone from *Smyrniololus olusatrum* essential oil as acaricides and oviposition inhibitors against *Tetranychys urticae*: impact of chemical stabilization of isofuranodiene by interaction with silver triflate; Journal of Pest Science; 2017; Volume 90; 693-699

Ben Issa, R.; Gautier, H.; Costagliola, G.; Gomez, L.; Which companion plants affect the performance of green peach aphid on host plants? Testing of 12 candidate plants under laboratory conditions; Entomologia Experimentalis et Applicata; 2016; Volume 160; Issue 2; 164-178

Ben Issa, R.; Gomez, L.; Gautier, H.; Companion Plants for Aphid Pest Management; 2017; Insects; Volume 8; Issue 4; 112

Blackman, R. L.; Eastop, V.F.; Aphids on the world's crops: an identification and information guide; 2nd edition; Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd; 2000; 39

Chalchat, J.C.; Petrovic, S.D.; Maksimovic, Z.A. & Gorunovic, M.S.; A Comparative Study on Essential Oils of *Geranium macrorrhizum* L. and *Geranium phaeum* L., Geraniaceae from Serbia; Journal of Essential Oil Research; 1999; Volume 14; Issue 5; 333-335

Cheema, Z. A.; Khaliq, A.; Saeed, S.; Weed control in Maize (*Zea mays* L.) through Sorghum Allelopathy; Journal of Sustainable Agriculture; 2004; Volume 23; Issue 4; 73-86

Chen, L.; Li, D.; Shao, Y.; Adni, J.; Wang, H.; Liu, Y.; Zhang, Y.; Comparative analysis of soil microbiome profiles in the companion planting of white clover and orchard grass using 16S rRNA gne sequencing data; *Frontier in Plant Science*; 2020; Volume 11; Article 538311

Chen, Y.; Martin, C.; Fingu Mabola, J.C.; Verheggen, F.; Wang, Z.; He, K.; Francis, F.; Effects of Host Plants Reared under Elevated CO₂ Concentrations on the Foraging Behavior of Different Stages of Corn Leaf Aphids *Rhopalosiphum maidis*; *Insects*; 2019; Volume 10; Issue 2; 182

Collier, R.H.; Finch, S.; The Effect of Increased Crop Diversity on Colonisation by Pest Insects of Brassica Crops; *British Crop Protection Council*: Farnham, UK, 2003; 439–444.

Cunningham, S.J.; *Great Garden Companions: A Companion Planting System for a Beautiful; Chemical-Free Vegetable Garden*; Rodale Books: Emmaus, PA, USA; 1998

Dardouri, T.; Implication des composés organiques volatils dans la capacité des plantes de service à perturber le comportement et les performances de *Myzus persicae* (sulzer) le puceron vert du pêcher ; (thesis), Avignon dans le cadre de École doctorale 536 « Sciences et agrosociences » (Avignon); 2018

Dardouri, T.; Gomez, L.; Ameline, A.; Costagliola, G.; Schoenyc, A. & Gautier H.; Non-host volatiles disturb the feeding behavior and reduce the fecundity of the green peach aphid, *Myzus persicae*; *Pest Management Science*; 2020; Volume 77; Issue 4; 1705-1713

Dedryver, C. A.; Le Ralec, A.; Fabre F.; The conflicting relationship between aphids and men : A review of aphid damage and control strategies; *Comptes Rendus Biologies*; 2010; Volume 333; Issue 6-7; 539-553

Deletre, E.; Schatz, B.; Bourguet, D.; Chandre, F.; Williams, L.; Ratnadass, A.; Martin, T.; Prospects for repellent in pest control: current developments and future challenges; *Chemoecology*; 2016; Volume 26; 127-142

Doss, R.P.; Luthi, R.; Hrutfiird B.J.; Germacrone, a sesquiterpene repellent to obscure root weevil from *Rhododendron edgeworthii*; *Phytochemistry*; 1980; Volume 19; Issue 11; 2379-2380

Dugravot, S.; Thibout, E.; Abo-Ghalia, A.; Huignard, J.; How a specialist and a non-specialist insect cope with dimethyl disulfide produced by *Allium porrum*; *Entomologia Experimentalis et Applicata*; 2004; Volume 113; Issue 3; 173-179.

Glas, J.J.; Schimme, B.C.J.; Alba, J.M.; Escobar-Bravo, R.; Schuurink, R.C.; Kant, M.R.; Plant glandular trichomes as targets for breeding or engineering of resistance to herbivores; *International Journal Molecular Science*; 2012; Volume 13; Issue 12; 17077-17103

González-Coloma, A.; Valencia, F.; Martin, N.; J. Hoffmann, J.; Hutter, L.; Marco, J.A.; Reina, M.; Silphinene sesquiterpenes as model insect antifeedants; *Journal of Chemical Ecology*; 2002; Volume 28; 117-129

Görür, G.; Abdullah, M.; Isik, M.; Insecticidal activity of the *Thymus*, *Veronica* and *Agrimonia*'s essential oils against the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*; *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*; 2008; Volume 43; Issue 1; 201-208

Gouw, J. A.; Howard, C. J.; Custer, T. G.; Fall, R.; Emissions of volatile organic compounds from cut grass and clover are enhanced during the drying process; *Geophysical Research Letters*; 1999; Volume 26; Issue 7; 811-814

Griffiths-Lee, J.; Nicholls, E.; Goulson, D.; Companion planting to attract pollinators increases the yield and quality of strawberry fruit in gardens and allotments; *Ecological Entomology*; 2020; Volume 45; Issue 5; 1025-1034

Held, D.W.; Gonsiska, P.; Potter, D.A.; Evaluating companion planting and non-host masking odors for protecting roses from the Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Economic Entomology*; 2003; Volume 96; Issue 1; 81-87

Ilić, M.D.; Marčetić, M.D.; Zlatković, B.K.; Lakušić, B.S.; Kovačević, N.N.; Drobac, M.M.; Chemical composition of volatiles of eight *Geranium* L. species from Vlasina Plateau (South Eastern Serbia); *Chemistry & Biodiversity*; 2019; Volume 17; Issue 2

Khan, A. A.; Kundoo, A. A.; Khan, Z. H.; Identification of the most conservative plant species for promising natural enemies of arthropods pests of Vegetable crops; *Journal of Entomology and Zoology Studies*; 2020; Volume 8; 2244-2250

Kremer, D.; Cepo, DV.; Dunkic, V.; Mueller, ID.; Kosalec, I.; Bezic, N.; Stabentheiner, E.; Phytochemical and micromorphological traits of *Geranium dalmaticum* and *G. macrorrhizum* (Geraniaceae); *Natural Product Communications*; 2013; Volume 8; Issue 8; 645-650

Lamy, F. ; Comprendre et manipuler la communication entre les plantes et les insectes pour protéger les cultures : vers l'élaboration d'une stratégie « Push-Pull » pour lutter contre la mouche du chou (*Delia radicum*); (thesis); Rennes 1 dans le cadre de École doctorale Vie-Agro-Santé (Rennes); 2016

Liang, J.; Yang, Y.; An, Y.; Shao, Y.; He, C.; Zhang, J. & Jia, L.; Insecticidal and acetylcholine esterase inhibition activity of *Rhododendron thymifolium* essential oil and its main constituent against two stored product insects; *Journal of Environmental Science and Health, Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*; 2021; Volume 56; Issue 4; 423-430

Masierowska, M.; Stawiarz, E.; Rozwalka, R.; Perennial ground cover plants as floral resources for urban pollinators: A case of *Geranium* species; *Urban Forstry & Urban Greening*; 2018; Volume 32; 185-194

Mofikoya, A.O.; Bui, T.N.T.; Kivimäenpää, M., Holopainen, J.K.; Himanen, S.J.; Blande, D.B.; Foliar behaviour of biogenic semi-volatiles: potential applications in sustainable pest management; *Arthropod-Plant Interactions*; 2019; Volume 13; 193-212

- Navarro-Rocha, J.; F. Barrero, A.; Burillo, J.; Sonia Olmeda, A.; González-Coloma, A.; Valorization of essential oils from two populations (wild and commercial) of *Geranium macrorrhizum* L.; *Industrial Crops and Products*; 2018; Volume 116; 41-45
- Paluch, G.E., Zhu, J.; Bartholomay, L.; Coats, J. R.; Amyris and siam-wood essential oils: insect activity of sesquiterpenes; *Pesticides in Household, Structural and Residential Pest Management*; 2009; Volume 1015; Issue 2; 5-18
- Parker, J. E.; Snyder, W. E.; Hamilton, G. C.; Rodriguez-Saona, C.; Companionplanting and insect pest control; *Weed and pest control*; 2013; Chapter 1; 1-29
- Parolin, P.; Bresch, C.; Desneux, N.; Brun, R.; Boll, R.; Poncet, C.; Secondary plants used in biological control: A review; *International Journal of Pest Management*; 2012; Volume 58; Issue 2; 91-100
- Pickett, J.A.; Wadhams, L.J.; Woodcock C.M.; The chemical ecology of Aphids; *Annual Review of Entomology*; 1992; Volume 37; 67-90
- Pickett, J.A.; Wadhams, L.J.; Woodcock, C.M.; Developing sustainable pest control from chemical ecology. *Agriculture, Ecosystems & Environment, Integrated Crop Protection: Towards Sustainability ?*; 1997; Volume 64; Issue 2; 149-156.
- Powell, G.; Tosh, C.R.; Hardie, J.; Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives; *Annual Review Entomology*; 2006; Volume 51; 309-330
- Radulović, N.S.; Dekić, M.S.; Stojanović-Radić, Z.Z.; Zoranić, S.K.; *Geranium macrorrhizum* L. (Geraniaceae) essential oil: a potent agent against *Bacillus subtilis*; *Chemistry & Biodiversity*; 2010; Volume 7; Issue 11; 2783-2800
- Regnault-Roger, C.; Philogène, B.J.; Vincent, C.; *Biopesticides d'origine végétale* ; 2nd édition; 2008; Lavoisier
- Santos Tozin, L. R.; Mayo Marques, M. O.; Rodriguez, T. M.; Herbivory by leaf-cutter ants changes the glandular trichomes density and the volatile components in an aromatic plant model; *AoB Plants*; 2008; Volume 9; Issue 6
- Sarker, P.; Rahman, M.; Das, B.; Effect of intercropping with mustard with onion and garlic on aphid population and yield; *Journal of Bio-Science*; 2009; Volume 15; 35-40
- Sauge, M.-H.; Lacroze, J.-P.; Poëssel, J.-L.; Pascal, T.; Kervella, J.; Induced resistance by *Myzus persicae* in the peach cultivar 'Rubira'; *Entomologia Experimentalis et Applicata*; 2002; Volume 102; Issue 1; 29-37
- Schoonhoven, L. M.; Jermy, T. & Van Loon, J. J. A.; Host-plant selection: how to find a host plant; *Insect-Plant Biology: from Physiology to Evolution*; 1998; Chapman and Hall, London; 121-153
- Seigies, A.; Pritts, M.; Cover Crop Rotations Alter Soil Microbiology and Reduce Replant Disorders in Strawberry; *HortScience*; 2006; Volume 41; Issue 5; 1303-1308

- Singer, M.C.; Reducing ambiguity in describing plant-insect interactions: “preference”, “acceptability” and “electivity”; *Ecology Letters*; 2000; Volume 3; No.3; 159-162
- Song, B.; Wu, H.; Kong, Y.; Zhang, J.; Du, Y.; Hu, J.; Yao, Y.; Effects of intercropping with aromatic plants on the diversity and structure of an arthropod community in a pear orchard; *BioControl*; 2010; Volume 55; 741-751
- Tissier, A.; Morgan, J.A.; Dudareva, N.; Plant volatiles: going ‘In’ but not ‘Out’ of trichome cavities; *Trends in Plant Science*; 2017; Volume 22; Issue 11; 930-938
- Togni, P.H.B.; Laumann, R.A.; Medeiros, M.A.; Sujii, E.R.; Odour masking of tomato volatiles by coriander volatiles in host plant selection of *Bemisia tabaci* biotype B; *Entomologia Experimentalis et Applicata*; 2010; Volume 136; Issue 2; 164-173
- Tosh C.; Powell G.; Hardie J.; Maternal reproductive decisions are independent of feeding in the black bean aphid, *Aphis fabae*; *Journal of Insect Physiology*; 2002; Volume 48; Issue 6; 619-629
- Vandermeer, J.H.; *The Ecology of Intercropping*; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1992
- Vernon, R.S.; Van Herk, W.G.; Clodius, M.; Tolman, J.; Companion planting attract and kill method for wireworm management in potatoes; *Journal of Pest Science*; 2016; Volume 89; 375-389
- Verret, V.; Gardarin, A.; Pelzer, E. ; Médiène, S. ; Makowski, D. ; Valantin-Morisson M. ; Can legume companion plants control weeds without decreasing crop yield? A meta-analysis; *Field Crops Research*; 2017; Volume 204; 158-168
- Voigt, D.; Gorb, E.; Gorb, S.; Plant surface-bug interactions: *Dicyphus errans* stalking along trichomes. *Arthropod-Plant Interact*; 2007; Volume 1; 221-243
- Wang, G.; Tian, L.; Aziz, N.; Broun, P.; Dai, X.; He, J.; King, A.; Zhao, P.X.; Dixon, R.A.; Terpene biosynthesis in glandular trichomes of Hop; *Plant Physiology*; 2008; Volume 148; Issue 3; 1254-1266
- Wilby, A.; Thomas, M.B.; Natural enemy diversity and pest control: patterns of pest emergence with agricultural intensification; *Ecology Letters*; 2002; Volume 5; Issue 3; 353-360
- Zhang, A.; Klun, J.; Wang, S.; Carroll, J.; Debboun, M.; Isolongifolenone: a novel sesquiterpene repellent of ticks and mosquitoes; *Journal of Medical Entomology*; 2009; Volume 46; Issue 1; 100-106

AGROCAMPUS OUEST

Avec le soutien du Fonds Européen de
Développement Régional

CFR Angers **CFR Rennes**

<p>Année universitaire : 2020 - 2021</p> <p>Spécialité :</p> <p>Spécialisation (et option éventuelle) :</p> <p>PPEH (Protection des Plantes et Environnement en Horticulture)</p>	<p>Mémoire de fin d'études</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> d'ingénieur d'AGROCAMPUS OUEST (École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage), école interne de L'institut Agro (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)</p> <p><input type="checkbox"/> de master d'AGROCAMPUS OUEST (École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage), école interne de L'institut Agro (Institut national d'enseignement supérieur pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement)</p> <p><input type="checkbox"/> de Montpellier SupAgro (étudiant arrivé en M2)</p> <p><input type="checkbox"/> d'un autre établissement (étudiant arrivé en M2)</p>
---	--

Utilisation de *G. macrorrhizum* en tant que plante compagne dans la lutte contre les pucerons ravageurs

Par : Jean Dorland

ANNEXES

Soutenu à Angers

le 01.09.2021

Devant le jury composé de :

Président : Nicolas Chen

Autres membres du jury (Nom, Qualité) : Sylvia Anton

Maître de stage : Arnaud Ameline

Enseignant référent : Philippe Robert

(représenté par Yann Tricault)

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

Ce document est soumis aux conditions d'utilisation «Patrimoine-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de Modification 4.0 France» disponible en ligne <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>

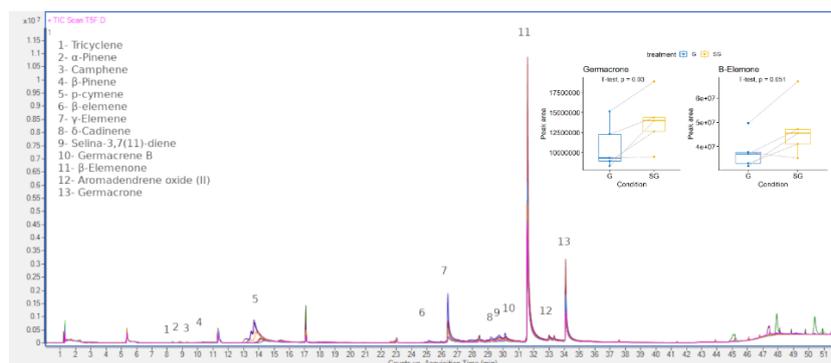


Annexe I : Analyse des COVs émis par *G. macrorrhizum* par SPME et GC-MS réalisée par Pierre-Yves Werrie, doctorant à l'université de Liège Agro-bio Tech, Gembloux, encadré par Marie-Laure Fauconnier dans le cadre du projet ZEROPH(F)YTO F&L (G).

Matériel et méthodes :

Avant de procéder à l'analyse GC-MS par microextraction en phase solide de l'espace de tête (HS-SPME-GC-MS), les plantules de *Geranium macrorrhizum* ont été enfermées pendant 20 heures à température ambiante dans un sac Nalophan de 35L. Ensuite, l'échantillonnage des COVs a été réalisé avec une fibre SPME divinylbenzène/carboxène/polydiméthylsiloxane (DVB/CAR/PDMS, 50/30 μm) (Supelco, Darmstadt, Allemagne) par une exposition de 120 min dans l'espace de tête. L'injection a été réalisée en mode splitless à 280 °C. La fibre a été conditionnée pendant 20 minutes à la température d'injection. Les analyses ont été effectuées par GC-MS (7890A-5975C, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) équipé d'une colonne capillaire HP-5 MS (30 m \times 250 μm \times 0,25 μm , Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). L'hélium a été utilisé comme gaz porteur à un débit de 1,2 mL/min. Le programme de température du four était le suivant : démarrage à 40 °C avec un maintien pendant 2 min ; ensuite, augmentation de 4 °C/min jusqu'à 200 °C puis 20 °C/min jusqu'à 300 °C avec un maintien pendant 5 min. Le spectromètre de masse a été réglé pour avoir une température de 230 °C à la source d'ions et de 150 °C au quadropôle. Le spectromètre de masse a été programmé avec un mode d'acquisition SCAN. Les spectres de masse ont été balayés de 35 à 500 amu. Ensuite, l'identification des composants a été effectuée par comparaison des spectres obtenus avec les spectres de masse d'une base de données de référence (NIST17). De plus, des indices de rétention (RI) expérimentaux ont été calculés suite à l'injection d'un mélange de n-alcane C8-C30 (Sigma Aldrich, Darmstadt, Allemagne) dans les mêmes conditions chromatographiques que celles mentionnées précédemment. Ceci a permis de comparer ces IR aux IR de la littérature.

Résultats :



Les résultats montrent que les deux composants majoritaires émis par le géranium, qu'il soit stimulé ou non sont le Germacrone ainsi que le β -Elemenone. De plus, une stimulation mécanique des feuilles de géranium permet d'obtenir une émission 1,25 fois plus importante de ces deux COVs (le Germacrone ainsi que le β -Elemenone).

Annexe II : Poster présenté au Symposium on Insect Plant interactions (SIP) 2021 organisé par l'université de Leiden, Pays-Bas

Geranium macrorrhizum, a potential novel companion plant to control aphid populations

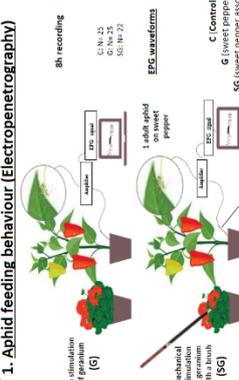
2021

Jean Dorland¹, Pierre-Yves Werthe², Aude Couty¹, Marie-Laure Fauconnier², Marc Lateur³, Géraldine Doury¹, Arnaud Ameline¹



Introduction: Companion plants (CP), notably aromatic and medicinal plants, may be used in agrosystems to control insect pest populations and some of them have proven to affect aphid behaviour (Ben-Issa et al., 2017). Very few studies concern the potential of plants of the Geraniaceae family to be used as a CP. However, *Geranium macrorrhizum* presents some interesting characteristics such as the production of the Volatile Organic Compound (VOC) Germacrene (Ilic et al., 2020) known to have a strong anti-feedant effect against aphids (Navarro-Rocha et al., 2018). Here, we tested the effects of *G. macrorrhizum* used as a CP on two main steps of the colonisation of a host plant (sweet pepper) by the polyphagous aphid *Myzus persicae*. We also tested the effect of a mechanical stimulation of geranium leaves. In order to explain the potential perturbation of geranium on aphid colonisation, the composition of geranium VOCs was also studied.

1. Aphid feeding behaviour (Electropetrography)



8h recording
C: N= 23
G: N= 22
SG: N= 22

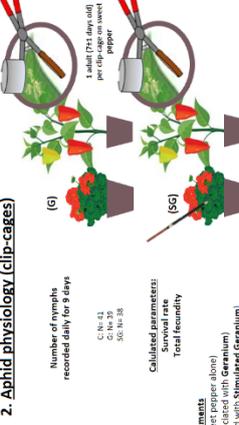
EPG waxwaxforms
1 adult aphid on sweet pepper

Treatments
C (Control) (sweet pepper alone)
G (sweet pepper associated with Stimulated Geranium)
SG (sweet pepper associated with Stimulated Geranium)

Number of nymphs recorded daily for 9 days
C: N= 15
G: N= 15
SG: N= 18

Calculated parameters:
Survival rate
Total fecundity

2. Aphid physiology (clip-cages)



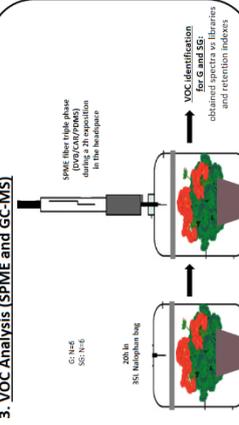
1 adult (7-15 days old) per clip-cage sweet pepper

Survival (%)
C: ~100
G: ~80
SG: ~80

Total mean fecundity
C: ~15
G: ~10
SG: ~10

Survival (%) at day 9
C: ~100
G: ~80
SG: ~80

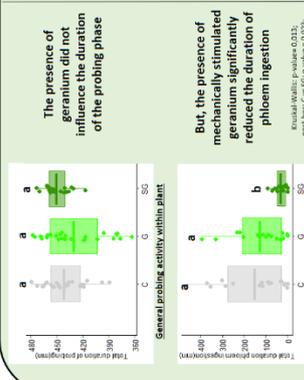
3. VOC Analysis (SPME and GC-MS)



SPME fibre (DVB/CAR/PDMS) during 9h exposition in the agrosystem

VOC identification for G and SG: obtained spectra vs. libraries and retention indices

4. Aphid feeding behaviour (phloem ingestion)

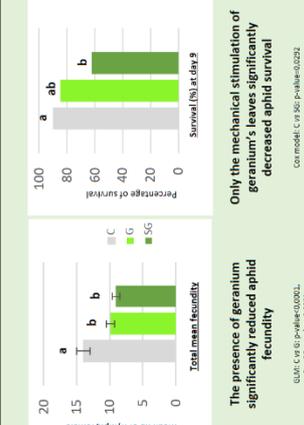


General probing activity within plant
C: ~400
G: ~400
SG: ~400

Phloem sap ingestion activity
C: ~400
G: ~300
SG: ~300

Discussion: The presence of geranium reduced aphid fecundity without affecting its feeding behaviour. When geranium leaves were stimulated, the effects were more pronounced: phloem sap ingestion, survival and fecundity were reduced. VOC analysis revealed that these effects could be due to the increase of β -Elemone and Germacrene emission, suggesting these compounds may have repellent and/or antifeedant effects on *M. persicae*. It cannot be completely ruled out that geranium VOCs could have enhanced sweet pepper induced defense mechanisms towards *M. persicae* (Karban et al., 2014). In the light of these findings, *G. macrorrhizum* does appear like a promising CP plant to control aphid populations.

5. Mechanical stimulation

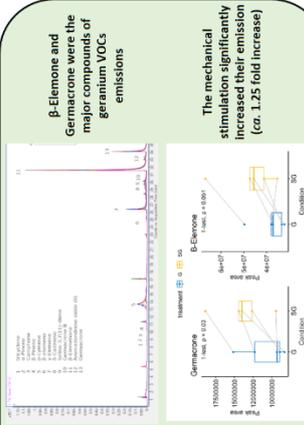


Survival (%)
C: ~100
G: ~80
SG: ~80

Total mean fecundity
C: ~15
G: ~10
SG: ~10

Survival (%) at day 9
C: ~100
G: ~80
SG: ~80

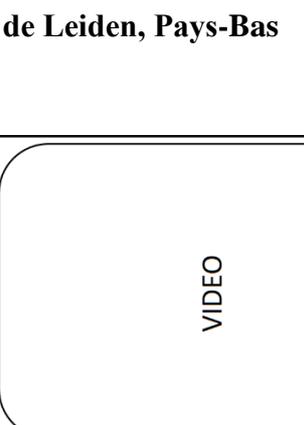
6. VOC Analysis (SPME and GC-MS)



β -Elemone and Germacrene were the major compounds of geranium VOCs emissions

The mechanical stimulation significantly increased their emission (ca. 1.25 fold increase)

7. Mechanical stimulation



Survival (%)
C: ~100
G: ~80
SG: ~80

Total mean fecundity
C: ~15
G: ~10
SG: ~10

Survival (%) at day 9
C: ~100
G: ~80
SG: ~80

VIDEO

Affiliations
1-UMR CNRS 5076 ESPAS (Ecologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), Université de Bourgogne, 17170 Chagny, France
2-UMR 1020 (Ecologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), Université de Bourgogne, 17170 Chagny, France
3-CB-W (Centre Wallois de Recherches Agronomiques), Unité scientifique et technologique de la Recherche, Bâtiment Emile Marchal, 4 rue de Louvain, 5030 Châteaufort, Belgium

References
Ben-Issa et al., 2017, Insects, 8, 112
Ilic et al., 2020, Chemistry and Biodiversity, 17, 4
Karban et al., 2014, Ecology Letters, 17, 44-52

This work was supported by the project ZERO-PH(FYTO F&I)O financed by the INTERREG Initiative - Programme 2019-2022 INTERREG V A Belgium - France (France - Wallonie - Vlaanderen)

Annexe III : Script R du test de χ^2 de conformité avec une probabilité de sélection équivalente dans le cadre de l'analyse statistique des données issues des tests de choix des plantes par les pucerons.

```
premier_c <- c(a,b) #a et b les données observées
```

```
proba <- c(0.5,0.5) #Les proportions qui sont normalement attendues
```

```
#Test  $\chi^2$ 
```

```
chisq.test(premier_c,p=proba)
```


Annexe IV : Script R du Modèle Linéaire Généralisé (GLM) suivant une loi de Poisson couplé à la comparaison post-hoc deux à deux en utilisant la méthode des moindres carrés de la moyenne (« ls-means ») pour évaluer la différence entre les traitements, utilisé dans le cadre de l'analyse de données de fécondité journalière et totale en physiologie.

```
#Definition de l'espace de travail
setwd("C:/Users/...")
library(multcomp)
library(lsmeans)
data<- read.table("NOMDUFICHER.txt",h=T)
summary(data)

#GLM
m1 <- glm(fectot~moda,data=data,family=poisson)
summary(m1)
anova(m1,test="Chisq")
plot(m1)

#Post-hoc "ls-means"
resultat<-lsmeans(m1, pairwise ~ moda)
summary(resultat)
```


Annexe V : Script R de la régression de COX couplée une comparaison post-hoc deux à deux en utilisant la méthode « estimated marginal means » pour évaluer la différence entre les traitements, utilisée dans l’analyse des données de mortalité en physiologie

```
#Définition de l'espace de travail
setwd("C:/Users/...")
data2 <- read.table("NOMDUFICHER.txt",h=T)
str(data2)
library("RVAideMemoire")
library("survival")
library("car")
library("multcompView")
library("emmeans")
library("multcomp")

#Modèle de COX
survie<-Surv(data2$survie,data2$cens_survie)
modele<-coxph(survie~data2$modalite)
courbes<-survfit(survie~data2$modalite)
plot(courbes,conf.int=FALSE,col=c("green","purple","blue"),lty=c(1,1),lwd=2,las=1,ylab="s
urvie",xlab="jours",bty="n",xaxs="i",yaxs="i",ylim=c(0,1.01),xlim=c(0,9),cex.lab=1.3,cex.ax
is=1.3)
legend(200,1, c("PT","PG","PGF"), col=c("green","purple","blue") ,lty=c(1,1), lwd=2,
bty="n", cex=1.2)
Anova(modele)
summary(modele)

#Post-hoc “em-means”
EMM <- emmeans(modele,~modalite)
summary(EMM)
cld(EMM,details=TRUE)
```


Annexe VI : Script R de la régression de COX utilisée dans l'analyse de données du comportement alimentaire (t>1Pr et t>1E2)

```
#Définition de l'espace de travail
setwd("C:/Users/...")
library("ade4")
library("car")
library("emmeans")
library("multcomp")
library("RVAideMemoire")
library("survival")
EPG<- read.delim("NOMDUFICHER.txt",sep="\t", head = T)
epgcox=EPG

#Analyses statistiques

#Analyse de t>1E2
survie<-Surv(epgcox$t.1E2,epgcox$cens_E2)
modele<-coxph(survie~epgcox$class)
courbes<-survfit(survie~epgcox$class)

plot(courbes,conf.int=FALSE,col=c("darkgoldenrod","darkgreen","blue","green"),lty=c(1,1),lwd=2,las=1,ylab="Access to E2 (t.1E2) (%)",xlab="Seconds",bty="n",xaxs="i",yaxs="i",ylim=c(0,1.01),xlim=c(0,28800),cex.lab=1.3,cex.axis=1.3)

legend(0.5,0.6,

c("Témoins","G"),col=c("darkgreen","darkgoldenrod"),lty=c(1,1),lwd=2,bty="n",cex=1.2)

Anova(modele)
summary(modele)
```



```
#Analyse de t>1Pr
survie<-Surv(epgcox$t.1Pr,epgcox$scens_Pr)
modele<-coxph(survie~epgcox$class)
courbes<-survfit(survie~epgcox$class)
plot(courbes,conf.int=FALSE,col=c("darkgoldenrod","darkgreen","blue","green"),lty=c(1,1),lwd=2,las=1,ylab="Access to sE2 (t.1sE2 (%)",xlab="Seconds",bty="n",xaxs="i",yaxs="i",ylim=c(0,1.01),xlim=c(0,30000),cex.lab=1.3,cex.axis=1.3)
legend(0.5,0.6,
c("Témoins","G"),col=c("darkgreen","darkgoldenrod"),lty=c(1,1),lwd=2,bty="n",cex=1.2)
Anova(modele)
summary(modele)
```


Annexe VII : Script R du test de Kruskal Wallis dans le cadre de l'analyse statistique des données du comportement alimentaire.

```
#Définition de l'espace de travail
```

```
setwd("C:/Users/...")
```

```
EPG<- read.delim("NOMDUFICHIER.txt",sep="\t", head = T)
```

```
#Test de Kruskal Wallis
```

```
kruskal.test(a ~ class, data=EPG) # a étant le paramètre à analyser
```


Annexe VIII : Script R de la comparaison post-hoc deux à deux en utilisant le test de permutation de Monte-Carlo (5000 répétitions) associé à une correction de la p-value grâce à Bonferroni pour évaluer la différence entre les traitements dans le cadre de l'étude du comportement alimentaire.

```
#Définition de l'espace de travail
setwd("C:/Users/... ")
EPG<- read.delim("NOMDUFICHER.txt",sep="\t", head = T)
library("ade4")
library("car")

#Fonction
detergent.test = function(df,ncolClass,ncolVar,nsim = 5000,alternative =
    "two-sided", plot = T){
  df = df[,c(ncolClass,ncolVar)]
  colnames(df)<-c("class","var")
  cls = unique(df$class)
  obs = mean(df[df$class==cls[1],"var"],na.rm =
    T)-mean(df[df$class==cls[2],"var"],na.rm = T)
  f1 = function(x){
    x$class = sample(x$class,NROW(x))
    res = mean(x[x$class==cls[1],"var"],na.rm =
    T)-mean(x[x$class==cls[2],"var"],na.rm = T)
    return(res)
  }
  sim = replicate(nsim,f1(df))
  t = as.randtest(sim = sim, obs = obs, alter = alternative)
  if(isTRUE(plot)){
    hist(sim)
    abline(v = obs, col = "blue")
  }
}
```



```
}  
return(t)  
}  
  
EPGsimp<-EPG[,c("class","a","b")] #a et b étant les paramètres à analyser  
  
# detergent.test  
ggg = detergent.test(EPGsimp,1,2)  
ggg  
  
# Ajustement de la p.value grâce à Bonferroni  
p.adjust(ggg$pvalue, method = "bonferroni", n=3)  
colnames(EPGsimp)
```


 	Diplôme : Ingénieur d'AGROCAMPUS OUEST (École nationale supérieure des sciences agronomiques, agroalimentaires, horticoles et du paysage), Spécialité : Horticulture Spécialisation / option : PPEH (Protection des Plantes et Environnement en Horticulture) Enseignant référent : Philippe Robert
Auteur(s) : Jean Dorland Date de naissance* : 30/07/1998	Organisme d'accueil : Laboratoire EDYSAN Adresse : 32 Rue des Minimes, 80000, Amiens, France
Nb pages : 26 Annexe(s) : 8	Maître de stage : Arnaud Ameline, Géraldine Doury et Aude Couty
Année de soutenance : 2021	
Titre français : Utilisation de <i>G. macrorrhizum</i> en tant que plante compagne dans la lutte contre les pucerons ravageurs.	
Titre anglais : The use of <i>G. macrorrhizum</i> as a companion plants to control aphid pests.	
<p>Résumé (1600 caractères maximum) : La combinaison d'une plante compagne avec une plante cultivée est considérée comme une stratégie prometteuse pour réduire la pression des ravageurs et donc l'utilisation de pesticides. Bien que plusieurs plantes des familles des Alliaceae et des Lamiaceae soient connues pour être des plantes compagnes efficaces contre les pucerons ravageurs, seules quelques plantes de la famille des Geraniaceae ont été étudiées jusqu'à présent. Le but de ce travail était d'étudier les effets potentiels de <i>Geranium macrorrhizum</i> en tant que plante compagne sur la colonisation du poivron (<i>Capsicum annuum</i>, Solanaceae) par le puceron vert du pêcher (<i>Myzus persicae</i>). Le comportement alimentaire, le comportement d'orientation et les traits d'histoire de vie des pucerons ont été évalués sur le poivron en utilisant respectivement, l'EPG (ElectroPénétrographie), des tests de préférence de plantes et des suivis physiologiques en clip-cage. Ils ont été comparés en absence ou en présence de <i>G. macrorrhizum</i> dont les feuilles avaient été effleurées ou non.</p> <p>Cette étude a révélé que <i>G. macrorrhizum</i> en tant que plante compagne avait un impact négatif sur le comportement alimentaire, la fécondité et le taux de survie de <i>M. persicae</i> sur le poivron. Ces effets ont été exacerbés lorsque les feuilles de <i>G. macrorrhizum</i> ont été effleurées. Cependant, <i>G. macrorrhizum</i> utilisé comme plante compagne n'a pas d'impact sur l'orientation de <i>M. persicae</i>. Nos résultats apportent des perspectives novatrices sur l'utilisation de nouvelles plantes compagnes pour réguler les populations de pucerons ravageurs.</p>	
<p>Abstract (1600 caractères maximum) : The combination of a companion plant with a cultivated plant is considered as an interesting strategy to reduce pest pressure and hence, the use of pesticides. Although several plants from the <i>Alliaceae</i> and <i>Lamiaceae</i> families are known to be efficient companion plants against aphid pests, only a few plants of the <i>Geraniaceae</i> family have been studied so far. The aim of this work was to investigate the potential effects of <i>Geranium macrorrhizum</i> as a companion plant on the colonization of sweet pepper (<i>Capsicum annuum</i>, <i>Solanaceae</i>) by the green peach aphid (<i>Myzus persicae</i>). Aphid's feeding behavior, orientation behavior and life history traits were assessed on sweet pepper using EPG (ElectroPenetrography), plant preference tests and clip-cage laboratory bioassays, respectively. They were compared in absence or presence of <i>G. macrorrhizum</i> whose leaves had been mechanically stimulated or not.</p> <p>This study revealed that <i>G. macrorrhizum</i> as a companion plant negatively impacted the feeding behavior, fecundity and survival rate of <i>M. persicae</i> on sweet pepper. The effects were exacerbated when <i>G. macrorrhizum</i> leaves were mechanically stimulated. However, <i>G. macrorrhizum</i> used as a companion plant does not impact <i>M. persicae</i> orientation. Our results bring new insights into the use of novel companion plants to regulate aphid pest populations.</p>	
Mots-clés : Plante compagne, colonisation du puceron, Geraniaceae, comportement du puceron	
Key Words: Companion planting, aphid colonisation, <i>Geraniaceae</i> , aphid behaviour	

* Élément qui permet d'enregistrer les notices auteurs dans le catalogue des bibliothèques universitaires