



UFR Sciences  
2, Bd Lavoisier  
49045 ANGERS Cedex 01

AGROCAMPUS OUEST  
65 rue de Saint-Brieuc, CS 84 215,  
BP 35042  
RENNES CEDEX  
Université de Rennes I  
1, 2 rue du Thabor, CS 46510 –  
35065  
RENNES Cedex

INRA Centre Angers-Nantes  
42 Rue Georges Morel  
49070 BEAUCOUZE

Mémoire de Fin d'Etudes

**Master 2 Sciences Technologie Santé  
Mention Biologie et Technologie du Végétal  
Spécialité : Production et Technologie du Végétal (ProTeV)**

Parcours : I Production Végétales Spécialisées / Option : A Produits Phytosanitaires, Réglementation et Méthodes Alternatives.

Année universitaire 2014-2015

**Effet des stimulateurs de défense des plantes sur le  
développement du puceron cendré du pommier  
*Dysaphis plantaginea***

Par : Marine PHILIBERT

Maitre de stage : Marie-Noëlle BRISSET  
Co-encadrée par : Philippe ROBERT  
Tuteur enseignant : Romain BERRUYER

Soutenu à Angers le :  
16 septembre 2015





UFR Sciences  
2, Bd Lavoisier  
49045 ANGERS Cedex 01

AGROCAMPUS OUEST  
65 rue de Saint-Brieuc, CS 84 215,  
BP 35042  
RENNES CEDEX  
Université de Rennes I  
1, 2 rue du Thabor, CS 46510 –  
35065  
RENNES Cedex

INRA Centre Angers-Nantes  
42 Rue Georges Morel  
49070 BEAUCOUZE

Mémoire de Fin d'Etudes

**Master 2 Sciences Technologie Santé  
Mention Biologie et Technologie du Végétal  
Spécialité : Production et Technologie du Végétal (ProTeV)**

Parcours : I Production Végétales Spécialisées / Option : A Produits Phytosanitaires, Réglementation et Méthodes Alternatives.

Année universitaire 2014-2015

**Effet des stimulateurs de défense des plantes sur le  
développement du puceron cendré du pommier  
*Dysaphis plantaginea***

Par : Marine PHILIBERT

Maitre de stage : Marie-Noëlle BRISSET  
Co-encadrée par : Philippe ROBERT  
Tuteur enseignant : Romain BERRUYER

Soutenu à Angers le :  
16 septembre 2015



## AUTORISATION DE DIFFUSION EN LIGNE

ÉTUDIANT(E)

N   tudiant : 20117172

Email : marine.philibert@hotmail.fr

Je soussigné(e) Marine PHILIBERT être l'auteur du document intitulé

Effet des stimulateurs de défenses des plantes sur le puceron du pommier *Dysaphis plantaginea*

préparé sous la direction de Marie-Noëlle BRISSET

et soutenu le 16 septembre 2015

Je certifie la conformité de la version électronique déposée avec l'exemplaire imprimé remis au jury, certifie que les documents non libres de droits figurant dans mon mémoire seront signalés par mes soins et pourront être retirés de la version qui sera diffusée en ligne par le Service Commun de la Documentation de l'Université d'Angers. Agissant en l'absence de toute contrainte, et sachant que je dispose à tout moment d'un droit de retrait de mes travaux, j'autorise, sans limitation de temps, l'Université d'Angers à les diffuser sur internet dans les conditions suivantes :

- diffusion immédiate du document en texte intégral
- diffusion différée du document en texte intégral ; date de mise en ligne :
- n'autorise pas sa diffusion dans le cadre du protocole de l'Université d'Angers

  Angers, le 28/08/2015 Signature :



 JURY DE SOUTENANCE

- autorise la diffusion immédiate du document en texte intégral
- OU*
- autorise la diffusion différée du document en texte intégral ; à compter du : .....
- en libre-accès *OU*  en accès restreint
- sous réserve de corrections

*OU*

- n'autorise pas sa diffusion dans le cadre du protocole de l'Université d'Angers

  Angers, le-----

Nom et Signature du maître de stage:

Nom et Signature du président de jury:





## **ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT**

**M2 PROTeV**

**2014-2015**

Je, soussigné (e) :

Marine PHILIBERT

déclare être pleinement conscient(e) que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.

En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour ce rapport, rédigé au cours de mon master 2 Production et Technologie du Végétal (ProTeV).

Je m'engage également à respecter les consignes données pour la rédaction de ce rapport.

A : Angers

Le : 28/08/2015

Signature :



## REMERCIEMENTS

Je tiens en premier lieu à remercier le GIS Fruits qui a financé ce stage et m'a donc permis de l'effectuer.

Je souhaite également remercier mes encadrants : Marie-Noëlle BRISSET et Philippe ROBERT, pour m'avoir permis d'intégrer leur entreprise ainsi que leur sujet de recherche et pour m'avoir épaulé durant ce stage. Je remercie tout autant Josiane LE CORFF qui m'a énormément soutenue en l'absence de Philippe. Ainsi que Romain BERRUYER, mon tuteur enseignant, pour m'avoir encadré au cours de mon stage.

Merci à Alexandre DEGRAVE et Matthieu GAUCHER pour leur présence et leur accessibilité.

Un grand merci aux techniciens de l'équipe ResPom : Sophie ALIGON, Raphaël CURNOL et Christelle HEINTZ, pour m'avoir aidé dans des tâches fastidieuses mais également pour leur gentillesse et leur disponibilité.

Merci aux techniciens de l'équipe INEM, qui s'occupent de la gestion des serres et de la production des végétaux, sans qui je n'aurais pas pu assurer mes expérimentations.

Merci aux membres de l'équipe SVH, en particulier Latifa HAMAMA qui m'a aidé administrativement en l'absence de Philippe. Ainsi qu'aux membres de l'unité Ecologie pour m'avoir intégré à leur équipe, notamment Anna POLLIER qui m'a pris sous son aile au même titre que ces propres stagiaires, Ségolène PLESSIX, Estelle CHENU et Ferréol BRAUD.

Enfin, merci à toute l'équipe des stagiaires 2015 pour leur bonne humeur, leur gentillesse, leur soutien et leur aide.



## TABLE DES MATIERES

<b>I- INTRODUCTION</b>	<b>1</b>
<b>1.1- DEFENSES DES PLANTES</b>	<b>1</b>
1.1.1- MECANISMES DE DEFENSE	1
1.1.2- VOIES DE SIGNALISATION	3
<b>1.2- PUCERONS</b>	<b>5</b>
1.2.1- PIECES BUCCALES	7
1.2.2- EMISSION DE SALIVE	7
<b>1.3- INTERACTION PLANTE-PUCERON</b>	<b>7</b>
<b>1.4- STIMULATEURS DE DEFENSE DES PLANTES (SDP)</b>	<b>11</b>
<b>1.5- OOBJECTIFS DU STAGE</b>	<b>15</b>
<b>II- MATERIELS ET METHODES</b>	<b>19</b>
<b>2.1- MATERIEL VEGETAL</b>	<b>19</b>
<b>2.2- PUCERON CENDRE DU POMMIER</b>	<b>19</b>
<b>2.3- TRAITEMENT ET MODE D'APPLICATION DES SDP</b>	<b>21</b>
<b>2.4 EXPERIMENTATIONS SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA POPULATION DE PUCERONS</b>	<b>23</b>
<b>2.5 EXPERIMENTATIONS SUR LE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE DU PUCERON</b>	<b>23</b>
<b>III- RESULTATS</b>	<b>27</b>
<b>3.1- EXPERIMENTATIONS SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA POPULATION DE PUCERON</b>	<b>27</b>
3.1.1- IMPACT DE LA FREQUENCE ET DU MODE D'APPLICATION DE DEUX SDP SUR LE DEVELOPPEMENT DU PUCERON CENDRE	27
3.1.2- EFFET DES CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES SUR LE DEPART DES FEMELLES	29
3.1.3- EFFET DE L'ENFERMEMENT DANS UN SAC EN TULLE SUR L'INFESTATION DU PUCERON CENDRE SUR DES SEMIS	29
<b>3.2- EXPERIMENTATIONS SUR LE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE DU PUCERON</b>	<b>31</b>
3.2.1- ANALYSE EPG SUR PLANTES TRAITEES AU BABA	31
3.2.2- ANALYSE EPG SUR PLANTES TRAITEES AU BION® 50 WG	33
3.2.3- ANALYSE EPG SUR PLANTES GREFFEES ET SEMIS	37
<b>IV- DISCUSSION</b>	<b>39</b>
<b>4.1- EFFICACITE DU BION® 50WG</b>	<b>39</b>
<b>4.2- EFFICACITE DU BABA</b>	<b>41</b>
<b>4.3- COMPARAISON DES DEUX SDP : LE BION® 50WG ET LE BABA</b>	<b>43</b>
<b>4.4- EFFET DE L'UTILISATION DES SEMIS SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA POPULATION DE <i>DYSAPHIS PLANTAGIENA</i></b>	<b>45</b>
<b>4.5- MISE EN PLACE D'UN PROTOCOLE DE CRIBLAGE DE SDP</b>	<b>49</b>
<b>V- CONCLUSION</b>	<b>51</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>55</b>



## GLOSSAIRE

Aptère : dépourvu d'ailes (Huilé *et al.*, 2011).

Diœcique (ou hétéroœcique) : se dit des espèces nécessitant deux plantes hôtes pour accomplir leur cycle, par opposition à monœcique (Hullé *et al.*, 1998).

Eliciteur : molécule capable de déclencher les évènements menant à l'expression d'une résistance chez la plante (Benhamou, 2009).

Fondatrice : première femelle parthénogénétique issue de l'éclosion de l'œuf d'hiver (Hullé *et al.*, 1998).

Fondatrigenèse : femelle parthénogénétique issue de la fondatrice (Hullé *et al.*, 1998).

Hémimétabole : mode de développement postembryonnaire de l'insecte. Le développement vers le stade adulte est progressif et il n'y a pas de stade pupal (Desparins, 2009).

Holocycle : se dit d'un cycle annuel complet des pucerons, comprenant une génération sexuée et une ou plusieurs générations parthénogénétiques (Huilé *et al.*, 2011).

Labium : lèvre inférieure constituant le rostre (pièce buccale piqueur-suceur) (Hullé *et al.*, 1998).

Miellat : excrément liquide des pucerons, riche en sucres, qu'ils projettent sur les feuilles (Huilé *et al.*, 2011).

Ovipare : dont la femelle pond des œufs (Desparins, 2009).

Parthénogénèse : mode de reproduction sans fécondation (pas d'intervention du mâle). Celle des pucerons est mitotique car tous les descendants sont génétiquement identiques à leur mère (reproduction clonale) (Huilé *et al.*, 2011).

Piqueur-suceur : type d'appareil buccal d'un insecte caractérisé par l'allongement des mandibules et des maxilles transformées en stylets (Desparins, 2009).

Potentialisateur : molécule qui sensibilise la plante à répondre plus rapidement et efficacement à une attaque subséquente de bioagresseurs (Benhamou, 2009).

Rostre : pièces buccales réunies pour pouvoir piquer, percer et aspirer (Desparins, 2009).

Stylet : partie des pièces buccales perceuses de certains insectes (Desparins, 2009).



## LISTE DES ABREVIATIONS

ASM : Acibenzolar-S-méthyl

BABA : Acide- $\beta$ -aminobutyrique

BTH : Benzo(1,2,3)thiadiazole-7-carbothioic acid-S-méthyl ester

EPG : Electropénétrographie

FAO : Formes Actives de l'Oxygène

NADH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide

PR : Pathogenesis Related

SDP : Stimulateur de Défense des Plantes



## LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Détail des expérimentations sur le développement de la population de *Dysaphis plantaginea* menées dans le cadre du protocole de criblage de SDP

Annexe II : Détail des expérimentations sur le comportement alimentaire de *Dysaphis plantaginea* via un dispositif d'électropénétrographie (EPG).

Annexe III : Détail des résultats du dénombrement et statistiques associées sur l'étude du développement de la population de *Dysaphis plantaginea*

Annexe IV : Détail des résultats sur l'étude du comportement alimentaire de *Dysaphis plantaginea* sur des plantes greffées traitées au BABA par rapport à des plantes greffées témoins via un dispositif d'électropénétrographie (EPG)

Annexe V : Détail des résultats sur l'étude du comportement alimentaire de *Dysaphis plantaginea* sur des plantes greffées traitées au Bion® 50WG par rapport à des plantes greffées témoins via un dispositif d'électropénétrographie (EPG)

Annexe VI : Détail des résultats sur l'étude du comportement alimentaire de *Dysaphis plantaginea* sur des plantes greffées traitées vis-à-vis de semis, non traités, via un dispositif d'électropénétrographie (EPG)

Annexe VII : Détail des résultats statistiques associés aux résultats sur l'étude du comportement alimentaire de *Dysaphis plantaginea* via un dispositif d'électropénétrographie (EPG)



## LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Les différentes défenses possibles mises en place par une plante suite à l'attaque par un bioagresseur (Benhamou, 2009).

Figure 2 : Activation des voies de défenses différentes suivant le types de bioagresseurs notamment entre les insectes piqueurs-suceurs et les insectes broyeurs (Arimura *et al.*, 2011).

Figure 3 : Dégâts sur feuilles et jeunes pousses causés par *D. plantaginea*.

Figure 4 : Pièces buccales d'une puceron et chemin des stylets dans le tissu végétal (Dedryver, 1981).

Figure 5 : Dispositif d'électropénétrographie (EPG) permettant l'enregistrement du comportement alimentaire d'un insecte phloémophage.

Figure 6 : Semis et plante greffée issus du verger sur le site de l'INRA d'Angers.

Figure 7 : Cycle de vie de *D. plantaginea* (D'après Dedryver, 1981).

Figure 8 : Jeunes pommiers utilisés lors de l'élevage de *D. plantaginea* obtenu à partir d'une femelle fondatrice.

Figure 9 : Isolation des femelles et des semis par un sachet en tulle lors du test sur l'enfermement des femelles.

Figure 10 : Détail du dispositif électropénétrographique.

Figure 11 : Ondes correspondant aux différents items comportementaux enregistrés lors des analyses EPG.

Figure 12 : Effet du Bion® 50 WG apporté 3 fois par arrosage ou 3 fois par pulvérisation selon 2 cinétiques d'application (sur 15 ou 3 jours) sur le développement du puceron cendré sur semis de pommier.

Figure 13 : Effet du Bion® 50WG apporté 3 fois par arrosage ou 3 fois par pulvérisation selon 2 cinétiques d'application (sur 15 ou 3 jours) sur la présence des femelles sur les semis.

Figure 14 : Effet de la localisation de l'expérimentation, en serre ou en pièce climatique, sur la présence des femelles sur les semis en l'absence de traitement.

Figure 15 : Effet de l'enfermement des femelles dans un tulle sur le taux de départ des femelles en l'absence de traitement.

Figure 16 : Effet de l'enfermement des femelles dans un tulle sur l'infestation de *D. plantaginea* en l'absence de traitement.



Figure 17 : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au BABA : nombre moyens d'apparitions d'items.

Figure 18 : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au BABA : somme moyenne des durées totales (en secondes) d'items.

Figure 19 : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au BABA : temps (en secondes) moyen de la première apparition de quelques items.

Figure 20 : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au Bion® 50WG : nombre moyens d'apparitions d'items.

Figure 21 : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au Bion® 50WG : somme moyenne des durées totales (en secondes) d'items.

Figure 22 : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au Bion® 50WG : temps (en secondes) moyen de la première apparition de quelques items.

Figure 23 : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés ou sur des semis en l'absence de traitement : nombre moyens d'apparitions d'items.

Figure 24: Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés ou sur des semis en l'absence de traitement : somme moyenne des durées totales (en secondes) d'items.

Figure 25: Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés ou sur de semis en l'absence de traitement : temps (en secondes) moyen de la première apparition de quelques items.



## I- INTRODUCTION

Les produits phytosanitaires sont nécessaires pour garantir les productions agricoles (Emden & Harrington, 2007). Cependant, leur utilisation présente des risques de transfert dans l'environnement et vis-à-vis de la santé de l'utilisateur et du consommateur. Pour permettre de limiter ces risques tout en conservant les performances de productions agricoles, il est nécessaire de mettre en place des stratégies de protection des cultures efficaces permettant de réduire l'utilisation de produits phytosanitaires (Benhamou, 2009). En France, des objectifs de réduction de l'utilisation des produits phytosanitaires ont été définis à la suite du Grenelle de l'Environnement de 2007 et de l'établissement du plan Ecophyto, revu en 2015. Ce plan comporte plusieurs axes visant à établir et améliorer les connaissances actuelles sur les systèmes agricoles et à réduire l'usage de produits phytopharmaceutiques. Parmi ces axes, l'un porte sur la mise en place de mesures permettant de prévenir les attaques des bioagresseurs et ainsi limiter l'utilisation des produits phytosanitaires et les effets non intentionnels liés à leur utilisation (Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, 2008; Le Foll, 2015). Des solutions pouvant se substituer, tout du moins en partie, aux produits actuels sont donc recherchées.

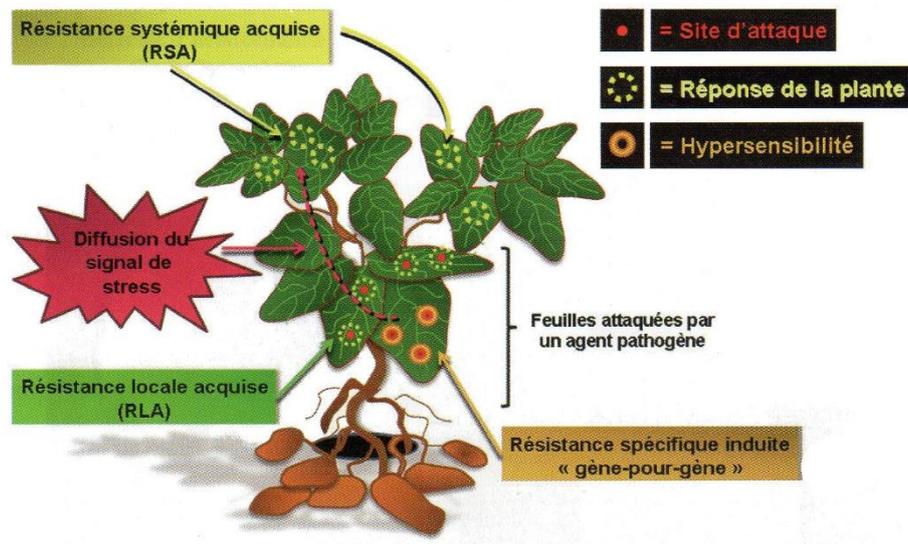
Suite à l'amélioration des connaissances sur les défenses des plantes, la stimulation de ces dernières en agriculture est envisagée (Benhamou, 2009).

### 1.1- Défenses des plantes

Au cours du temps, les plantes et leurs bioagresseurs ont co-évolué. Ces derniers ont mis en place des stratégies offensives et les plantes ont développé des mécanismes de défense chimiques et/ou physiques, constitutives ou induites, locales ou systémiques (Giordanengo *et al.*, 2010).

#### 1.1.1- Mécanismes de défense

Les défenses constitutives sont soit structurales soit chimiques. La cuticule et les poils peuvent former un premier obstacle à la colonisation de la plante hôte par des bioagresseurs. Les défenses chimiques regroupent, quant-à-elles, la synthèse de molécules appelées phytoanticipines. Elles sont produites même en l'absence de bioagresseur et regroupent notamment des composés phénoliques, comme les tannins, mais également des lactones et des



**Figure 1** : Les différentes défenses possibles mises en place par une plante suite à l'attaque par un bioagresseur (Benhamou, 2009).

composés cyanogènes, qui forment, lors d'une attaque, des composés toxiques, des saponines, formant des terpènes à action antimicrobienne et des huiles, ayant une activité antibactérienne et antioxydante (Benhamou, 2009).

Les défenses induites peuvent être spécifiques ou non de l'interaction plante-bioagresseur (**fig. 1**). Lorsqu'elles sont spécifiques, elles résultent de l'interaction entre les protéines issues de l'expression des gènes de résistance de la plante (gène *R*) et d'avorulence du bioagresseur (gène *Avr*) (Flor, 1971; Benhamou, 2009; Stuart, 2015). Les défenses nonspécifiques sont efficaces contre plusieurs bioagresseurs (Sticher *et al.*, 1997; Walters *et al.*, 2013) et sont soit locales, Résistances Locales Acquises (RLA), ou systémiques, Résistances Systémiques Acquises (RSA). La reconnaissance d'éliciteurs généraux par la plante permet, pour la RLA, de limiter la propagation du bioagresseur et, pour la RSA, de mettre la plante en état d'alerte par la transmission de signaux aux cellules adjacentes et à l'ensemble de la plante (Benhamou, 2009; Walters *et al.*, 2013).

#### 1.1.2- Voies de signalisation

Les mécanismes de défenses des plantes sont initiés par la production de signaux issus de l'environnement, de la plante et/ou du bioagresseur. La perception des signaux entraîne une succession d'évènements tels que la phosphorylation des protéines, la dépolarisation de la membrane, l'influx de calcium et la libération de formes actives de l'oxygène (FAO) comme par exemple le peroxyde d'hydrogène (Garcia-Brugger *et al.*, 2006). Ces évènements conduisent à l'activation de voies dépendantes de certaines phytohormones. Ainsi, les voies dépendantes de l'éthylène ou du jasmonate peuvent être activées par des agents pathogènes ou des insectes phytophages alors que la voie de l'acide salicylique est généralement déclenchée par des agents pathogènes (Thomma *et al.*, 2001; Maffei *et al.*, 2007).

En fonction du type d'attaque et du type de dégâts, différentes défenses sont mise en place via les voies de signalisation. L'acide jasmonique, induit par des oligogalacturonates, des chitosanés et par des  $\beta$ -glucanes, est un messager secondaire ayant un rôle intermédiaire dans la transduction du signal (Benhamou, 2009). Il permet l'activation d'une résistance systémique (Penninckx *et al.*, 1998). En ce qui concerne l'acide salicylique, son accumulation s'accroît en réponse à une attaque. Cette augmentation est souvent associée à une réponse d'hypersensibilité mais elle peut aussi être observée dans des zones éloignées de l'attaque. Cette voie permet donc l'activation de résistance locale et systémique (Benhamou, 2009).

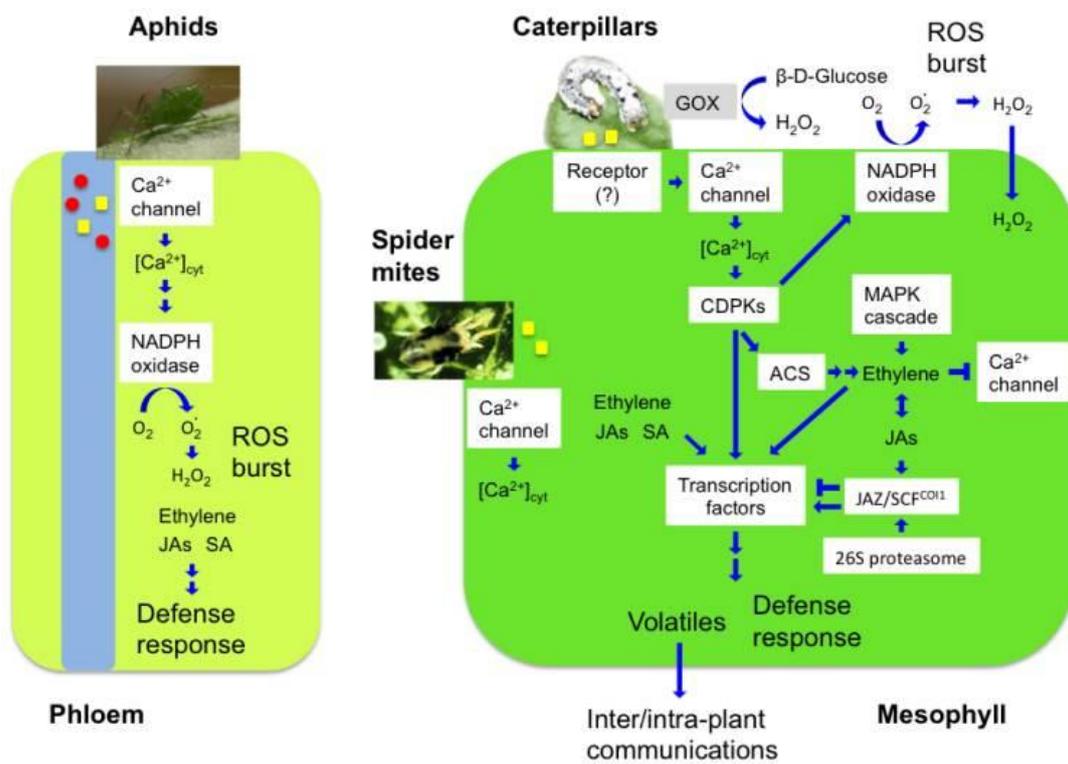


Figure 2 : Activation des voies de défenses différentes suivant le types de bioagresseurs notamment entre les insectes piqueurs-suceurs et les insectes broyeur (Arimura *et al.*, 2011).



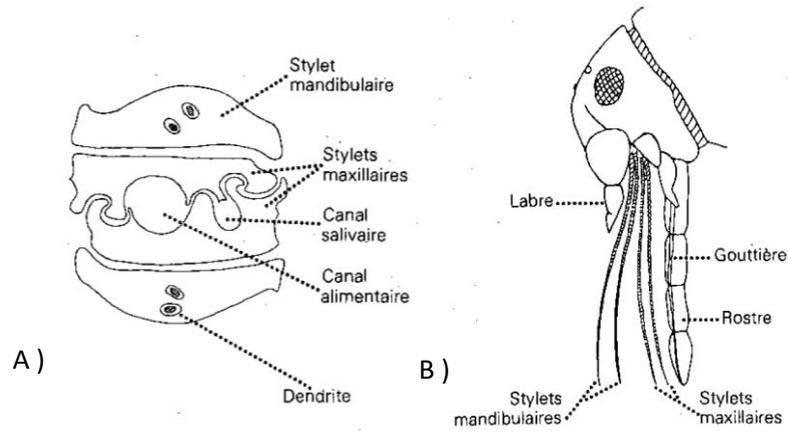
Figure 3 : Dégâts sur feuilles et jeunes pousses causés par *D. plantaginea* (Source photo : M. Philibert).

L'augmentation du niveau d'acide salicylique entraîne une translocation dans le noyau de protéines (NPR1) qui interagissent avec des facteurs de transcription et active par la suite des gènes codant pour des protéines de stress (Després *et al.*, 2003). Enfin, l'éthylène joue également un rôle dans l'établissement des défenses de la plante. Il est impliqué dans les réponses de la plante face, notamment, à un stress biotique (Bleecker & Kende, 2000). L'éthylène est perçu par des protéines membranaires réceptrices (Guo & Ecker, 2004) et est souvent associé à une induction de la résistance (Benhamou, 2009). Il peut notamment stimuler la synthèse de phytoalexines et des glycoprotéines (HRGPs) (Showalter *et al.*, 1985). Ces différentes voies de signalisation hormonale peuvent interagir entre elles pour activer l'expression de gènes de défense. Ainsi, il apparaît que l'acide jasmonique peut interférer avec d'autres métabolismes comme la voie de l'acide salicylique (Maleck *et al.*, 2000). Inversement, ce dernier semble être un inhibiteur potentiel de l'acide jasmonique (Kim *et al.*, 2003). L'association de l'acide jasmonique et de l'éthylène influence plusieurs aspects physiologiques de la plante lors, notamment, d'interaction avec un insecte phytophage (Benhamou, 2009).

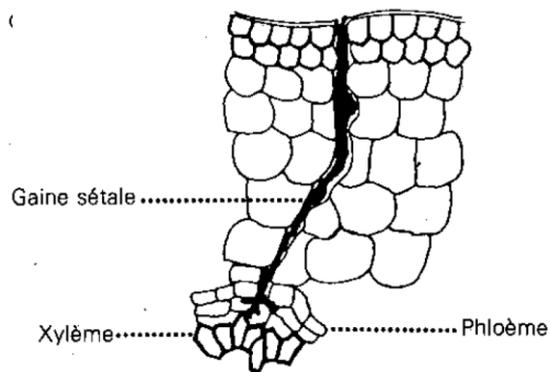
Ces défenses sont mieux connues vis-à-vis des insectes broyeur que vis-à-vis des insectes piqueur-suceurs (Arimura *et al.*, 2011). La nature des dégâts occasionnés sur la plante par des insectes broyeur est différente de ceux occasionnés par des insectes piqueurs. Cependant ces derniers dégradent les parois de la cellule et peuvent également entraîner l'induction des défenses (**fig. 2**).

### 1.2- Pucerons

Parmi les insectes piqueurs-suceurs, les pucerons représentent le groupe le plus important en nombre d'espèces et en coûts associés aux dégâts occasionnés dans les cultures (Hullé *et al.*, 1998). Ce sont des insectes phytophages qui affectent, par leur action spoliatrice, c'est-à-dire par le prélèvement de la sève, les performances de la plante et déclenchent les mécanismes de défense (Will & van Bel, 2006). Ils peuvent détériorer les feuilles, les fruits et les jeunes pousses (**fig. 3**) (Davidson & Lyon, 1979; Hullé *et al.*, 1998) mais des dégâts indirects peuvent également être observés tel que le développement de champignons saprophytes responsables des fumagines sur le miellat sécrété et pour certaines espèces, la transmission de virus vers la plante (Leclant, 1981; Huang *et al.*, 1983). Les pertes à la récolte peuvent donc être importantes en cas de forte infestation.



**Figure 4** : Pièces bucales d'un puceron : coupe transversale des quatre stylets : mandibulaires et maxillaires (a) et profil des pièces bucales où les stylets sont contenus dans le rostre (b) (Dedryver, 1981).



**Figure 5** : Chemin des stylets au travers de la gaine sétale afin d'atteindre le phloème ou le xylème

### 1.2.1- Pièces buccales

Les pucerons piquent grâce à des stylets qui leur permettent de se nourrir du phloème. Les stylets sont au nombre de quatre et sont issus de la transformation des mandibules et des maxilles. Ils sont collés les uns aux autres et coulissent entre eux, formant ainsi un faisceau permettant la délimitation des canaux salivaires et alimentaires (**fig. 4a**) (Dedryver, 1981). Les stylets coulissent dans le rostre qui est divisé en quatre articles correspondant à la lèvre inférieure, le labium (**fig. 4b**). Les stylets permettent d'atteindre les faisceaux cribro-vasculaire de la plante (Hullé *et al.*, 1998), notamment le phloème, par des piqûres généralement intercellulaires (Tjallingii & Esch, 1993), en évaluant la chimie interne des cellules (Tjallingii, 2006).

### 1.2.2- Emission de salive

La salive émise par les stylets des pucerons entraîne des changements morphologiques, altère l'allocation des ressources et induit des symptômes systémiques (Goggin, 2007). Les pucerons sécrètent deux types de salive. L'une est dite salive gélique et permet, par son durcissement, la formation d'une gaine sétale (**fig. 5**). Ceci permet aux pucerons d'orienter les stylets entre les cellules du tissu végétal et de les ôter rapidement en cas d'attaque par exemple (Dedryver, 1981; Hullé *et al.*, 1998; Will & Vilcinskis, 2015). Elle est principalement constituée de protéines (enzymes), de phospholipides et de glucides. Cette composition est similaire d'une espèce de pucerons à l'autre. Le second type est la salive aqueuse qui est un mélange de plusieurs molécules dont des enzymes. Par opposition à la salive gélique, ce mélange diffère entre les espèces de pucerons et, au sein d'une même espèce, varie selon le régime alimentaire (Cherqui & Tjallingii, 2000). Les enzymes contenues dans la salive aqueuse pourraient permettre au puceron de dégrader la paroi végétale. Cependant il semble que les stylets progressent plus vite que l'action des enzymes (Tjallingii & Esch, 1993).

### 1.3- Interaction plante-puceron

Suites aux piqûres réalisées par un puceron, différentes voies de signalisation sont activées afin d'établir une résistance. Lors de la dégradation de la paroi, la plante peut percevoir, comme des molécules étrangères, des molécules modifiées par l'insecte mais issues du tissu végétal (Dangl & Jones, 2001). C'est le cas de certains fragments appelés oligogalacturonides. Ces derniers sont perçus par la plante et sont connus pour induire ces défenses (Zhao *et al.*, 2005; Will & van Bel, 2008).



Lors de la progression des stylets dans les tissus, la plante met en place une obstruction afin de prévenir la perte de sève (Tjallingii, 2006). Ce mécanisme est assuré par des protéines du phloème qui coagulent, et forment un dépôt de callose, ou se dispersent en réponse aux signaux de dommages mécaniques (Knoblauch & van Bel, 1998). La coagulation des protéines peut être due à l'afflux soudain de calcium (Knoblauch & van Bel, 1998; Will & van Bel, 2006) mais également à un changement d'état de la sève, dû à un phénomène d'oxydo-réduction (Leineweber *et al.*, 2000). La dégradation de la paroi entraîne également la production de calcium libre qui, tout comme certaines formes actives de l'oxygène (FAO), peut induire une cascade de signalisation locale ou systémique (Hu *et al.*, 2009) via des voies de défense. Ces voies sont notamment celles de l'acide salicylique, de l'acide jasmonique et de l'éthylène qui contrôlent de nombreuses réponses cellulaires et permettent de mettre en place des défenses moins coûteuses et moins spécifiques (Goggin, 2007).

Les pucerons semblent capables de moduler les défenses des plantes en influençant les signaux perçus par la plante, notamment ceux liés à un stress oxydatif ou à l'afflux de calcium (Giordanengo *et al.*, 2010). La pénétration des stylets, par exemple, n'entraîne pas de réduction du flux de sève car le puceron sécrète, au cours de son alimentation, de la salive aqueuse qui empêche l'obstruction des tubes criblés par la modification de la conformation des protéines formant des calloses (Will & van Bel, 2006; Will *et al.*, 2007). Les enzymes contenues dans la salive aqueuse peuvent également jouer un rôle dans la modulation des signaux perçus par la plante. Des glucose-oxydases présentes dans cette salive permettraient, par l'oxydation de glucoses, la production du peroxyde d'hydrogène qui induit l'accumulation d'acide salicylique (Vandenabeele *et al.*, 2003). Cette oxydase permet également aux pucerons de réduire l'induction d'une réponse de la plante dépendante de l'acide jasmonique (Zhu-Salzman *et al.*, 2004). Les pucerons induisent alors la production de phytohormones (Thompson & Goggin, 2006). De plus, les rôles de l'acide salicylique, de l'acide jasmonique et de l'éthylène pourraient être différents selon l'espèce végétale et l'espèce de puceron (Giordanengo *et al.*, 2010). Des composants de la salive, tels que les NADH déshydrogénases, entraînent une réduction de l'expression des gènes codant la production de FAO inhibant ainsi une réaction d'hypersensibilité (HR – Hypersensitivity Response) (Yang *et al.*, 2007). En ce qui concerne l'afflux de calcium, certaines protéines salivaires du puceron peuvent fixer le calcium libre, ce qui implique qu'il y a une concurrence entre les protéines de la plante et du puceron vis-à-vis



de cette ressource (Will *et al.*, 2007). Les pucerons interfèrent également dans différents processus physiologiques tels que la relation source-puit, notamment vis-à-vis du carbone et de l'azote, le renforcement de la paroi cellulaire et l'activité photosynthétique. En effet, leur présence induit un effet systémique sur l'expression des gènes impliqués dans ces processus (Divol *et al.*, 2005).

Les pucerons peuvent donc manipuler la signalisation moléculaire de leur hôte à leur avantage en rendant les défenses moins efficaces. Il semble notamment que lorsque des pucerons s'alimentent, les défenses vis-à-vis de ces derniers soient réduites (Prado & Tjallingii, 2007). Ceci a été observé par une étude du comportement de pucerons via un dispositif électropénétrographique (EPG) permettant d'enregistrer en continu les différentes phases du comportement de piqûre et d'ingestion d'un insecte phloémophage tel que le puceron (Tjallingii, 2006).

#### 1.4- Stimulateurs de Défense des Plantes (SDP)

Tous les végétaux sont capables de mettre en place des mécanismes de défense face à une attaque. Cette mise en place n'a pas toujours lieu notamment lorsque la plante ne perçoit pas un agresseur particulièrement bien adapté à son hôte comme un insecte phloémophage. Si elle a lieu, la vitesse de synthèse et d'accumulation des composés de défense de la plante face à cette attaque est un paramètre important pouvant être décisif dans l'établissement d'une résistance ou, à l'inverse, dans la propagation du bioagresseur. L'application de stimulateurs de défenses des plantes (SDP) pourrait être une stratégie intéressante en protection des cultures : elle vise en effet à activer le système immunitaire de la plante et à augmenter ainsi sa résistance à une attaque subséquente (Benhamou, 2009). Les SDP sont des molécules pouvant être reconnues par la plante et cette perception déclenche les différents mécanismes moléculaires, biochimiques et cytologiques menant à l'expression d'une résistance. Ceci se traduit, chez la plante, par la mise en place de défenses physiques ou chimiques qui limitent le développement du bioagresseur lors d'une future attaque. Ces molécules n'ont donc pas d'effet biocide, elles n'agissent pas directement sur le bioagresseur mais sur la physiologie de la plante (Benhamou, 2009). Les SDP sont généralement dissociés en deux types : les éliciteurs pouvant être reconnus comme le « non-soi » et les analogues d'hormones qui ont une action directe sur la physiologie de la plante et sur les voies de défense. Les SDP peuvent également avoir une action directe sur



les défenses de la plante et/ou avoir un effet de potentialisation. Les potentialisateurs sont des molécules induisant une réponse plus rapide et plus efficace des défenses de la plante suite à la perception de signaux et de molécules lors d'une attaque ultérieure (Benhamou, 1996; Beckers & Conrath, 2007; Faessel *et al.*, 2014).

L'acibenzolar-S-méthyl et l'acide- $\beta$ -aminobutyrique sont deux molécules SDP qui agissent de façon différente sur la plante. L'acibenzolar-S-méthyl (ASM), dont le nom du produit formulé par l'entreprise Syngenta est le Bion® 50 WG en Europe (Actigard aux Etats Unis) a été développé dans les années 1980 (Benhamou, 2009; Walters *et al.*, 2013) et est un analogue d'une hormone de signalisation, l'acide salicylique (Benhamou, 2009; Faessel *et al.*, 2014). Le Bion® 50 WG est un stimulateur de défense à action préventive, appartenant à la famille des benzothiadiazoles (Anses, 2014) pouvant s'appliquer par arrosage ou par pulvérisation (Benhamou, 2009). Il peut induire une résistance chez beaucoup d'espèces végétales et permet de lutter contre de nombreux bioagresseurs (Walters *et al.*, 2013). L'acide- $\beta$ -aminobutyrique, (BABA), est un acide aminé non protéique (Hodge *et al.*, 2006; Benhamou, 2009; Justyna & Ewa, 2013). Ce SDP est un potentialisateur (Benhamou, 2009; Faessel *et al.*, 2014) permettant une activation ultérieure et plus rapide des défenses de la plante (Beckers & Conrath, 2007). Il se propage par le système vasculaire et stimule une cascade d'évènements moléculaires, tels que la production de FAO, l'accumulation de protéines PR (Pathogenesis Related), la peroxydation des lipides membranaires, la formation de callose et l'incrustation de la lignine dans les parois, menant à l'établissement de la résistance (Benhamou, 2009). Hodge et ses collaborateurs ont été les premiers, en 2005, à montrer l'effet du BABA sur les insectes phloémophages. Ils ont également réussi à déterminer que cette molécule ne possédait aucun effet de toxicité directe sur les insectes, notamment sur les pucerons (Hodge *et al.*, 2005).

Cependant, le mode d'action du BABA n'est pas encore connu (Hodge *et al.*, 2006), il pourrait impliquer l'éthylène, l'acide jasmonique, l'acide salicylique et l'acide abscissique (Cohen, 2002).

Au sein de l'équipe Respom (INRA UMR IRHS), des travaux sont réalisés sur l'effet des SDP vis-à-vis de plusieurs bioagresseurs du pommier. Ces travaux portent sur des maladies telles que la tavelure du pommier - due à *Venturia inaequalis* -, le feu bactérien - dû à *Erwinia amylovora* -, ainsi que sur des ravageurs comme le puceron cendré du pommier, *Dysaphis plantaginea* (Passerini). Ce puceron est l'un des principaux ravageurs des vergers de pommiers



(Davidson & Lyon, 1979). Il est considérée comme le plus nuisible par sa forte fécondité permettant une rapide augmentation des populations (Davidson & Lyon, 1979; Hullé *et al.*, 1998).

Des travaux, menés antérieurement au sein de l'équipe, ont permis de mettre en évidence (Sauge *et al.*, 2002; Qubbaj *et al.*, 2005). un effet protecteur du Bion® 50 WG et du BABA vis-à-vis du puceron cendré du pommier. L'application de ces produits, avant infestation artificielle, s'est traduite par une diminution de la taille des colonies de puceron cendré engendrées après infestation. Cette diminution est sans doute due à un impact négatif des molécules SDP sur la fécondité, la longévité et la mortalité du puceron cendré, comme cela a été démontré par Hodge et ses collaborateurs (Hodge *et al.*, 2006, 2011). Au sein de l'équipe ResPom, l'impact des SDP sur le développement du puceron cendré ont été réalisées, pour la plupart, en utilisant des scions greffés de pommier. L'inconvénient de ce matériel végétal est qu'il n'est pas disponible toute l'année. De plus, la méthodologie utilisée dans les tests de criblage d'efficacité des produits est lourde et contraignante. Le test est réparti sur un mois, avec plusieurs traitements successifs, appliqués par pulvérisation et un comptage final exhaustif qui doit être réalisé en une seule journée malgré une quantité importante de pucerons à dénombrer.

### 1.5- Objectifs du stage

Le premier objectif du stage est l'étude du développement de la population de pucerons en présence de SDP afin de mettre au point une méthodologie de criblage de SDP qui soit allégée et moins coûteuse. En effet, l'attaque par des pucerons induit des changements dans l'expression des gènes de défense après 24 à 48 heures Il est donc nécessaire de trouver des SDP capables de réduire le temps d'induction des gènes de défense et pour cela, un protocole de criblage est nécessaire. Le BABA par exemple permet l'induction des gènes de défense 24 heures après infestation (Zhong *et al.*, 2014). Pour améliorer les tests de criblage, l'utilisation de semis constituerait un avantage car ils sont moins onéreux et contraignants à produire. Ils peuvent être obtenus toute l'année et prennent moins de place en serre que les plants greffés. Sur ce matériel végétal, différents protocoles ont été testés afin de déterminer le mode d'application de la solution de SDP, par arrosage ou par pulvérisation, le nombre d'applications nécessaires pour obtenir une efficacité permettant un impact significatif sur le développement du puceron cendré et enfin la fréquence d'application. Certains produits nécessitent plusieurs



Figure 6 : Dispositif d'électropénétrographie (EPG) permettant l'enregistrement du comportement alimentaire d'un insecte phloémophage (Source photo : M. Philibert).

applications plus ou moins distantes les unes des autres. L'objectif est de réduire la durée de l'expérimentation ainsi que les contraintes matérielles. Afin de déterminer si les semis représentent le matériel végétal le plus approprié pour tester l'induction des défenses via différents SDP, nous avons également fait des tests en faisant varier les conditions environnementales (serre et en pièce climatisée), et sur une technique d'isolement des femelles sur le semis par enfermement dans un tulle.

Un impact négatif des SDP sur le développement du puceron cendré peut être dû à une modification de son comportement alimentaire suite à la mise en place par la plante de mécanismes de défense. Le second volet de ce stage porte donc sur le comportement d'alimentation du puceron cendré sur des plantes traitées avec un SDP à l'aide d'un dispositif d'électropénétrographie (EPG) (**fig. 6**). Cette méthode devrait nous permettre de mieux comprendre l'effet de l'induction des défenses chez la plante par l'observation des modifications éventuelles dans le comportement du puceron cendré. Sur des cultivars résistants et sensibles de pommier, Marchetti *et al.*, (2009) ont fait une analyse EPG sur *D. plantaginea*. D'après leurs résultats, il n'y a pas de différence, entre les deux cultivars, dans la phase de gustation des cellules épidermiques, les piqûres de gustation ne sont ni plus longues, ni plus nombreuses sur le cultivar résistant. Cependant, il y a des différences dans les phases de salivation et d'alimentation. En effet, *D. plantaginea* effectue moins de piqûres de salivation et plus de piqûres d'alimentation sur cultivar sensible (Marchetti *et al.*, 2009). Après un traitement avec une solution d'acide salicylique sur blé vis-à-vis de *Sitobion avenae*, Cao et ses collaborateurs (2014) ont observé un impact de cette hormone sur les phases de salivation et d'alimentation. La durée totale de cette dernière est réduite en présence d'acide salicylique tandis que celle de la première est allongée. Lors d'un traitement avec un dérivé de l'acide jasmonique (jasmonate de méthyl), les auteurs observent un impact de cette molécule sur les phases de gustation et de salivation (Cao *et al.*, 2014a). Les SDP analysés au cours de mon stage, notamment le Bion® 50WG qui est un analogue de l'acide salicylique, devraient donc impacter les phases de gustation, de salivation et d'alimentation. L'EPG nous permettra également d'observer les différences de comportement alimentaire du puceron lorsque celui-ci est sur une plante greffée ou sur un semis. Ceci permettra de vérifier que ce matériel végétal peut être utilisé pour le criblage de SDP.

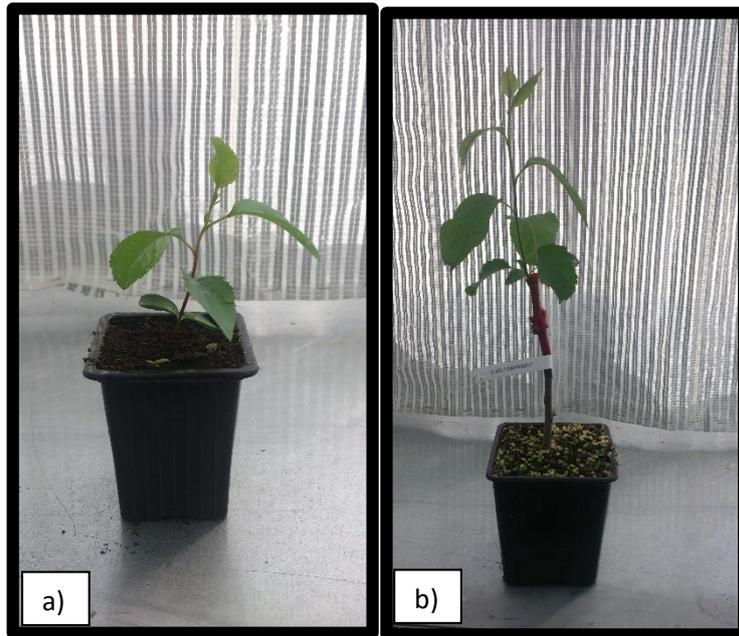


Figure 7 : Semis (a) et plante greffée (b) issus du verger sur le site de l'INRA d'Angers  
(Source photos : M. Philibert).

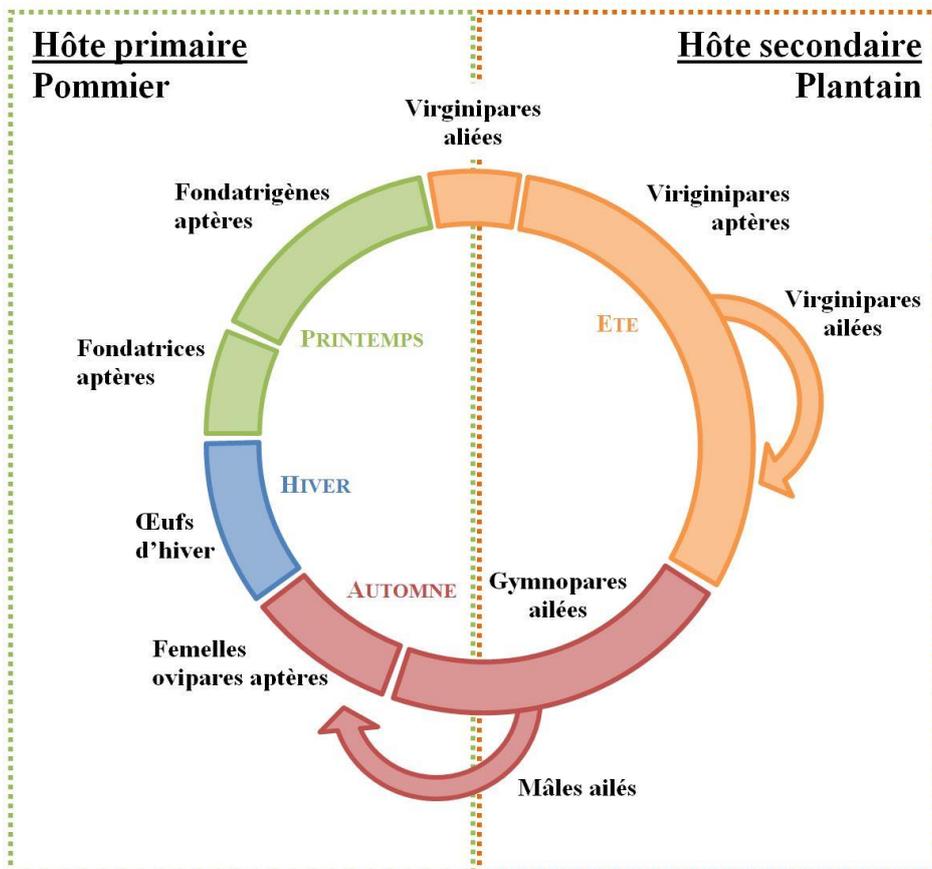


Figure 8 : Cycle de vie de *D. plantaginea* (D'après Dedryver, 1981).

## II- MATERIELS ET METHODES

### 2.1- Matériel végétal

Lors des expérimentations, deux types de matériel végétal ont été utilisés, les semis pour mettre en place un protocole de criblage et les plantes greffées pour étudier le comportement alimentaire du puceron cendré. Lors des tests de criblage, une trentaine de semis a été utilisée par modalité de traitement. En ce qui concerne l'étude du comportement alimentaire, le dispositif EPG permet de faire huit enregistrements en simultané. Nous avons renouvelé les manipulations jusqu'à obtenir une trentaine d'enregistrements par modalité (**annexe I**). Les semis (**fig. 7a**), de la variété Golden Delicious, étaient issus de pépins, obtenus en pollinisation libre, dans le verger se trouvant sur le site INRA à Angers. Les pépins ont été stratifiés pendant trois mois puis semés et repotés, deux semaines après, dans un terreau riche en matière organique. La production de ces semis s'est effectuée en serre, en conditions semi-contrôlées (thermopériode : 17-20°C ; humidité relative (HR%) : 56%). Les semis ont été utilisés quatre semaines après avoir été semés pour la mise au point d'un test de criblage de SDP et huit semaines en moyenne pour l'étude du comportement alimentaire du puceron. En ce qui concerne les plantes greffées (**fig. 7b**), le porte greffe était issu de la variété MM106 et le greffon de la variété Golden. Le greffage a été effectué en février de cette année, dans un terreau contenant de la vermiculite, et mis au froid (4°C). Afin d'obtenir des pousses de minimum 10 cm, les greffes ont été sorties et introduites dans la même serre que précédemment, un mois avant l'expérimentation.

### 2.2- Puceron cendré du pommier

Le cycle de *Dysaphis plantaginea* (**fig. 8**) est un holocycle diœcique (ou hétérocœcique). Une fois l'été présent, il doit quitter l'espèce végétale sur laquelle il s'est développé, c'est-à-dire l'hôte primaire, et doit migrer vers une espèce de famille botanique différente appelée hôte secondaire. Ces deux hôtes sont, chez ce puceron cendré, le pommier et le plantain, préférentiellement *Plantago lanceolata* (Blommers *et al.*, 2004). Ce cycle est également composé de deux phases. L'une parthénogénétique, où seules les femelles se reproduisent sans fécondation, l'autre sexuée où des individus mâles et femelles se reproduisent à l'approche de l'hiver (Hullé *et al.*, 1998). La parthénogénèse débute au printemps, sur le pommier, lorsque les œufs d'hivers éclosent pour former des femelles aptères appelées fondatrices. Ces femelles donnent alors d'autres femelles, appelées fondatrigenes. En fonction des conditions des températures et de la densité de population, des individus ailés vont apparaître et migrer sur



Figure 9 : Jeunes pommiers utilisés lors de l'élevage de *D. plantaginea* obtenu à partir d'une femelle fondatrice (Source photo : M. Philibert).

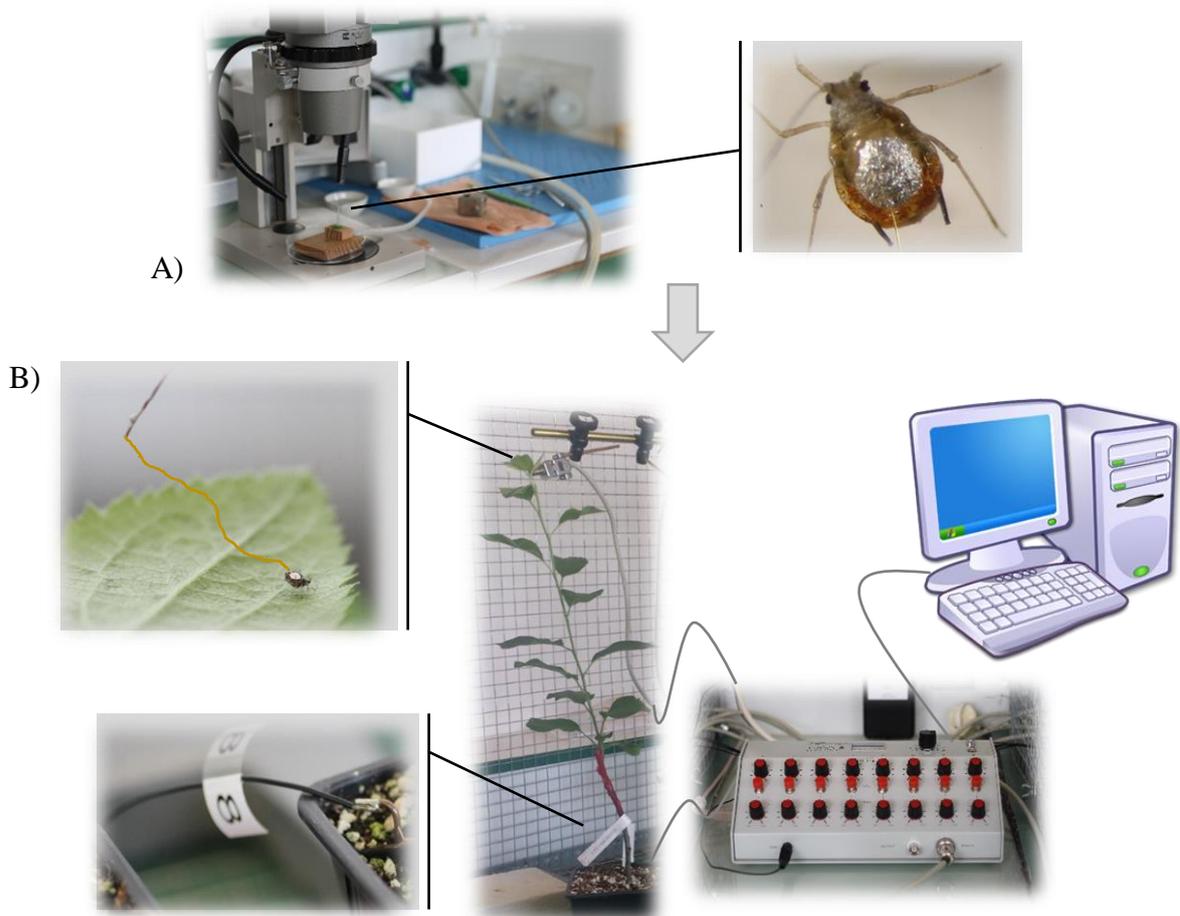
le plantain. La parthénogénèse se poursuit jusqu'à la formation d'individus ailés puis sexués qui, une fois la migration sur pommier effectuée à l'automne, se reproduiront de façon sexuée (Davidson & Lyon, 1979; Hullé et al., 1998). Les pucerons étant hémimétaboles, les différents stades larvaires, présents dans la phase parthénogénétique, sont similaires à l'adulte et font le même type de dégâts que ce dernier. Le développement larvaire est composé de quatre stades au cours desquels une différenciation peut se faire pour former des adultes aptères ou ailés (Dedryver, 1981). Afin d'observer le développement des populations de pucerons et d'étudier leur comportement alimentaire en présence de SDP, les pucerons utilisés ont été obtenus à partir d'un élevage (**fig. 9**) issu d'une femelle fondatrice prélevée sur le site de l'INRA d'Angers en 2013. La population de puceron a été maintenue sur quatre à cinq semis de grande taille, généralement âgés de trois à quatre mois, et placés dans une pièce régulée appelée rotoplan (photopériode : 16h de jour, 8h de nuit en lumière naturelle avec un apport de lumière artificiel la nuit ou si le seuil de l'intensité lumineuse de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{g}^{-1}$  n'est pas atteint ; thermopériode : 22-18°C ; HR% : 80%). Le renouvellement de l'élevage a été effectué toutes les deux semaines, en déposant trois femelles fondatrices sur un nouveau semis. Les expérimentations nécessitant de connaître l'âge des femelles utilisées, des élevages dits synchrones ont été effectués en parallèle. Des femelles fondatrices ont été déposées sur les différents semis et ôtées 24 heures après. De ce fait, des clones ont été utilisés lors de nos expériences. Ces élevages ont été généralement utilisés, pour les expérimentations, entre 12 et 15 jours après avoir déposé les femelles (**annexe I**).

### 2.3- Traitement et mode d'application des SDP

Deux produits ont été utilisés lors de l'étude du comportement alimentaire de *D. plantaginea* : le Bion® 50 WG (acibenzolar-S-méthyl à 50%, Water Dispersible Granule, Syngenta, Suisse) et le BABA (acide 3-aminobutyrique à 97%, Sigma-Aldrich Ltd, Royaume Uni). En ce qui concerne l'étude du développement de population de pucerons, seul le Bion® 50WG a été utilisé comme molécule de référence. Le traitement au Bion® 50 WG s'est effectué par arrosage ou par pulvérisation en trois applications espacées sur une ou deux semaines avant l'infestation. Les deux modalités d'application, arrosage et pulvérisation, furent utilisées pour déterminer si l'une est plus efficace que l'autre. Quant aux fréquences, elles ont tout d'abord été positionnées en suivant les résultats obtenus lors d'expériences antérieures puis disposées sur un pas de temps plus court afin de déterminer si la durée de la manipulation pouvait être réduite. Une fois les granules diluées dans de l'eau dé-ionisée, la concentration utilisée était de 0,4 g/L. En ce qui concerne le BABA sous forme de poudre, une seule application à 1 g/L fut



**Figure 10** : Isolation des femelles et des semis par un sachet en tulle lors du test sur l'enfermement des femelles (Source photo : M. Philibert).



**Figure 11** : Détail du dispositif EPG : après avoir collé sur le dos de la femelle un fil d'or grâce à la colle d'argent (A), elle est déposée sur l'apex de la plante (B) et reliée au circuit par une « canne à pêche ». La plante est quant à elle reliée au dispositif par une sonde enfoncée dans le pot. Le circuit est également composé d'un amplificateur qui revoie le signal EPG vers un ordinateur (Source photos : M. Philibert).

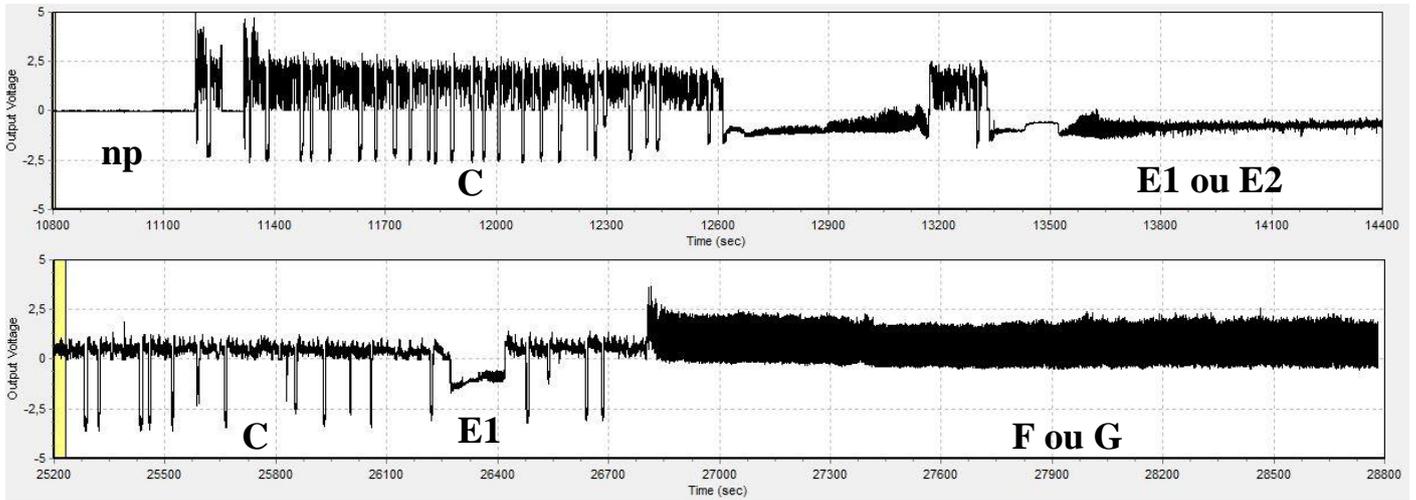
nécessaire, trois à quatre jours avant l'infestation (**annexe I**). Le volume utilisé en arrosage pour le traitement des greffes était de 100 mL par pot quel que soit le produit utilisé. Pour les semis ce volume était de 30 mL. En ce qui concerne la pulvérisation, la solution du produit SDP était pulvérisée sur le feuillage jusqu'à ruissellement. L'estimation des concentrations utilisées, des fréquences de traitement et des volumes utilisés a été déterminée sur la base des résultats antérieurs (Robert, comm.per.).

#### 2.4 Expérimentations sur le développement de la population de pucerons

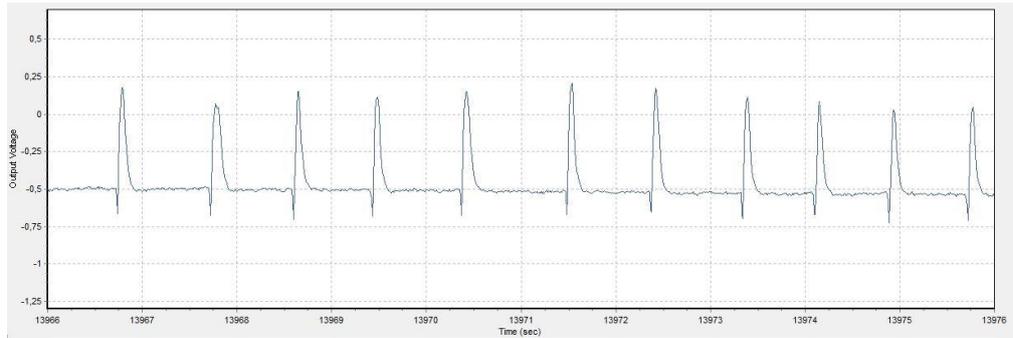
Les plantes utilisées ont été disposées, selon un plan d'expérimentation, en serre (thermopériode : 18-21°C ; HR% : 70%) et/ou en pièce climatisée (photopériode : 16h-8h, thermopériode : 22-18°C, HR% : 70%) en fonction du test effectué (**annexe I**). Pour déterminer l'impact de la fréquence et le mode d'application du Bion® 50WG sur le développement du puceron cendré, sur les plantes ont été placées en serre, et agencées suivant un plan d'expérimentation en split plot. Pour déterminer si des semis peuvent être utilisés dans ce protocole de criblage, l'impact des conditions environnementales a été testé en serre et en pièce climatisée, était disposée dans les deux lieux d'expérimentation. La seconde expérimentation concernant l'enfermement des femelles, afin d'améliorer l'isolation des semis entre eux, était localisée en serre. Les infestations ont été réalisées en déposant une femelle par plante, au niveau de l'apex. Afin d'isoler les plantes entre elles et d'éviter que les femelles ne changent de plante, les pots étaient disposés dans des bacs remplis d'eau et rehaussés individuellement. Lors des tests d'enfermement des femelles, ces dernières étaient également isolées en enfermant les semis dans des sachets en tulle (21 x 17 cm) (**fig. 10**). Le dénombrement s'effectuait quatorze jours après infestation, en comptant le nombre d'individus par plante, tous stades confondus, et en relevant les anomalies telles que l'absence de femelles, la présence de nécrose sur la plante ou l'arrêt de croissance de cette dernière. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel R (R Core Team, 2014). Pour le dénombrement lui-même, les conditions de normalité et d'homogénéité de variance n'étant pas respectées, des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis ont été effectués. Pour ce qui est de la présence ou absence des femelles sur les semis, nous avons appliqué un test d'indépendance du Chi<sup>2</sup> (**annexe I**).

#### 2.5 Expérimentations sur le comportement alimentaire du puceron

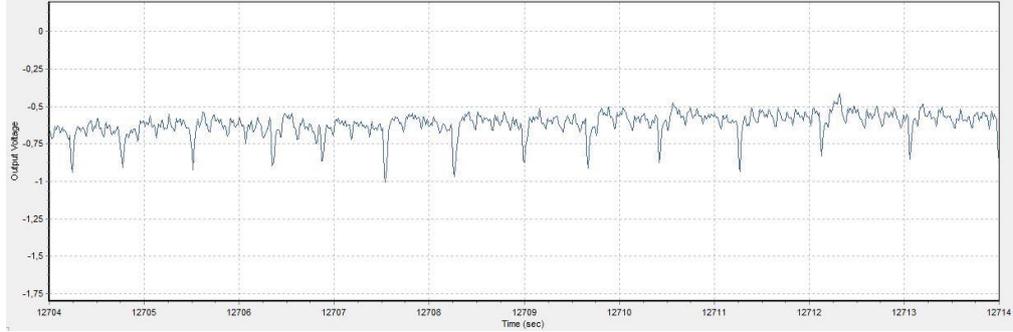
Le dispositif EPG (**fig. 11**) est constitué de huit canaux permettant l'enregistrement du



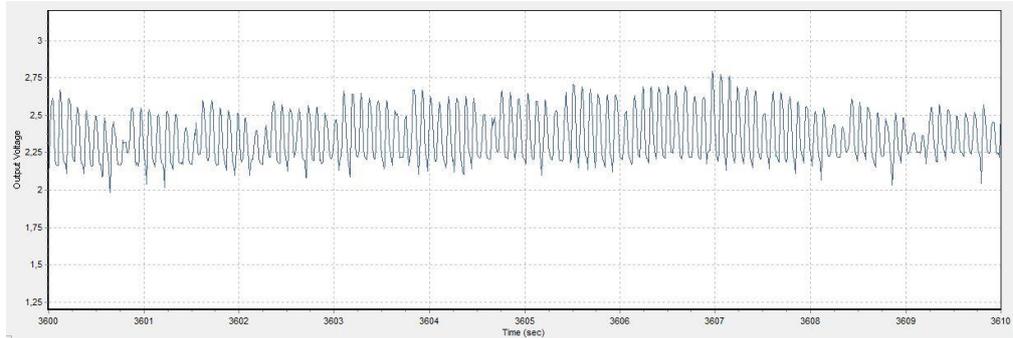
**E1**



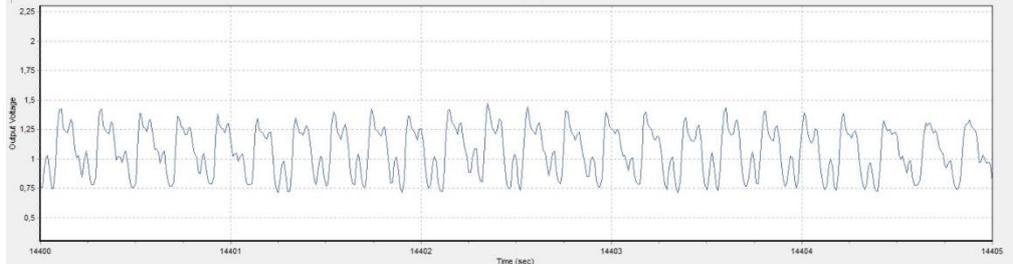
**E2**



**F**



**G**

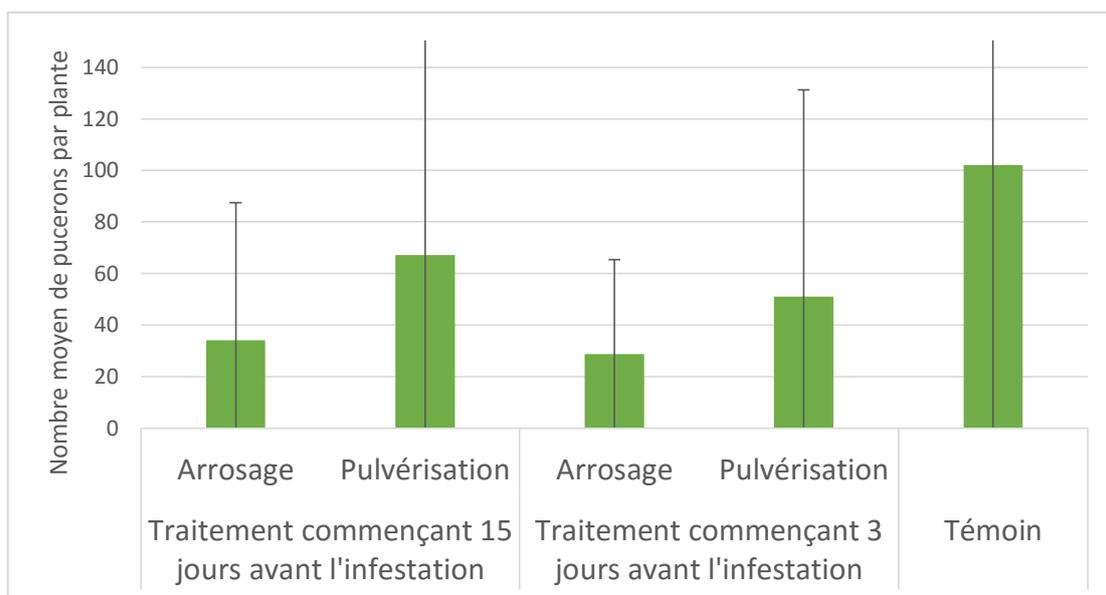


**Figure 12** : Ondes correspondant aux différents items comportementaux enregistrés lors des analyses EPG. Dans ces enregistrements les phases d'absence de piqûres (np), de gustation (C), de salivation (E1), d'alimentation dans le phloème (E2), de déraillement (F) et de prélèvement du xylème (G) sont distinguées (Source images : M. Philibert).

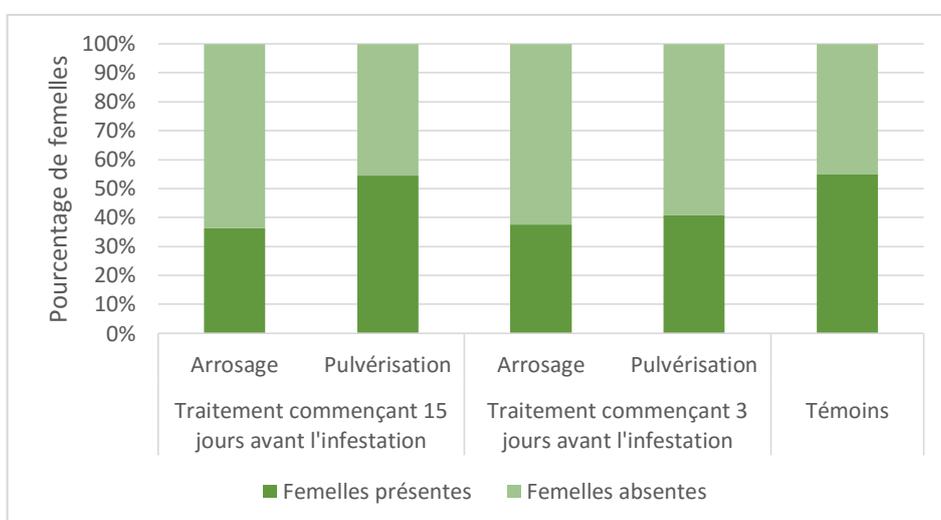
comportement de huit pucerons. Les plantes et les pucerons sont disposés dans une cage de faraday afin de réduire les interférences. Le puceron et la plante font partie d'un circuit électrophysiologique où la plante est reliée au dispositif par une sonde enfoncée dans le terreau et le puceron par un fil d'or collé sur l'abdomen (Tjallingii, 1985). Le collage du fil d'or sur le dos du puceron s'effectue sous aspiration. Le puceron est alors maintenu sous une loupe binoculaire. Avant de coller le fil d'or, il faut au préalable laver les cires sur le dos du puceron avec un détergent (une solution de Triton diluée) puis le rincer à l'eau claire. Une fois les cires nettoyées, une pointe de colle est déposée sur le dos du puceron ainsi que le fil. Après une courte attente, le puceron est ôté du support d'aspiration et inséré dans le dispositif EPG par l'intermédiaire d'une « canne à pêche ». Cette dernière est constituée d'un clou et d'un fil de cuivre. Les plantes sont ensuite disposées dans les cages de faraday, où la sonde correspondant au canal est enfoncée dans le pot. La feuille sur laquelle le puceron sera déposé est également retournée et maintenue par une attache. Ceci permet d'éviter les contacts entre le fil d'or et la feuille car *D. plantaginea* est une espèce qui va préférentiellement sur le dessous des feuilles de pommier. Une fois l'enregistrement lancé via le logiciel *EPG Stylet+ daq* sur l'ordinateur, les pucerons sont mis en contact avec la feuille et lors de la première piqûre, les réglages sont effectués en ajustant le voltage et l'amplitude. Pour chaque puceron, le réglage s'effectue au niveau du point de mesure et permet d'obtenir des ondes caractéristiques et distinctes lors de l'analyse de l'enregistrement.

Le comportement de chaque puceron a été enregistré pendant huit heures, dans une salle climatisée à 25°C, et a été ensuite analysé via le logiciel *EPG Stylet+ ana*. Lors de l'analyse de nos enregistrements, nous avons pris en compte les différents items comportementaux décrits par Tjallingii et Hogen Esch (1993) : l'absence de piqûre (np), la gustation ou probing (C), la salivation dans le phloème (E1), l'alimentation dans le phloème (E2), le déraillement des stylets (F) et le prélèvement dans le xylème (G) (**fig. 12**) (Tjallingii & Esch, 1993). Pour chacun d'entre eux nous avons mesuré le nombre de fois où l'item apparaît, la somme des durées de l'item sur la totalité de l'enregistrement et la première apparition de l'item.

Trois expérimentations ont été effectuées avec ce dispositif (**annexe II**). Nous avons tout d'abord comparé le comportement du puceron cendré du pommier sur des plantes greffées traitées au BABA par rapport à des plantes greffées n'ayant pas reçu de traitement, puis sur des plantes greffées traitées au Bion® 50 WG par rapport à des plantes greffées témoins. Enfin, nous avons comparé le comportement alimentaire de ce puceron sur des plantes greffées par rapport à des semis en l'absence de traitement.



**Figure 13 :** Effet du Bion® 50WG apporté 3 fois par arrosage ou 3 fois par pulvérisation selon 2 cinétiques d'application (sur 15 ou 3 jours) sur le développement du puceron cendré sur semis de pommier. Les données représentent le nombre moyen de pucerons par plante, les barres d'erreurs sont les écart-types.



**Figure 14 :** Effet du Bion® 50WG apporté 3 fois par arrosage ou 3 fois par pulvérisation selon 2 cinétiques d'application (sur 15 ou 3 jours) sur la présence des femelles sur les semis. Les données représentent le pourcentage de femelles présentes (en foncé) et absentes (en clair).

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel R (R Core Team, 2014). Après avoir vérifié les conditions de normalité et d'homogénéité de variance, des tests non paramétriques de Kruskal-Wallis ont été réalisés.

### III- RESULTATS

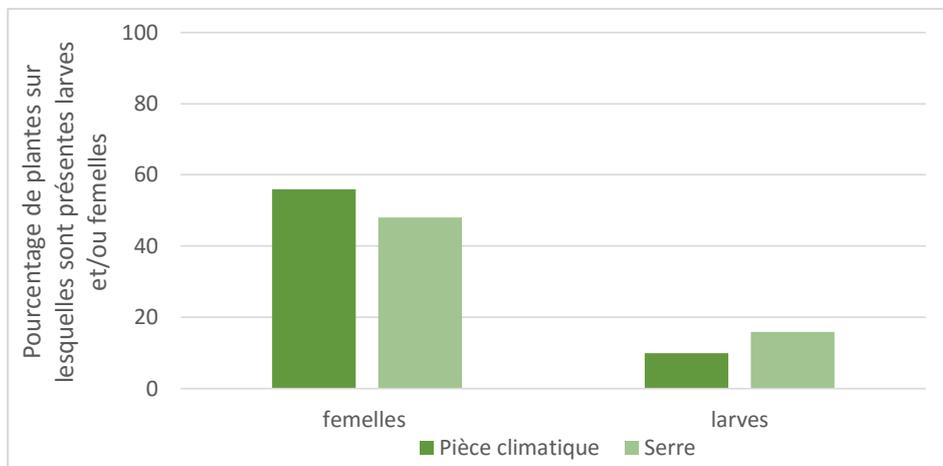
#### 3.1- Expérimentations sur le développement de la population de puceron

##### 3.1.1- Impact de la fréquence et du mode d'application de deux SDP sur le développement du puceron cendré

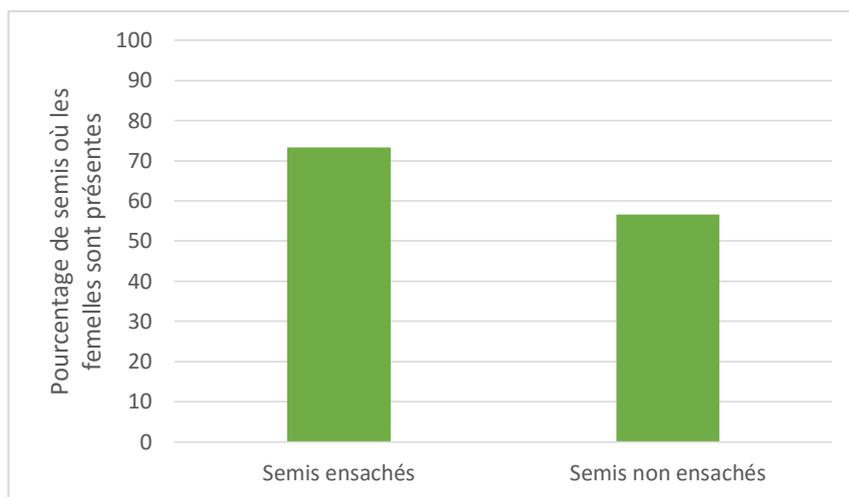
Un effet du Bion® 50WG vis-à-vis du puceron cendré avait été mis en évidence dans l'équipe avant mon arrivée en réalisant 3 pulvérisations successives de pommiers (semis de huit semaines) sur une période de 15 jours avant infestation. Nous avons voulu tester s'il était possible de réduire cette cinétique d'applications sur 3 jours avant infestation et déterminer si un apport du produit par arrosage était plus efficace que par pulvérisation.

Afin d'optimiser les tests de criblage sur le puceron cendré, nous avons réalisé des traitements avec le Bion® 50WG à deux fréquences d'application (**annexe I**). Les résultats obtenus ne montrent pas de différence significative pour chacune des modalités. C'est le cas entre les deux fréquences de traitements et les témoins (**annexe III**), quel que soit le mode d'application utilisé en raison d'une forte variabilité des résultats. Cependant nous observons des tendances (**fig. 13**). Le nombre de pucerons présents sur les semis traités au Bion® 50WG est en moyenne plus réduit que sur les plants témoins. De même, il semble que l'arrosage permette une efficacité plus importante du traitement que la pulvérisation : 34 contre 67 individus respectivement pour les applications sur 15 jours, et 29 contre 51 individus respectivement pour les applications réparties sur 3 jours. Sur les semis témoins, le nombre d'individus moyen par semis est de 102.

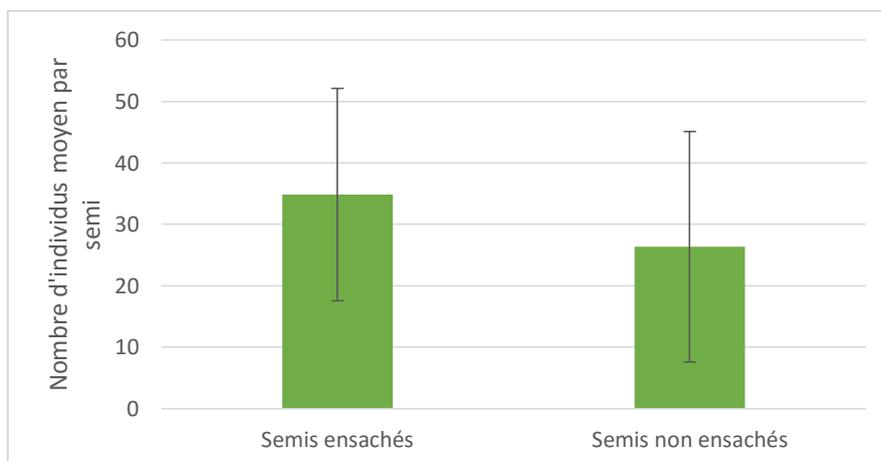
Ces résultats révèlent donc aussi une forte variabilité du nombre de pucerons par semis. Lors du dénombrement (**fig. 14**), quatorze jours après l'infestation, nous avons observé un fort taux de départ des femelles déposées lors de l'infestation. En effet, seulement 45% des femelles étaient présentes lors du dénombrement. Des larves étant présentes même en l'absence de femelle, le dénombrement a été fait sur la totalité des semis, sans exclure ceux ne possédant plus de femelles de *D. plantaginea*.



**Figure 15** : Effet de la localisation de l'expérimentation, en serre ou en pièce climatique, sur la présence des femelles sur les semis en l'absence de traitement. Les données représentent le pourcentage de plantes sur lesquelles des larves et / ou des femelles sont présentes sur les semis, en pièce climatique (foncé, n = 50) ou en serre (clair, n = 50).



**Figure 16** : Effet de l'enfermement des femelles dans un tulle sur le taux de départ des femelles en l'absence de traitement. Les données représentent le pourcentage de plantes sur lesquelles les femelles sont présentes suivant le type d'isolement des semis : semis ensachés sous un tulle (n = 30) ou isolés par de l'eau (n = 30).



**Figure 17** : Effet de l'enfermement des femelles dans un tulle sur l'infestation de *D. plantaginea* en l'absence de traitement. Les données représentent le nombre moyen d'individus tous stades confondus (les barres d'erreurs sont les écarts-types) par semis suivant le type d'isolement des semis : semis ensachés sous un tulle (n = 30) ou isolés par de l'eau (n = 30).

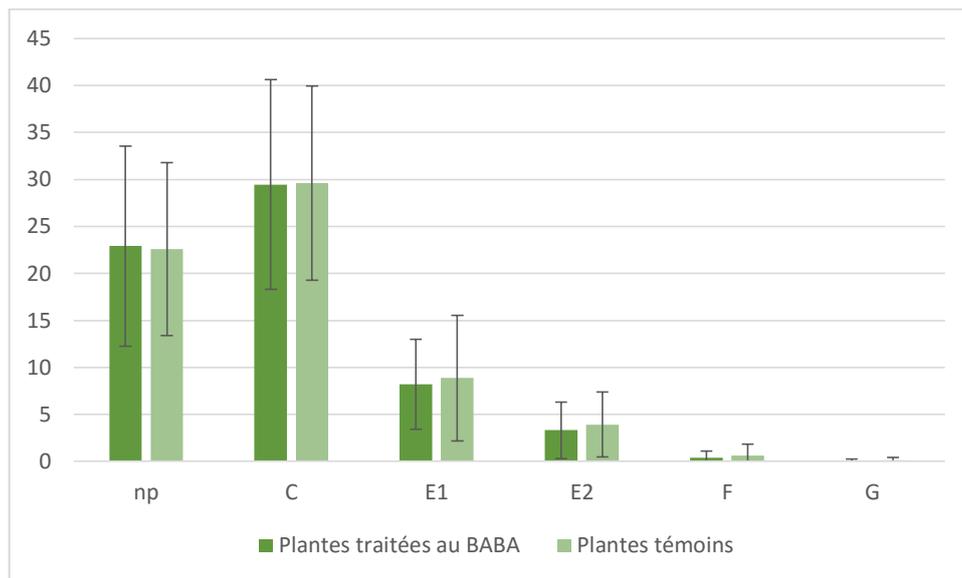
3.1.2- Effet des conditions environnementales sur le départ des femelles

Suite au fort taux de départ des femelles observé dès le septième jour dans l'expérimentation précédente, nous nous sommes demandé si cela pouvait être lié aux conditions environnementales fluctuantes de la serre. Nous avons alors disposé une cinquantaine de semis en serre et une cinquantaine de semis en pièce climatique. Nous avons déposé une femelle sur chacun d'entre eux, dans les deux lieux d'expérimentation, et avons noté leur présence/absence, ainsi que le développement de larves sept jours après infestation.

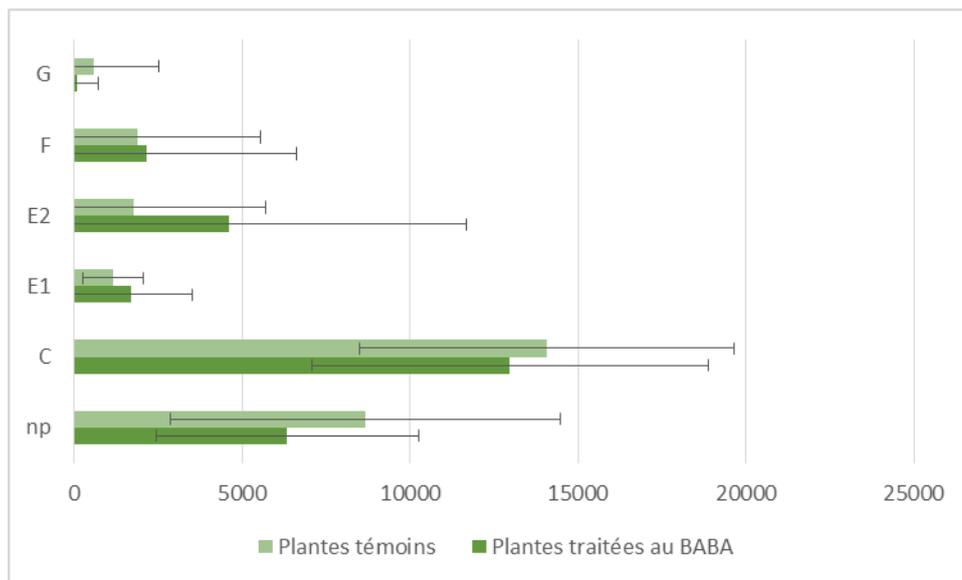
Les résultats (**fig. 15, annexe III**) montrent qu'il y a des femelles sur 56% des plantes, en pièce climatique, et sur 48% des plantes en serre. Il n'y a donc pas de différence significative sur la présence ou non des femelles sur les semis en fonction de la localisation de l'expérimentation. De même, le nombre de plantes sur lesquelles sont présentes des larves n'est pas différent. Elles sont présentes sur 10% des plantes en pièce climatique et sur 16% en serre.

3.1.3- Effet de l'enfermement dans un sac en tulle sur l'infestation du puceron cendré sur des semis

L'expérimentation précédente montrant que le taux de départ des femelles n'est pas différent entre la serre et la pièce climatisée, et de ce fait n'est pas lié aux conditions environnementales de la serre mais plus probablement aux semis, nous avons voulu tester l'enfermement des femelles sur ces derniers afin de forcer l'infestation. Pour cela nous avons disposé une soixantaine de semis en serre, dont la moitié était recouvert individuellement par un sachet en tulle après infestation, l'autre moitié étant individuellement isolé par de l'eau à la base des pots. Les observations ont porté sur la présence de femelles sur chaque semis et sur le nombre d'individus par plante. Les résultats (**fig. 16, annexe III**) montrent que le nombre de plantes colonisées par une femelle diminue même en présence du sachet en tulle. Il reste 73% des femelles déposés au début de l'expérimentation sur les semis ensachés et 56% sur les semis isolés de façon standard par de l'eau à la base des pots. Le nombre d'individus moyen (**fig. 17**) est également similaire quel que soit le mode d'isolation des femelles sur les semis. Après sept jours, 35 individus en moyenne sont présents sur les semis ensachés et 26 individus sont présents sur les autres semis.



**Figure 18** : Analyse électropénéthrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au BABA : nombre moyens d'apparitions d'items (les barres d'erreur sont les écarts-types) révélateurs du comportement alimentaire de *D. plantaginea* enregistré par EPG pendant 8h suite à son infestation sur plantes greffées traitées au BABA (n = 25) ou à l'eau (témoins, n = 26). Les items considérés sont l'absence de piqûre (np), la gustation (C), la salivation (E1), l'alimentation (E2), le déraillement (F) et la piqûre dans le xylème (G).



**Figure 19** : Analyse électropénéthrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au BABA : somme moyenne des durées totales (en secondes) d'items (les barres d'erreur sont les écarts-types) révélateurs du comportement alimentaire de *D. plantaginea* enregistrés par EPG pendant 8h suite à son infestation sur plantes greffées traitées au BABA (n = 25) ou à l'eau (témoins, n = 26). Les items considérés sont l'absence de piqûre (np), la gustation (C), la salivation (E1), l'alimentation (E2), le déraillement (F) et la piqûre dans le xylème (G).

### 3.2- Expérimentations sur le comportement alimentaire du puceron

#### 3.2.1- Analyse EPG sur plantes traitées au BABA

Le comportement alimentaire du puceron a été analysé dans un premier temps sur des plantes traitées au BABA, composé connu par l'équipe pour affecter fortement le développement larvaire de *D. plantaginea*. Des scions greffés de pommier ont ainsi été traités au BABA 1 g/L par arrosage, quatre jours avant les enregistrements, puis infestés par des femelles reliées à l'enregistreur EPG et suivies pendant huit heures. Différents items comportementaux ont été suivis : l'absence de piqûre (np), la gustation (C), la salivation dans le phloème (E1), l'alimentation dans le phloème (E2), le déraillement (F) et la piqûre dans le xylème (G). Le nombre d'apparitions de chaque item ou le temps d'apparition (en particulier pour C, E1 et E2), ainsi que la somme des durées de l'item ont été calculés. Les détails des résultats et des analyses statistiques sont présents en **annexes IV et V**.

En ce qui concerne le nombre d'apparitions (**fig. 18**) des items comportementaux, nous pouvons constater qu'il n'y a pas de différence entre le comportement alimentaire des femelles sur les plantes traitées au BABA et celui des femelles sur les plantes témoins. L'absence de piqûre et les piqûres de gustation sont les items comportementaux les plus nombreux (respectivement au nombre de 29 et 23 en moyenne par enregistrement sur les plantes traitées et de 30 et 23 sur les témoins). Les phases de salivation et d'alimentation sont peu nombreuses, que ce soit sur les témoins ou les plantes traitées (8 items de salivation et 3 items d'alimentation en moyenne sur les plantes traitées et 9 et 4 pour les témoins). Il y a peu de piqûres dans le xylème (moyenne inférieure à 1 quel que soit le traitement) ainsi que de phénomènes de déraillement du stylet (un seul sur les témoins et une moyenne inférieure à 1 sur les plantes traitées). L'analyse statistique effectuée via le test de Kruskal Wallis ne montre aucune différence significative quel que soit l'item comportemental observé.

Les durées totales (**fig. 19**) ne révèlent pas non plus de différence entre le comportement des femelles sur les plantes traitées par rapport à celui des femelles sur les plantes témoins. En huit heures, les femelles ne piquent pas pendant 6352s soit 1,8h sur 8 sur plantes traitées, 8671s soit 2,5h sur témoins ou réalisent en majorité à des piqûres de gustation pendant 12978s soit 3,2h sur 8h sur plantes traitées, 14070,7s soit 4h sur témoins. Il semble que les femelles sur plantes traitées effectuent des piqûres d'alimentation plus longues que les piqûres de salivation

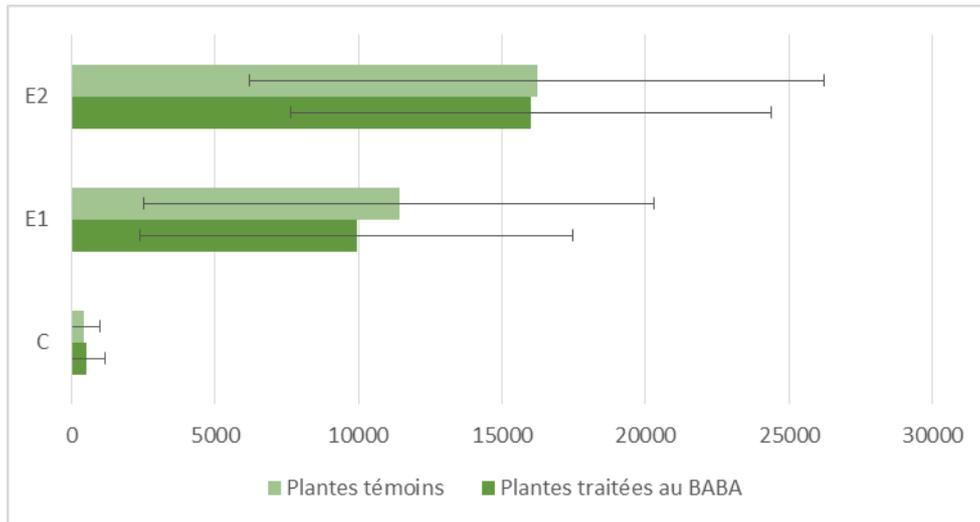


Figure 20 : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au BABA : temps (en secondes) moyen de la première apparition de quelques items (Les barres d'erreurs sont les écart-types) révélateurs du comportement alimentaire de *D. plantaginea* enregistrés par EPG pendant 8h suite à son infestation sur plantes greffées traitées au BABA (n = 25) ou à l'eau (témoins, n = 26). Les items considérés sont la gustation (C), la salivation (E1) et l'alimentation (E2).

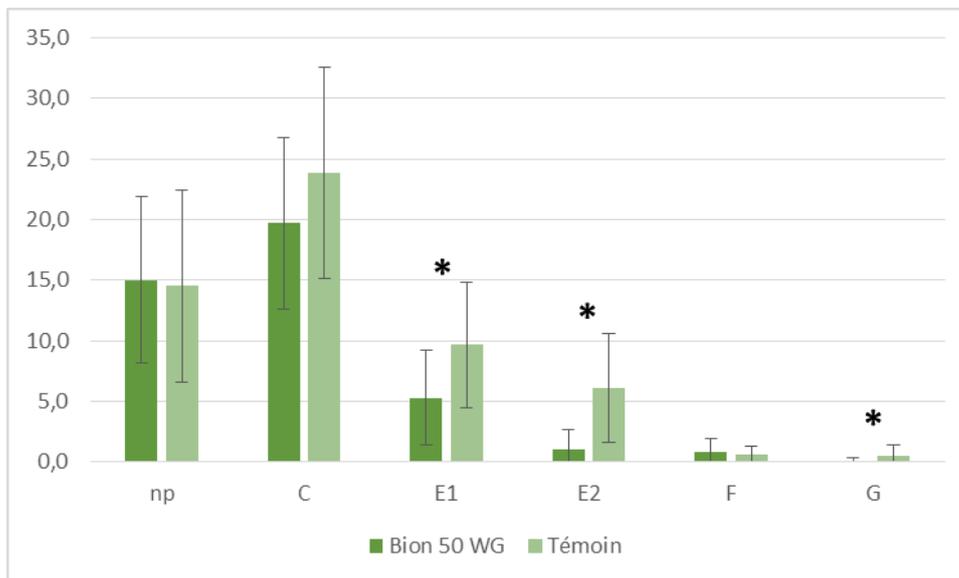


Figure 21 : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au Bion® 50WG : nombre moyens d'apparitions d'items (les barres d'erreur sont les écarts-types) révélateurs du comportement alimentaire de *D. plantaginea* enregistré par EPG pendant 8h suite à son infestation sur plantes greffées traitées au Bion® 50WG (n = 34) ou à l'eau (témoins, n = 29). Les items considérés sont l'absence de piqûre (np), la gustation (C), la salivation (E1), l'alimentation (E2), le déraillement (F) et la piqûre dans le xylème (G). Les astérisques représentent la significativité suivant le test de Kruskal Wallis :  $p_{E1} = 0,001$  ;  $p_{E2} = 5,732.10^{-7}$  ;  $p_G = 0,003$ .

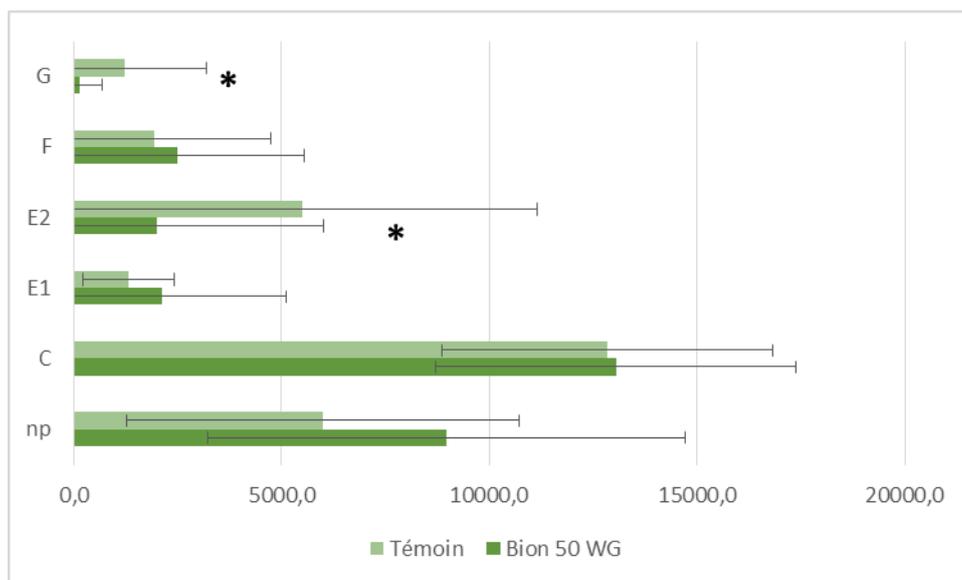
(respectivement de 4620s soit 1,3h et de 1706s soit 29 min), mais ce n'est pas significatif. Cet écart est moins visible sur les plantes témoins (E1=1173s soit 20 min et E2=1775s soit 31 min). La durée du déraillement est équivalente sur les plantes traitées ou sur les plantes témoins (respectivement de 2173s soit 37 min et 1893s soit 33 min). La durée des piqûres dans le xylème est courte, de 115s sur les plantes traitées (soit 2 min) et de 584s sur les plantes témoins (soit 10 min). Nous pouvons observer une forte variabilité du comportement des femelles au sein d'une même modalité. Ceci implique une absence de significativité entre les items comportementaux des deux modalités.

Enfin, après avoir été déposés sur une feuille, les pucerons n'ont significativement pas mis plus de temps à réaliser leur première piqûre correspondant à chaque item. En effet, la première apparition (**fig. 20**) des piqûres de gustation, de salivation et d'alimentation ne montre pas de différence dans le comportement des femelles sur les plantes traitées par rapport à celui des femelles sur les plantes témoins. Dans les deux modalités, la piqûre de gustation apparaît rapidement (à 511s soit à environ 9 min sur les plantes traitées et à 432s soit à 7 min sur les plantes témoins). Plus tardivement, interviennent tout d'abord les piqûres de salivation (à 9927s soit à 2,8h sur les plantes traitées et à 11410s soit à 3,4h sur les plantes témoins), puis les piqûres d'alimentation à 16016s sur les plantes traitées (soit à environ 4,6h) et à 16221s sur les plantes témoins (soit à environ 4,6h également). Les résultats statistiques ne montrent effectivement aucune différence significative sur ces items comportementaux entre les femelles sur les plantes traitées et celle sur les plantes témoins.

### 3.2.2- Analyse EPG sur plantes traitées au Bion® 50 WG

Le même type d'analyse a été mené sur des scions greffés traités cette fois-ci au Bion® 50WG. L'application s'est effectuée par l'arrosage de 100 mL de Bion® 50WG à 0,4 g/L par pot, à sept, cinq et trois jours avant l'infestation. Les résultats et analyses statistiques sont en **annexes V et VII**.

Les enregistrements EPG révèlent des différences dans le comportement de *D. plantaginea* sur les plantes traitées par rapport à celui des femelles sur plantes témoins. Tout d'abord, les piqûres de salivation, d'alimentation et dans le xylème sont plus nombreuses lorsque les femelles sont sur des plantes non traitées (**fig. 21**). En effet, le nombre de piqûres de



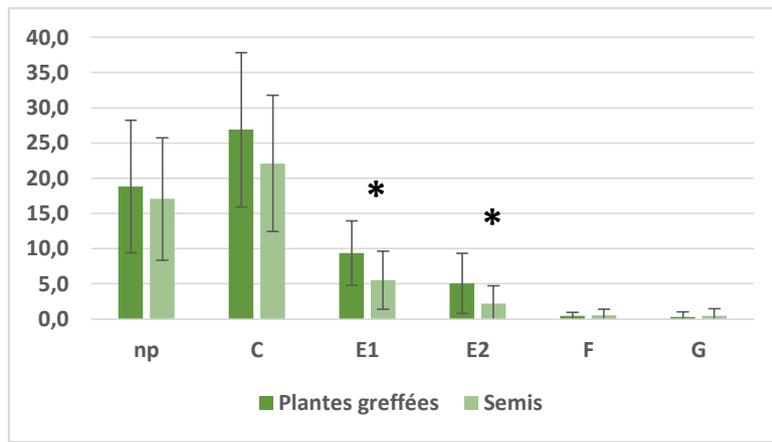
**Figure 22** : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au Bion® 50WG : somme moyenne des durées totales (en secondes) d'items (les barres d'erreurs sont les écarts-types) révélateurs du comportement alimentaire de *D. plantaginea* enregistrés par EPG pendant 8h suite à son infestation sur plantes greffées traitées au Bion® 50WG (n = 34) ou à l'eau (témoins, n = 29). Les items considérés sont l'absence de piqûre (np), la gustation (C), la salivation (E1), l'alimentation (E2), le déraillement (F) et la piqûre dans le xylème (G). Les astérisques représentent la significativité suivant le test de Kruskal Wallis :  $p_{E2} = 0,009$  ;  $p_G = 0,004$ .



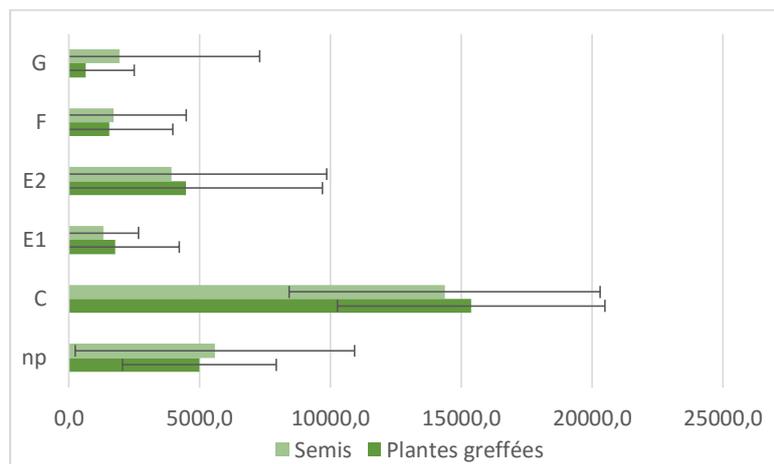
**Figure 23** : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés traités au Bion® 50WG : temps (en secondes) moyen de la première apparition de quelques items (Les barres d'erreurs sont les écart-types) révélateurs du comportement alimentaire de *D. plantaginea* enregistrés par EPG pendant 8h suite à son infestation sur plantes greffées traitées au Bion® 50WG (n = 34) ou à l'eau (témoins, n = 29). Les items considérés sont la gustation (C), la salivation (E1) et l'alimentation (E2). Les astérisques représentent la significativité suivant le test de Kruskal Wallis :  $p_{E1} = 0,025$ .

salivation sont de 5 en moyenne sur les plantes traitées et de 10 sur les plantes témoins ( $p_{E1} = 0,0011$ ). Les piqûres d'alimentation sont au nombre de 6 sur les plantes témoins et seulement d'1 piqûre sur les plantes traitées ( $p_{E2} = 5,732.10^{-7}$ ). Enfin, une femelle sur deux en moyenne prélève le xylème des plantes témoins alors que cette même moyenne est proche de zéro sur plantes traitées ( $p_G = 0,0034$ ). Le nombre de piqûres de gustation n'est pas significativement différent, 20 sur plantes traitées et 24 sur les témoins. De même, le nombre d'apparitions des items 'absence de piqûre' et 'déraillement du stylet' ne sont pas significativement différents d'une modalité à l'autre (elles sont respectivement au nombre de 15 que cela soit avec ou sans traitement et inférieure à 1 en moyenne pour les deux modalités). Nous pouvons également observer des différences lors des mesures de la durée globale des items (**fig. 22**). Ces différences concernent les items de piqûre dans le xylème et d'alimentation dans le phloème où nous pouvons constater que les femelles *D. plantaginea* passent plus de temps à piquer le xylème et à s'alimenter dans le phloème lorsqu'elles sont sur des plantes témoins. En effet, les piqûres dans le xylème durent en moyenne 1212s sur les plantes témoins (soit environ 20min) alors que sur plantes traitées les piqûres dans le xylème sont de 130s soit environ 2 minutes ( $p_G = 0,0035$ ). Cependant les autres items ne montrent pas de différence en fonction du traitement au Bion® 50 WG. L'absence de piqûre correspond à 8976s soit à 2h sur 8 d'enregistrement sur les plantes traitées et à 5982s soit à 1,7h sur 8 d'enregistrement sur les plantes témoins. Le temps en gustation est de 13047s soit environ 3,6h sur les plantes traitées et 12838s soit environ 3,6h également. Celui de salivation est de 2122s soit d'environ 30 min sur les plantes traitées et de 1310s soit de 20 min sur les plantes témoins. Les stylets des femelles dérailent pendant 2494s soit pendant 40 min lorsqu'elles sont sur des plantes traitées et pendant 1944s soit un peu plus de 30 min lorsqu'elles sont sur des plantes témoins.

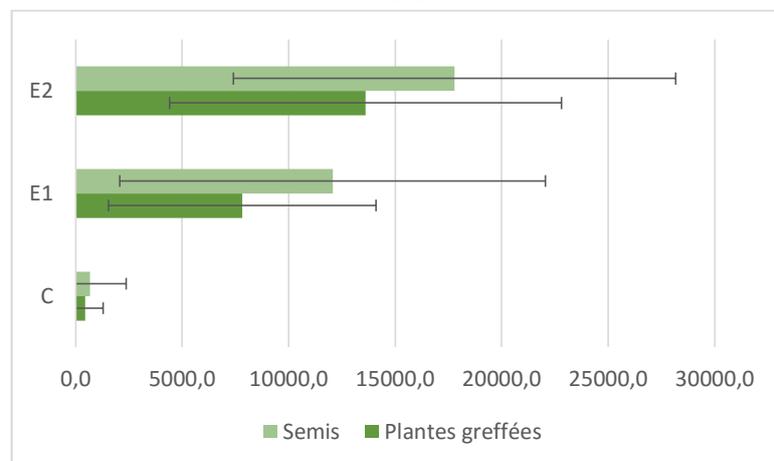
En ce qui concerne les premières apparitions des différents items comportementaux (**fig. 23**), seule la salivation dans le phloème commence plus tôt lorsque les femelles sont sur les témoins ( $p_{E1} = 0,0248$ ). Les femelles font une piqûre de salivation à partir de 8320s (soit à partir de 2,3h) sur les plantes témoins. Sur les plantes traitées la première piqûre de salivation apparaît à 13236s (soit à partir de 3,6h). Les piqûres de gustation et d'alimentation apparaissent respectivement à 698s soit à 11 min et à 24050s soit à 6,7h lorsque les femelles sont sur des plantes traitées et à 722s soit à 12 min et à 12486s soit à 3,5h lorsque les femelles sont sur des plantes témoins. Là encore, la forte variabilité observée ne permet d'avoir de différence significative que dans ce dernier item.



**Figure 24** : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés ou sur des semis en l'absence de traitement : nombre moyens d'apparitions d'items (les barres d'erreur sont les écarts-types) révélateurs du comportement alimentaire de *D. plantaginea* enregistré par EPG pendant 8h suite à son infestation sur plantes greffées (n = 25) ou sur des semis (n = 28). Les items considérés sont l'absence de piqûre (np), la gustation (C), la salivation (E1), l'alimentation (E2), le déraillement (F) et la piqûre dans le xylème (G). Les astérisques représentent la significativité suivant le test de Kruskal Wallis :  $p_{E1} = 0,004$  ;  $p_{E2} = 0,01$ .



**Figure 25** : Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés ou sur des semis en l'absence de traitement : somme moyenne des durées totales (en secondes) d'items (les barres d'erreurs sont les écarts-types) révélateurs du comportement alimentaire de *D. plantaginea* enregistrés par EPG pendant 8h suite à son infestation sur plantes greffées (n = 25) ou sur des semis (n = 28). Les items considérés sont l'absence de piqûre (np), la gustation (C), la salivation (E1), l'alimentation (E2), le déraillement (F) et la piqûre dans le xylème (G).



**Figure 26**: Analyse électropénétrographique du comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* sur des scions greffés ou sur de semis en l'absence de traitement : temps (en secondes) moyen de la première apparition de quelques items (Les barres d'erreurs sont les écart-types) révélateurs du comportement alimentaire de *D. plantaginea* enregistrés par EPG pendant 8h suite à son infestation sur plantes greffées (n = 25) ou sur des semis (n = 29). Les items considérés sont la gustation (C), la salivation (E1) et l'alimentation (E2).

### 3.2.3- Analyse EPG sur plantes greffées et semis

L'objectif est de mettre en évidence une différence dans le comportement alimentaire des femelles *D. plantaginea* lorsqu'elles sont déposées sur des plantes greffées ou sur des semis. Pour cela nous avons fait huit jours d'enregistrements EPG de huit heures sur lesquels nous avons relevé les mêmes mesures sur les mêmes items comportementaux que celles analysées lors des deux expériences précédentes. Les résultats complets et les analyses statistiques sont présentés en **annexes VI et VII**.

Des différences sont observées dans le nombre de piqûre de salivation et d'alimentation ( $p_{E1} = 0,0042$  et  $p_{E2} = 0,011$ ) (**fig. 24**). En effet, les femelles sur plantes greffées font plus de piqûres de salivation et d'alimentation (respectivement 9 et 5) que les femelles sur semis (6 et 2). Cependant, nous n'observons pas de différence significative en ce qui concerne l'absence de piqûre (19 sur les plantes greffées et 17 sur les semis), le nombre de piqûres de gustation (27 sur les plantes greffées et 22 sur les semis), le nombre de déraillement et de piqûres dans le xylème (inférieur à une piqûre en moyenne).

En ce qui concerne la durée des items (**fig. 25**), nous n'observons pas non plus de différence significative. Cependant, nous pouvons constater une forte variabilité ce qui peut expliquer cette absence de significativité. Toutefois, la durée des items comportementaux sont similaires entre les deux modalités, plantes greffées et semis. La durée d'absence de piqûre est de 4986s soit 1,4h lorsque les femelles sont sur des plantes greffées et de 5573s soit 1,5h lorsqu'elles sont sur des semis. Le temps de gustation est lui aussi similaire, les femelles sur plantes greffées goûtent pendant 15375s soit 4,3h et les femelles sur semis goûtent pendant 14360s soit 4h. De même les piqûres de salivation et d'alimentation durent respectivement 1768s soit environ 30 min et 4462s soit 1,2h sur les plantes greffées et 1305s soit 21 min et 3907s soit 1h sur les semis. C'est également le cas du déraillement qui dure en moyenne 1548s soit 25 min sur les plantes greffées et 1713s soit 28 min sur les semis. Cependant, il y a une tendance en ce qui concerne les piqûres dans le xylème pour lesquelles on observe une durée moyenne de piqûre nettement inférieure sur plantes greffées que sur semis (642s soit 11 min, vs 1922s soit 32 min) sur les semis. Mais cette différence n'est pas significative en raison de la forte variabilité des mesures.

Enfin, les premières apparitions (**fig. 26**) des items de gustation, de salivation et d'alimentation ne montrent pas non plus de différences significatives, cependant la variabilité



est une fois encore importante. Les femelles font la première piqûre de gustation en moyenne à 436s soit 7 min sur les plantes greffées et à 684s soit 11 min sur les semis. Les piqûres de salivation commencent à 7812s soit 2,2h lorsque les femelles sont sur des plantes greffées et à 12069s soit 3,4h lorsqu'elles sont sur des semis. Enfin, les piqûres d'alimentation commencent généralement à 13613s soit 3,8h sur les plantes greffées et à 17791s soit 4,9h sur les semis.

#### IV- DISCUSSION

##### 4.1- Efficacité du Bion® 50WG

Les tests de criblage et les observations par EPG semblent montrer que le Bion® 50WG a un impact négatif sur l'alimentation et le développement de *Dysaphis plantaginea*, par opposition au BABA qui perturbe son développement sans modifier son comportement alimentaire.

Les résultats portant sur les tests de mise en place d'un protocole de criblage de SDP permettent d'observer l'impact du Bion® 50WG sur la population de *D. plantaginea*. En effet, le nombre de pucerons est plus faible sur les plantes traitées avec ce SDP par rapport au témoin. L'impact du Bion® 50WG sur ce puceron est également observable au travers de l'analyse EPG qui révèle des différences dans le comportement alimentaire des femelles déposées sur des plantes greffées traitées par rapport à celle déposées sur des plantes greffées témoins. Les changements du comportement de *D. plantaginea* portent sur les phases de gustation, de salivation et d'alimentation. Dans une étude sur le comportement de *Myzus persicae*, Civolani et ses collaborateurs (2010) ont analysé par électropénétrographie les items comportementaux de ce puceron sur des plants de tomates traités avec la matière active du Bion® 50WG (benzo(1,2,3)thiadiazole-7-carbothioic acid-S-méthyl ester - BTH). Leurs résultats montrent un impact sur la phase de gustation et sur la phase d'alimentation. Sur les plantes traitées la durée de cette dernière phase est plus courte et les piqûres de gustation sont plus nombreuses par opposition aux piqûres d'alimentation qui sont quant à elles en moindre nombre. Ceci concorde avec nos résultats car le nombre de piqûres de gustation est également plus élevé sur plantes traitées. De même, la phase d'alimentation est affectée par le traitement, et le nombre de piqûres et leur durée totale sont moindres. De plus, sur les plantes traitées au Bion® 50WG, les pucerons mettent en moyenne plus de temps à piquer dans le phloème. Cependant nos analyses montrent également un impact sur la phase d'alimentation dans le xylème, avec une



diminution du nombre de piqûres des pucerons sur les plantes traitées par rapport aux plantes témoins. Les piqûres dans le xylème correspondent à une phase où le puceron s'abreuve. Spiller *et al.* (1990) ont mis en place une expérimentation visant à faire correspondre les ondes observées lors des analyses EPG avec le comportement alimentaire d'*Aphis fabae*. Ils ont ainsi observé que l'apparition de l'onde G avait lieu lorsque le puceron était déshydraté (Spiller *et al.*, 1990). Ces constatations, rapportées à nos analyses, semblent donc indiquer que les pucerons se réhydratent plus sur les pommiers témoins que sur les pommiers traitées. La résistance induite par l'application de Bion® 50WG semble donc être localisée à la fois dans les tissus du mésophylle et dans les vaisseaux phloémiens et xylémiens.

#### 4.2- Efficacité du BABA

Par opposition au Bion® 50WG, nos résultats montrent que le BABA n'impacte pas le comportement alimentaire du puceron cendré du pommier. Cependant, de précédentes expérimentations ont montré un impact négatif du BABA sur le développement de différentes espèces de pucerons. Hodge *et al.*, (2005) ont notamment montré que ce SDP réduit les performances du puceron du pêcher, *Acyrtosiphon pisum*. Le BABA diminue la taille de la population, la fécondité et le poids des individus (Hodge *et al.*, 2005, 2006 ; Robert *et al.*, comm.pers.). Ceci est en accord avec une étude portant sur l'activation des défenses du soja vis-à-vis d'*Aphis glycine*. Les auteurs ont pu constater que le BABA pouvait réduire la population de pucerons jusqu'à vingt et un jours après l'infestation (Zhong *et al.*, 2014). Cependant, l'induction des défenses de la plante par le BABA n'impacte pas le comportement alimentaire du puceron. Cao *et al.*, (2014b) ont aussi pu constater ce fait lors d'expérimentations sur blé contre *Sitobion avenae* où les traitements avec une solution de BABA entraînaient également une réduction du poids des pucerons et du nombre d'individus. Cependant, les analyses EPG effectuées sur ce puceron ne montrent aucune différence dans son comportement alimentaire lorsqu'il est déposé sur une plante traitée par rapport à une plante témoin. De plus, les phases de salivation étant similaires, il semble que *S. avenae* ne sécrète pas plus de salive aqueuse pour compenser l'occlusion du phloème. Les auteurs en ont alors déduit qu'un traitement avec une solution de BABA n'entraîne ni la formation de barrière physique ni la production de composés chimiques répulsifs et n'a pas d'effet anti-appétant sur le puceron. La réduction de la population du puceron ou du poids des individus ne serait donc pas due à une limitation ou à un manque de nutriments (Cao *et al.*, 2014b).



Les analyses faites sur *D. plantaginea* révèlent également que les phases du comportement alimentaire sont similaires avec ou sans traitement au BABA. L'une des hypothèses expliquant l'action du BABA sur les pucerons serait que ce produit a une toxicité directe sur l'insecte par ingestion. Ainsi, Cao et al. (2014b) ont mis en évidence ce type de toxicité sur *S. avenae* en déposant l'insecte sur un milieu artificiel contenant une solution de BABA. Cependant, avec des pratiques similaires, Hodge et al. (2005) ont montré que le BABA n'a pas d'effet direct sur *A. pisum*. Nous pouvons donc nous demander si l'efficacité du BABA sur pommier est uniquement due à un phénomène d'induction et de potentialisation des défenses de la plante ou si la toxicité par ingestion du produit peut jouer un rôle dans la régulation des populations de pucerons. Cela expliquerait que ce SDP ait un impact sur la population de *D. plantaginea* et non pas sur son alimentation.

#### 4.3- Comparaison des deux SDP : Le Bion® 50WG et le BABA

Les différences observées dans le comportement alimentaire du puceron cendré du pommier, entre des plantes traitées au Bion® 50WG et des plantes traitées au BABA, vis-à-vis de leurs témoins respectifs, mettent en évidence que ces deux SDP ont des modes d'action différents et n'activent pas les mêmes défenses au sein de la plante. Lors d'une interaction plante-puceron, le puceron perce l'épiderme de la plante, qu'elle soit hôte ou non, afin d'obtenir des informations permettant le rejet ou l'acceptation de la plante (Giordanengo et al., 2010). Les signaux à la surface de la plante, tels que les composés volatiles, ne semblent pas intervenir dans le choix de la plante par le puceron. Les pucerons sondent les cellules épidermiques, même en présence de signaux répulsifs, et évaluent la chimie interne des cellules (Tjallingii & Esch, 1993). Ils percent la membrane cellulaire et prélèvent une petite quantité de cytosol contenant une vaste gamme de métabolites permettant de sélectionner l'hôte (Powell et al., 2006). Cela pourrait impliquer que le BABA n'induit pas de réponse de défense au niveau des cellules épidermiques par opposition au Bion.

Les mécanismes sous-jacents de ces SPD sont encore inconnus. Cependant des études ont permis de déterminer les molécules impliquées dans l'induction de la résistance aux ravageurs par ces deux SDP. Les résultats montrent que suite à un traitement au Bion® 50WG ou au BABA, les protéines étudiées sont présentes en plus grande quantité dans la plante quel que soit le traitement. Par exemple, sur le puceron du soja, *Aphis glycines*, Zhong et al. (2014) ont analysé les molécules impliquées dans la résistance induite par le BABA. Ils ont pu



notamment constater l'activation de polyphénol oxydase et de peroxydase, première enzyme de la voie des phenylpropanoïdes permettant la synthèse de composés phénoliques et indicatrices également de la réponse à un stress environnemental (Zhong *et al.*, 2014). De même, une étude sur l'impact du BTH (substance active du Bion® 50WG) sur différentes activités enzymatiques du pêcher en présence de l'agent pathogène, *Penicillium expansum*, montre que ce SDP augmente l'activité de la phénylalanine ammonialyases (Liu *et al.*, 2005). Nos différentes recherches ne nous permettent pas de situer les différences d'action entre le Bion® 50WG et le BABA mais le Bion® 50WG est un analogue de l'acide salicylique. Cette hormone joue un rôle de signal dans la résistance acquise est connu pour induire de nombreux gènes de défense chez le pommier, y compris des gènes de peroxydases et de polyphénoloxidasés (Dugé de Bernonville *et al.*, 2014). Lors d'expérimentations sur le puceron des céréales *S. avenae*, Cao et ses collaborateurs (2014) ont quantifié la présence de polyphenol oxydases et de peroxydases sur le blé traité, soit avec de l'acide salicylique, soit avec un dérivé de l'acide jasmonique. Leurs résultats montrent que ces deux enzymes ont une activité plus importante en présence du dérivé de l'acide jasmonique que dans les plantes témoins ou les plantes traitées à l'acide salicylique (Cao *et al.*, 2014a). Le BABA semble notamment être impliqué dans la voie de signalisation de l'acide jasmonique (Benhamou, 2009) et ainsi entraîner une résistance systémique acquise. De plus, Chaman *et al.* (2003) ont mis en place des expérimentations permettant d'observer la présence d'acide salicylique dans des cultivars d'orge sensibles et résistants lors d'une infestation avec *Schizaphis graminum*. Sur ces cultivars, les auteurs ont également étudié l'activité de la phénylalanine ammonialyase et ont montré que cette activité augmente avec le degré d'infestation de la plante (Chaman *et al.*, 2003). Une autre étude montre l'augmentation de l'activité de cette enzyme et de la quantité de composés phénoliques induites par une infestation de pucerons sur blé (Leszczyński, 1985). Les deux SDP testés semblent donc augmenter l'activité de ces enzymes qui pourraient jouer un rôle lors d'une attaque.

#### 4.4- Effet de l'utilisation des semis sur le développement de la population de *Dysaphis plantagiens*

La plupart des études sur les SDP sont majoritairement réalisées sur des plantes cultivées herbacées (soja, tomate, blé). Cependant, le stade phénologique ou de développement de la plante est très rarement un facteur pris en compte. Les expérimentations menées dans cette étude et visant à cribler des SDP sur pommier pour leur effet vis-à-vis de *D. plantagiens* ont également permis de remettre en question l'utilisation de semis. En effet, plus de la moitié des



femelles avaient quitté les semis durant ce test. Les expériences qui ont suivi ont permis de déterminer que le départ des femelles semble lié aux semis eux même. Le départ des femelles n'est en effet pas dû aux conditions environnementales, puisque le taux de départ est similaire entre serre et pièce climatique, l'enfermement des femelles sur les semis ne résout pas la question sur la terre et ne semblent pas s'alimenter. Suite à ces observations, plusieurs hypothèses peuvent être proposées. Tout d'abord, nous pouvons nous poser des questions sur l'impact du stade phénologique vis-à-vis de l'acceptation de la plante par le puceron. Cela peut être lié à juvénilité des semis qui contraste avec les arbres prospectés par cette espèce. En effet, les défenses de la plante et la présence des insectes phytophages peuvent être impactées par le stade phénologique de la plante. Il a été démontré que la disponibilité des ressources et la croissance peuvent être des facteurs influençant la présence des insectes et l'activation des défenses (Stamp, 2003). Sur le peuplier, *Populus angustifolia*, Kearsley et Whitham (1989) ont testé le développement du puceron de la betterave à sucre, *Pemphigus betae*, sur des peupliers d'âges différents. Ils ont pu montrer que *P. betae* est 70 fois plus fréquent sur les arbres matures que sur les jeunes arbres et que le taux de survie est 50% plus élevé sur les arbres matures. Kearsley et Whitham ont supposé que l'âge de la plante hôte joue un rôle dans le choix de ce dernier. Ils en concluent également que les changements dans la résistance et dans la sensibilité de l'hôte au cours de son développement peuvent déterminer la répartition des insectes et que les traits de résistance peuvent rapidement changer avec l'âge de l'hôte (Kearsley & Whitham, 1989). Nous avons pu observer cette distinction entre un pommier considéré comme jeune et un autre considéré comme âgé lors de l'analyse du comportement alimentaire du puceron via un dispositif EPG comparant plantes greffées et semis, en l'absence de traitement. Lors de cette expérience, les pucerons déposés sur les semis font moins de piqûres de salivation et d'alimentation que ceux déposés sur plantes greffées. Cela pourrait donc être dû à la composition du phloème qui diffère suivant le stade étudié.

Cependant, un des critères observables d'acceptation de la plante par les pucerons est le dépôt de larves sur les feuilles et/ou le comportement d'alimentation (Powell *et al.*, 2006). Des larves ont pu être observées et dénombrées lors de nos expériences. De plus, malgré un faible nombre de piqûres d'alimentation, les pucerons se nourrissaient sur les semis lors des analyses EPG. Le départ des femelles ne semble donc pas dû à un rejet complet de la plante.

Une autre hypothèse serait l'effet de la mémoire intergénérationnelle sur les semis. En effet, les pépins utilisés lors de nos expériences ont pour origine un verger traité avec des SDP



(notamment le Bion® 50WG). Une étude portant sur ce phénomène vis-à-vis d'un pathogène sur l'orge, *Rhynchosporium secalis*, a montré que lorsque les parents ont reçu un traitement au Bion® 50WG, les descendants sont plus résistants à cet agent pathogène (Walters & Paterson, 2012). Il serait alors possible que les semis soient plus résistants à une infestation de *D. plantaginea* puisqu'ils représentent la seconde génération. Il serait alors intéressant de comparer le développement de la population ainsi que le comportement alimentaire de *D. plantaginea* sur des semis de même variété mais issus pour les uns d'un verger traité au SDP et, pour les autres, de vergers conventionnels et/ou biologiques, sans ajout de traitement.

Enfin, une dernière hypothèse qui n'exclue pas les précédentes, serait qu'il y a parmi les semis des individus résistants vis-à-vis du puceron. En effet, ces semis représentent une population issue du croisement de Golden Delicious avec un parent inconnu (pollinisation libre). De plus, le pommier est fortement hétérozygote. Auto-incompatibilité et hétérozygotie entraîne un brassage génétique très important à chaque génération et une grande variabilité d'inter-individus.

#### 4.5- Mise en place d'un protocole de criblage de SDP

La mise en place d'un protocole de criblage de stimulateurs de défense des plantes vis-à-vis du puceron cendré nécessite plusieurs expérimentations afin de définir les différents paramètres du protocole. Lors de nos expérimentations, nous avons tout d'abord testé la fréquence et le mode d'application du Bion® 50WG. En raison de la forte variabilité, les résultats obtenus ne sont pas satisfaisants et nécessitent de renouveler l'expérience. Cependant nous pouvons constater que le mode d'application du produit semble influencer la réduction de la population de pucerons. Nous avons observé que le Bion® 50WG appliqué par arrosage semble permettre une réduction plus importante du nombre de pucerons que lorsqu'il est pulvérisé. Dans de nombreuses études le Bion® 50WG (ou de sa molécule active) est appliqué par pulvérisation (Moran & Thompson, 2001; Hassan & Buchenauer, 2007; Civolani *et al.*, 2010; Skłodowska *et al.*, 2010; Quaglia *et al.*, 2011; von Mérey *et al.*, 2012; Dugé de Bernonville *et al.*, 2014; Sobhy *et al.*, 2015). Cependant, certains chercheurs appliquent ce SDP par arrosage (Anfoka, 2000; Radhakrishnan *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2012; Romanazzi *et al.*, 2013). Une étude notamment menée par Hodge et Powell en 2011 met en évidence l'importance du choix du mode d'application lors d'un traitement SDP. Cette étude porte sur les traitements au BABA et montre que l'application de ce SDP par arrosage entraîne une plus forte réduction



de la taille de la population de pucerons (Hodge & Powell, 2011). Cao et ses collaborateurs (2014b) ont également testé différents modes d'application du BABA, par arrosage des racines, par pulvérisation des feuilles et par traitement des semences de blé. Ils n'observent pas d'effet du BABA sur le poids du puceron *S. avenae*, lorsqu'il est appliqué par pulvérisation ou en traitement des semences et émettent l'hypothèse que l'arrosage des racines permet d'obtenir une concentration suffisante de BABA dans le phloème, contrairement à la pulvérisation et au traitement des semences qui conduisent à une concentration plus faible dans la sève élaborée. Ceci expliquerait les différences observées sur les performances du puceron avec ces trois modes d'application (Cao *et al.*, 2014b).

## V- CONCLUSION

Lors de la mise en place d'un protocole de criblage des SPD, le choix du SDP de référence est important puisque qu'il peut agir différemment sur le puceron. En effet, le BABA n'entraîne pas de modification de comportement alimentaire particulière alors que le Bion diminue le nombre et la durée totale des piqûres de salivation, d'alimentation et dans le xylème. L'utilisation des deux SDP pour l'étude du développement de la population de pucerons permettrait de prendre en compte ces différences lors de la mise en place du protocole de criblage de SDP ou tout du moins de s'assurer que leurs effets sur le comportement alimentaire n'entraînent pas de nouvelles différences dans le développement de la population. La toxicité par ingestion de ces SDP doit également être étudiée en mettant en place une expérimentation visant à déterminer cette toxicité avec le BABA et le Bion® 50WG par rapport à des plantes témoins. Les modulations des voies de défense, connues chez le pommier pour le Bion, devrait être complétées par des études avec le BABA. L'ensemble de ces études seraient nécessaires pour établir un protocole de criblage à d'autres SDP.

Les résultats obtenus permettent de mettre en question le choix du semis de pommier pour faire des tests de développement de population de pucerons. En effet, un fort taux de départ des femelles a été observé et de plus amples études sont nécessaires afin de déterminer les facteurs impactant l'acceptation de l'hôte par le puceron. Des expérimentations portant sur la prospection des pucerons sur les semis par rapport à des pommiers plus âgés permettraient de déterminer si la taille ou l'âge doit être prise en considération. Si cela est le cas, il sera nécessaire de maintenir l'utilisation des plantes greffées pour le de criblage des SDP ou utiliser éventuellement des semis de plus grande taille. Il est également important de déterminer si la



maturité physiologique du semis est un paramètre pouvant jouer un rôle dans l'acceptation de la plante. Pour cela, une lignification des semis peut être mise en place (par un stress froid ou un stress mécanique) afin de déterminer si cela permet un développement de la population plus important que sur des semis non lignifiés. De même que précédemment, si les semis non lignifiés influencent négativement le développement de la population de pucerons, il sera nécessaire d'utiliser des plantes greffées, des semis de plus grande taille et plus âgés ou forcer la lignification de semis plus jeunes. Enfin, une étude permettant de déterminer l'impact de la mémoire générationnelle sur l'activation des défenses des semis doit être menée afin de déterminer si la provenance des semis joue un rôle sur la résistance constitutive du pommier (départ des femelles). Si cela est effectivement le cas, il sera nécessaire de s'assurer que les semis ne proviennent pas de vergers ayant subi un traitement SDP mais plutôt de vergers conventionnels.

Afin de mettre en place le protocole de criblage de SDP, les modes d'applications doivent être approfondis afin de confirmer la meilleure efficacité d'un traitement par arrosage. De plus, d'autres modalités doivent être prises en compte comme le nombre d'applications nécessaires et la fréquence ou le moment d'application. Le choix du matériel végétal doit être sérieusement envisagé en prenant en compte l'acceptation de la plante par le puceron et la simplicité d'exécution de l'expérimentation. En lien avec cette dernière, la méthodologie de dénombrement doit être améliorée. Une des pistes envisageables serait d'étudier la conservation des pucerons par congélation ou dans l'alcool par exemple. Cependant, pour faciliter le dénombrement, il est nécessaire de s'assurer que les pucerons soient détachés des semis. En effet, les stylets restent la plupart du temps enfoncés dans les tissus du végétal même après la mort du puceron. Il pourrait être alors envisagé de leur appliquer un stress chaud afin qu'ils perdent leur coordination musculaire (Colinet & Renault, 2014).



## BIBLIOGRAPHIE

- Anfoka, G. H. (2000). Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester induces systemic resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum*. Mill cv. Vollendung) to Cucumber mosaic virus. *Crop Protection*, 19(6), pp 401–405.
- Anses (2014). *Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à une demande de transformation de l'autorisation de mise sur le marché provisoire (AMMp) en AMM décennale pour la préparation BION MX, à base de métalaxyl-M et d'acibenzolar-S-méthyl de la société SYNGENTA AGRO S.A.S. Maisons-Alfort: ANSES. (Anses - dossier n°2010-1463 - BION MX).*
- Arimura, G.-I., Ozawa, R. & Maffei, M. E. (2011). Recent Advances in Plant Early Signaling in Response to Herbivory. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(6), pp 3723–3739.
- Beckers, G. J. & Conrath, U. (2007). Priming for stress resistance: from the lab to the field. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(4), pp 425–431.
- Benhamou, N. (1996). Elicitor-induced plant defence pathways. *Trends in Plant Science*, 1(7), pp 233–240.
- Benhamou, N. (2009). *La résistance chez les plantes. Principes de la stratégie défensive et applications agronomiques* [online]. TEC & DOC. Paris: Lavoisier. Available from: <http://id.erudit.org/iderudit/0444021ar>. [Accessed 2015-06-12].
- Bleecker, A. B. & Kende, H. (2000). ETHYLENE: A Gaseous Signal Molecule in Plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16(1), pp 1–18.
- Blommers, L. H. M., Helsen, H. H. M. & Vaal, F. W. N. M. (2004). Life history data of the rosy apple aphid *Dysaphis plantaginea* (Pass.) (Homopt., Aphididae) on plantain and as migrant to apple. *Journal of Pest Science*, 77(3), pp 155–163.
- Cao, H.-H., Wang, S.-H. & Liu, T.-X. (2014a). Jasmonate- and salicylate-induced defenses in wheat affect host preference and probing behavior but not performance of the grain aphid, *Sitobion avenae*: Jasmonate- and salicylate-induced wheat resistance to grain aphid. *Insect Science*, 21(1), pp 47–55.
- Cao, H.-H., Zhang, M., Zhao, H., Zhang, Y., Wang, X.-X., Guo, S.-S., Zhang, Z.-F. & Liu, T.-X. (2014b). Deciphering the Mechanism of  $\beta$ -Aminobutyric Acid-Induced Resistance in Wheat to the Grain Aphid, *Sitobion avenae*. (Wang, X.-W., Ed) *PLoS ONE*, 9(3), p e91768.
- Chaman, M. E., Copaja, S. V. & Argandoña, V. H. (2003). Relationships between Salicylic Acid Content, Phenylalanine Ammonia-lyase (PAL) Activity, and Resistance of Barley to Aphid Infestation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(8), pp 2227–2231.
- Cherqui, A. & Tjallingii, W. F. (2000). Salivary proteins of aphids, a pilot study on identification, separation and immunolocalisation. *Journal of Insect Physiology*, 46(8), pp 1177–1186.
- Civolani, S., Marchetti, E., Chicca, M., Castaldelli, G., Rossi, R., Pasqualini, E., Dindo, M. L., Baronio, P., Leis, M. & others (2010). Probing behaviour of *Myzus persicae* on tomato plants containing Mi gene or BTH-treated evaluated by electrical penetration graph. *Bulletin of Insectology*, 63(2), pp 265–271.
- Cohen, Y. R. (2002).  $\beta$ -Aminobutyric Acid-Induced Resistance Against Plant Pathogens. *Plant Disease*, 86(5), pp 448–457.



- Colinet, H. & Renault, D. (2014). Dietary live yeast alters metabolic profiles, protein biosynthesis and thermal stress tolerance of *Drosophila melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 170, pp 6–14.
- Dangl, J. L. & Jones, J. D. G. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, 411(6839), pp 826–833.
- Davidson, R. H. & Lyon, W. F. (1979). *Insect pests of farm, garden and orchard*.
- Dedryver, C. A. (1981). Qu'est-ce qu'un puceron? *Les pucerons des cultures : Journée d'études et d'informations*. ACTA., pp 9–20. Paris.
- Després, C., Chubak, C., Rochon, A., Clark, R., Bethune, T., Desveaux, D. & Fobert, P. R. (2003). The Arabidopsis NPR1 Disease Resistance Protein Is a Novel Cofactor That Confers Redox Regulation of DNA Binding Activity to the Basic Domain/Leucine Zipper Transcription Factor TGA1. *The Plant Cell*, 15(9), pp 2181–2191.
- Divol, F., Vilaine, F., Thibivilliers, S., Amselem, J., Palauqui, J.-C., Kusiak, C. & Dinant, S. (2005). Systemic response to aphid infestation by *Myzus persicae* in the phloem of *Apium graveolens*. *Plant Molecular Biology*, 57(4), pp 517–540.
- Dugé de Bernonville, T., Marolleau, B., Staub, J., Gaucher, M. & Brisset, M.-N. (2014). Using Molecular Tools To Decipher the Complex World of Plant Resistance Inducers: An Apple Case Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(47), pp 11403–11411.
- Emden, H. F. V. & Harrington, R. (2007). *Aphids as Crop Pests*. CABI. ISBN 9781845932022.
- Faessel, L., Gomy, C., Nassr, N., Tostivint, C., Hipper, C. & Dechanteloup, A. (2014). *Produits de stimulation en agriculture visant à améliorer les fonctionnalités biologiques des sols et des plantes - Etude des connaissances disponibles et recommandations stratégiques* [online].
- Flor, H. H. (1971). Current Status of the Gene-For-Gene Concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9(1), pp 275–296.
- Le Foll, S. (2015). Communiqué de presse : Utilisation des pesticides en agriculture : Stéphane LE FOLL trace des perspectives d'avenir. Available from: [http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/150107\\_Ecophyto\\_cle0e21ec.pdf](http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/150107_Ecophyto_cle0e21ec.pdf).
- Garcia-Brugger, A., Lamotte, O., Vandelle, E., Bourque, S., Lecourieux, D., Poinssot, B., Wendehenne, D. & Pugin, A. (2006). Early Signaling Events Induced by Elicitors of Plant Defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(7), pp 711–724.
- Giordanengo, P., Brunissen, L., Rusterucci, C., Vincent, C., van Bel, A., Dinant, S., Grousse, C., Faucher, M. & Bonnemain, J.-L. (2010). Compatible plant-aphid interactions: How aphids manipulate plant responses. *Comptes Rendus Biologies*, 333(6–7), pp 516–523 (Les pucerons : modèles biologiques et ravageurs des cultures).
- Goggin, F. L. (2007). Plant–aphid interactions: molecular and ecological perspectives. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(4), pp 399–408 (Special Issue on Biotic Interactions Edited by Jane Glazebrook and Jurriaan Ton).
- Guo, H. & Ecker, J. R. (2004). The ethylene signaling pathway: new insights. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(1), pp 40–49.
- Hassan, M. A. E. & Buchenauer, H. (2007). Induction of resistance to fire blight in apple by acibenzolar-S-methyl and DL-3-aminobutyric acid. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 114(4), pp 151–158.
- Hodge, S., Pope, T. W., Holaschke, M. & Powell, G. (2006). The effect of beta-aminobutyric acid on the growth of herbivorous insects feeding on Brassicaceae. *Annals of Applied Biology*, 148(3), pp 223–229.



- Hodge, S. & Powell, G. (2011). Factors influencing the inhibition of aphids by  $\beta$ -aminobutyric acid. *Bulletin IOBC/WPRS*.
- Hodge, S., Thompson, G. a. & Powell, G. (2005). Application of DL- $\beta$ -aminobutyric acid (BABA) as a root drench to legumes inhibits the growth and reproduction of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*, 95(05), pp 449–455.
- Hodge, S., Ward, J. L., Galster, A. M., Beale, M. H. & Powell, G. (2011). The effects of a plant defence priming compound,  $\beta$ -aminobutyric acid, on multitrophic interactions with an insect herbivore and a hymenopterous parasitoid. *BioControl*, 56(5), pp 699–711.
- Huang, H. C., Harper, A. M., Kokko, E. G. & Howard, R. J. (1983). Aphid transmission of *Verticillium albo-atrum* to alfalfa. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 5(3), pp 141–147.
- Hullé, M., Turpeau, E. & Leclant, F. (1998). *Les pucerons des arbres fruitiers: cycles biologiques et activités de vol*. Editions Quae. ISBN 9782738007896.
- Hu, X., Wansha, L., Chen, Q. & Yang, Y. (2009). Early signals transduction linking the synthesis of jasmonic acid in plant. *Plant Signaling & Behavior*, 4(8), pp 696–697.
- Justyna, P.-G. & Ewa, K. (2013). Induction of resistance against pathogens by  $\beta$ -aminobutyric acid. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(6), pp 1735–1748.
- Kearsley, M. J. C. & Whitham, T. G. (1989). Developmental Changes in Resistance to Herbivory: Implications for Individuals and Populations. *Ecology*, 70(2), pp 422–434.
- Kim, S., Cho, K., Kim, S., Kang, S. & Kang, K. (2003). A rice isoflavone reductase-like gene, OsIRL, is induced by rice blast fungal elicitor. *Molecules and cells*, 16(2), pp 224–231.
- Knoblauch, M. & van Bel, A. J. E. van (1998). Sieve Tubes in Action. *The Plant Cell*, 10(1), pp 35–50.
- Leclant, F. (1981). Les effets nuisibles des pucerons des cultures les cultures. *Pucerons des cultures : journées d'études et d'informations*. ACTA., pp 37–55. Paris.
- Lee, B., Lee, S. & Ryu, C.-M. (2012). Foliar aphid feeding recruits rhizosphere bacteria and primes plant immunity against pathogenic and non-pathogenic bacteria in pepper. *Annals of Botany*, 110(2), pp 281–290.
- Le Foll, S. (2015). Utilisation des pesticides en agriculture : Stéphane LE FOLL trace des perspectives d'avenir. [on line] <http://agriculture.gouv.fr/utilisation-des-pesticides-en-agriculture-stephane-le-foll-trace-des-perspectives-davenir>
- Leineweber, K., Schulz, A. & Thompson, G. A. (2000). Dynamic transitions in the translocated phloem filament protein. *Functional Plant Biology*, 27(9), pp 733–741.
- Leszczyński, B. (1985). Changes in phenols content and metabolism in leaves of susceptible and resistant winter wheat cultivars infested by *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hom., Aphididae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 100(1-5), pp 343–348.
- Liu, H., Jiang, W., Bi, Y. & Luo, Y. (2005). Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. *Postharvest Biology and Technology*, 35(3), pp 263–269.
- Maffei, M. E., Mithöfer, A. & Boland, W. (2007). Before gene expression: early events in plant–insect interaction. *Trends in Plant Science*, 12(7), pp 310–316.
- Maleck, K., Levine, A., Eulgem, T., Morgan, A., Schmid, J., Lawton, K. A., Dangl, J. L. & Dietrich, R. A. (2000). The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. *Nature Genetics*, 26(4), pp 403–410.



- Marchetti, E., Civolani, S., Leis, M., Chicca, M., Tjallingii, W. F., Pasqualini, E. & Baronio, P. (2009). Tissue location of resistance in apple to the rosy apple aphid established by electrical penetration graphs. *Bulletin of Insectology*, 62(2), pp 203–208.
- Von Mérey, G. E., Veyrat, N., Lange, E. de, Degen, T., Mahuku, G., Valdez, R. L., Turlings, T. C. J. & D'Alessandro, M. (2012). Minor effects of two elicitors of insect and pathogen resistance on volatile emissions and parasitism of Spodoptera frugiperda in Mexican maize fields. *Biological Control*, 60(1), pp 7–15.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche (2008). *Plan écophyto 2018* [online]. [http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/PLAN\\_ECOPHYTO\\_2018-2-2-2\\_cle8935ee.pdf](http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/PLAN_ECOPHYTO_2018-2-2-2_cle8935ee.pdf)
- Moran, P. J. & Thompson, G. A. (2001). Molecular Responses to Aphid Feeding in Arabidopsis in Relation to Plant Defense Pathways. *Plant Physiology*, 125(2), pp 1074–1085.
- Penninckx, I. A. M. A., Thomma, B. P. H. J., Buchala, A., Métraux, J.-P. & Broekaert, W. F. (1998). Concomitant Activation of Jasmonate and Ethylene Response Pathways Is Required for Induction of a Plant Defensin Gene in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 10(12), pp 2103–2113.
- Powell, G., Tosh, C. R. & Hardie, J. (2006). HOST PLANT SELECTION BY APHIDS: Behavioral, Evolutionary, and Applied Perspectives. *Annual Review of Entomology*, 51(1), pp 309–330.
- Prado, E. & Tjallingii, W. F. (2007). Behavioral evidence for local reduction of aphid-induced resistance. *Journal of Insect Science*, 7(1), p 48.
- Quaglia, M., Ederli, L., Pasqualini, S. & Zizzerini, A. (2011). Biological control agents and chemical inducers of resistance for postharvest control of *Penicillium expansum* Link. on apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 59(3), pp 307–315.
- Qubbaj, T., Reineke, A. & Zebitz, C. P. W. (2005). Molecular interactions between rosy apple aphids, *Dysaphis plantaginea*, and resistant and susceptible cultivars of its primary host *Malus domestica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 115(1), pp 145–152.
- Radhakrishnan, N., Alphonse, A. J. & Balasubramanian, R. (2011). Effect of Acibenzolar-S-methyl (ASM) pre-treatment in inducing resistance against *Pythium aphanidermatum* infection in *Curcuma longa*. *Crop Protection*, 30(1), pp 24–32.
- Robert, P., Ferréol, B., Aligon, S. & Brisset, M.-N. (unpublished). DL-β-Aminobutyric acid application negatively affects reproduction and larval development of the rosy aphid *Dysaphis plantaginea* on apple. *Journal of Entomology*,.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., Santini, M. & Landi, L. (2013). Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 75, pp 24–27.
- Sauge, M.-H., Lacroze, J.-P., Poëssel, J.-L., Pascal, T. & Kervella, J. (2002). Induced resistance by *Myzus persicae* in the peach cultivar 'Rubira'. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102(1), pp 29–37.
- Showalter, A. M., Bell, J. N., Cramer, C. L., Bailey, J. A., Varner, J. E. & Lamb, C. J. (1985). Accumulation of hydroxyproline-rich glycoprotein mRNAs in response to fungal elicitor and infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(19), pp 6551–6555.
- Skłodowska, M., Gajewska, E., Kuźniak, E., Mikiciński, A. & Sobiczewski, P. (2010). BTH-mediated antioxidant system responses in apple leaf tissues. *Scientia Horticulturae*, 125(1), pp 34–40.
- Sobhy, I. S., Erb, M. & Turlings, T. C. (2015). Plant strengtheners enhance parasitoid attraction to herbivore-damaged cotton via qualitative and quantitative changes in induced volatiles. *Pest Management Science*, 71(5), pp 686–693.



- Spiller, N. j., Koenders, L. & Tjallingii, W. f. (1990). Xylem ingestion by aphids – a strategy for maintaining water balance. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 55(2), pp 101–104.
- Stamp, N. (2003). Out of the Quagmire of Plant Defense Hypotheses. *The Quarterly Review of Biology*, 78(1), pp 23–55.
- Sticher, L., Mauch-Mani, B. & Métraux, J. P. (1997). Systemic acquired resistance. *Annual review of phytopathology*, 35(1), pp 235–270.
- Stuart, J. (2015). Insect effectors and gene-for-gene interactions with host plants. *Current Opinion in Insect Science*, (9), pp 1–6.
- Thomma, B. P., Penninckx, I. A., Cammue, B. P. & Broekaert, W. F. (2001). The complexity of disease signaling in Arabidopsis. *Current Opinion in Immunology*, 13(1), pp 63–68.
- Thompson, G. A. & Goggin, F. L. (2006). Transcriptomics and functional genomics of plant defence induction by phloem-feeding insects. *Journal of Experimental Botany*, 57(4), pp 755–766.
- Tjallingii, W. F. (1985). Electrical nature of recorded signals during stylet penetration by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 38(2), pp 177–186.
- Tjallingii, W. F. (2006). Salivary secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses. *Journal of Experimental Botany*, 57(4), pp 739–745.
- Tjallingii, W. F. & Esch, T. H. (1993). Fine structure of aphid stylet routes in plant tissues in correlation with EPG signals. *Physiological Entomology*, 18(3), pp 317–328.
- Vandenabeele, S., Kelen, K. V. D., Dat, J., Gadjev, I., Boonefaes, T., Morsa, S., Rottiers, P., Slooten, L., Montagu, M. V., Zabeau, M., Inzé, D. & Breusegem, F. V. (2003). A comprehensive analysis of hydrogen peroxide-induced gene expression in tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26), pp 16113–16118.
- Walters, D. R. & Paterson, L. (2012). Parents lend a helping hand to their offspring in plant defence. *Biology Letters*, 8(5), pp 871–873.
- Walters, D. R., Ratsep, J. & Havis, N. D. (2013). Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. *Journal of Experimental Botany*, 64(5), pp 1263–1280.
- Will, T. & van Bel, A. J. E. (2006). Physical and chemical interactions between aphids and plants. *Journal of Experimental Botany*, 57(4), pp 729–737.
- Will, T. & van Bel, A. J. E. (2008). Induction as well as suppression: How aphid saliva may exert opposite effects on plant defense. *Plant Signaling & Behavior*, 3(6), pp 427–430.
- Will, T., Tjallingii, W. F., Thönnessen, A. & van Bel, A. J. E. (2007). Molecular sabotage of plant defense by aphid saliva. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(25), pp 10536–10541.
- Will, T. & Vilcinskas, A. (2015). The structural sheath protein of aphids is required for phloem feeding. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 57, pp 34–40.
- Yang, H., Yang, S., Li, Y. & Hua, J. (2007). The Arabidopsis BAP1 and BAP2 Genes Are General Inhibitors of Programmed Cell Death. *Plant Physiology*, 145(1), pp 135–146.
- Zhao, J., Davis, L. C. & Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23(4), pp 283–333.
- Zhong, Y., Wang, B., Yan, J., Cheng, L., Yao, L., Xiao, L. & Wu, T. (2014). DL- $\beta$ -Aminobutyric Acid-Induced Resistance in Soybean against *Aphis glycines* Matsumura (Hemiptera: Aphididae). *Plos one*, 9(1), pp 1–11.
- Zhu-Salzman, K., Salzman, R. A., Ahn, J.-E. & Koiwa, H. (2004). Transcriptional Regulation of Sorghum Defense Determinants against a Phloem-Feeding Aphid. *Plant Physiology*, 134(1), pp 420–431.



## ANNEXES



Annexe I : Détail des expérimentations sur le développement de la population de *Dysaphis plantaginea* menées dans le cadre du protocole de criblage de SDP

Expériences	Modalités (nombre d'individus par modalité)	Âges pommiers Hauteur/nombre de feuilles	Traitement (Application à jours avant infestation)	Pucerons issus de l'élevage synchrone (âge)	Plan d'expérimentation	Dénombrement et Statistiques (logiciel R)
<i>Test de différents modes d'application au Bion® 50WG</i>	Applications par arrosage sur 15 jours (25) Application par pulvérisation sur 15 jours (25) Application par arrosage sur 3 jours (25) Application par pulvérisation sur 3 jours (25) Témoin (25)	Semis âgés de 3 semaines 5 cm / 4 feuilles	30ml de Bion 0,4 g/L à deux fréquences (J-15, J-8, J-1 et J-3, J-2, J-1)	Femelles <i>D. plantaginea</i> (10 jours)	Split plot	Notation du nombre d'individus à J+14 (observation de la présence de femelles, de nécrose et de blocage de croissance)  Test de la loi Normale (Shapiro) Test d'égalité des variances (Bartlett) Test d'égalité des populations (Kruskal-Wallis)
	Expérience localisée en serre (50) Expérience localisée en pièce climatisée (50)	Semis âgés de 3,5 semaines 6 cm / 5 feuilles	Pas de traitement (pas d'application)	Femelles <i>D. plantaginea</i> (13 jours)	Aucun	Notation de la présence de femelles et de larves à J+7  Test du Chi <sup>2</sup>
<i>Effet de l'enfermement des femelles dans un sachet en tulle sur semis</i>	Femelle enfermée sur semi (30) Femelle libre sur semi (30)	Semis âgés de 3 semaines 7 cm / 6 feuilles	Pas de traitement (pas d'application)	Femelles <i>D. plantaginea</i> (13 jours)	Alternance	Notation du nombre d'individus et de la présence des femelles à J+7 (observation de nécrose et de blocage de croissance)  Test de la loi Normale (Shapiro) Test d'égalité des variances (Bartlett) Test d'égalité des populations (Kruskal-Wallis) Test de Chi <sup>2</sup>

MISE EN PLACE D' UN PROTOCOLE DE CRIBLAGE



Annexe II : Détail des expérimentations sur le comportement alimentaire de *Dysaphis plantaginea* via un dispositif d'électropénéthrographie (EPG).

Expériences	Modalités (nombre d'individus par modalité)	Âges pommiers Hauteur/nombre de feuilles	Traitement (Application à jours avant infestation)	Pucerons issus de l'élevage synchrone (âge)	Plan d'expérimentation	Statistiques (logiciel R)
<b>EPG BABA</b>	Traitement BABA (25) Témoin (26)	Plantes greffées 15-30 cm / 12-14 feuilles	100 ml de BABA à 1 g/L (J-4)	Femelles <i>D.</i> <i>plantaginea</i> (13-19 jours)	Aléatoire	Test de la loi Normale (Shapiro) Test d'égalité des variances (Bartlett) Test d'égalité des populations (Kruskal-Wallis)
<b>EPG Bion</b>	Traitement Bion (34) Témoin (29)	Plantes greffées 30-45 cm / 15-20 feuilles	30 ml de Bion à 0,4 g/L (J-7, J-3, J-1)	Femelles <i>D.</i> <i>plantaginea</i> (13-17 jours)	Aléatoire	Test de la loi Normale (Shapiro) Test d'égalité des variances (Bartlett) Test d'égalité des populations (Kruskal-Wallis)
<b>EPG Plantes greffées vs semis</b>	Plantes greffées (25) Semis (28)	Plantes greffées 15-30 cm / 12-21 feuilles Semis 15-30 cm / 11-24 feuilles	Pas de traitement (Pas d'application)	Femelles <i>D.</i> <i>plantaginea</i> (13-17 jours)	Aléatoire	Test de la loi Normale (Shapiro) Test d'égalité des variances (Bartlett) Test d'égalité des populations (Kruskal-Wallis)



Annexe III : Détail des résultats du dénombrement et statistiques associées sur l'étude du développement de *Dysaphis plantaginea*

Expérience	Modalités	Moyennes (nombre d'individus)	Ecart-types	p-value De Kruskal-Wallis	df
<i>Test de différents fréquences et modes d'application au Bion® 50WG</i>	15 jours arrosage	34	53,3	$P_{\text{application}} = 0.577$ $P_{\text{fréquence}} = 0.3175$	2
	15 jours pulvérisation	67	98,9		1
	3 jours arrosage	29	36,6		
	3 jours pulvérisation	51	80,4		
	Témoins	102	159,9		
<i>Effet de l'enfermement dans un sachet en tulle sur la taille de la population</i>	Femelles ensachées	35	17,3	$P_{\text{isolation}} = 0.06449$	1
	Femelles non-ensachées	26	18,8		1

Expérience	Modalités	Sommes	p-value du Chi <sup>2</sup>	df
<i>Test des conditions en serre et en pièce climatisée sur le comportement des femelles sur semis</i>	Localisé en serre	26 femelles	$P_{\text{femelles}} = 0.5482$ $P_{\text{larves}} = 0.552$	108
	Localisé en pièce climatique	42 larves		
<i>Effet de l'enfermement dans un sachet en tulle sur la taille de la population</i>	Femelles ensachées	22 femelles	$P_{\text{femelles}} = 0.5601$	1
	Femelles non-ensachées	45 larves		
		22 femelles 17 femelles		



Annexe IV : Détail des résultats sur l'étude du comportement alimentaire de *Dysaphis plantaginea* sur des plantes greffées traitées au BABA par rapport à des plantes greffées témoins via un dispositif d'électropénétrographie (EPG)

Modalités	Données	Moyennes	Ecart-types
Témoins	Nombre de np	22.6	9.2
	Nombre de C	29.6	10.3
	Nombre de E1	8.9	6.7
	Nombre de E2	3.9	3.4
	Nombre de F	0.6	1.2
	Nombre de G	0.1	0.3
	Durée totale np (sec)	8670.9	5798.4
	Durée totale C (sec)	14070.7	5573.6
	Durée totale E1(sec)	1173.3	885.4
	Durée totale E2 (sec)	1775.9	3928.1
	Durée totale F (sec)	1892.7	3663.9
	Durée totale G (sec)	584.4	1950.1
	Premier C (sec)	432.2	538.6
	Premier E1 (sec)	11410.3	8897.8
	Premier E2 (sec)	16221.8	10013.8
	BABA	Nombre de np	22.9
Nombre de C		29.5	11.2
Nombre de E1		8.2	4.8
Nombre de E2		3.3	3
Nombre de F		0.4	0.7
Nombre de G		0	0.2
Durée totale np (sec)		6352.3	3909.7
Durée totale C (sec)		12978	5890.8
Durée totale E1(sec)		1706.4	1816.4
Durée totale E2 (sec)		4621	7081.1
Durée totale F (sec)		2173.4	4452.2
Durée totale G (sec)		115.4	610.4
Premier C (sec)		511.8	665.4
Premier E1 (sec)		9926.9	7522.9
Premier E2 (sec)		16016.1	8367.1



Annexe V : Détail des résultats sur l'étude du comportement alimentaire de *Dysaphis plantaginea* sur des plantes greffées traitées au Bion® 50WG par rapport à des plantes greffées témoins via un dispositif d'électropénétrographie (EPG)

Modalités	Données	Moyennes	Ecart-types
Témoins	Nombre de np	14.6	7.9
	Nombre de C	23.9	8.8
	Nombre de E1	9.7	5.2
	Nombre de E2	6.1	4.5
	Nombre de F	0.6	0.7
	Nombre de G	0.5	0.8
	Durée totale np (sec)	5982.5	4723.9
	Durée totale C (sec)	12838.8	3994
	Durée totale E1(sec)	1310.1	1095
	Durée totale E2 (sec)	5493.7	5644.8
	Durée totale F (sec)	1944.3	2784.5
	Durée totale G (sec)	1212.4	1971.5
	Premier C (sec)	722.3	1159
	Premier E1 (sec)	8320.5	7072.7
	Premier E2 (sec)	12486.3	8701.4
Bion® 50WG	Nombre de np	15	6.8
	Nombre de C	19.7	7.1
	Nombre de E1	5.3	4
	Nombre de E2	1.1	1.6
	Nombre de F	0.9	1
	Nombre de G	0.1	0.2
	Durée totale np (sec)	8975.7	5746.5
	Durée totale C (sec)	13046.7	4327.4
	Durée totale E1(sec)	2121.7	2998.5
	Durée totale E2 (sec)	2013.6	3981.7
	Durée totale F (sec)	2494	3056.4
	Durée totale G (sec)	130.5	542.7
	Premier C (sec)	697.8	1800.4
	Premier E1 (sec)	13236.6	9433.3
	Premier E2 (sec)	24050.7	7329.3



Annexe VI : Détail des résultats sur l'étude du comportement alimentaire de *Dysaphis plantaginea* sur des plantes greffées traitées vis-à-vis de semis, non traités, via un dispositif d'électropénétrographie (EPG)

Modalités	Données	Moyennes	Ecart-types
Plantes greffées	Nombre de np	18.8	9.4
	Nombre de C	26.9	10.9
	Nombre de E1	9.4	4.6
	Nombre de E2	5	4.3
	Nombre de F	0.4	0.5
	Nombre de G	0.3	0.7
	Durée totale np (sec)	4986.2	2639.4
	Durée totale C (sec)	15375.6	5107.3
	Durée totale E1(sec)	1768.3	2437.2
	Durée totale E2 (sec)	4462	5219.4
	Durée totale F (sec)	1547.7	2423
	Durée totale G (sec)	642.5	1859.4
	Premier C (sec)	436.5	842.2
	Premier E1 (sec)	7811.8	6279.5
	Premier E2 (sec)	13612.7	9194.8
Semis	Nombre de np	17.1	8.7
	Nombre de C	22.1	9.7
	Nombre de E1	5.5	4.1
	Nombre de E2	2.2	2.6
	Nombre de F	0.5	0.8
	Nombre de G	0.4	1.1
	Durée totale np (sec)	5573.4	5333
	Durée totale C (sec)	14360.2	5941.7
	Durée totale E1(sec)	1305.6	1346.4
	Durée totale E2 (sec)	3907.5	5933.5
	Durée totale F (sec)	1713.1	2769.1
	Durée totale G (sec)	1922.2	5371.8
	Premier C (sec)	683.9	1687.7
	Premier E1 (sec)	12069	9990.5
	Premier E2 (sec)	17791	10378



Annexe VII : Détail des résultats statistiques associés aux résultats sur l'étude du comportement alimentaire de *Dysaphis plantaginea* via un dispositif d'électropénétrographie (EPG)

Expérience	Modalités	p-value de Kruskal-Wallis	df
BABA par rapport aux témoins	Nombre de np	0.8651	1
	Nombre de C	0.9399	1
	Nombre de E1	0.8205	1
	Nombre de E2	0.3559	1
	Nombre de F	0.7998	1
	Nombre de G	0.3216	1
	Durée totale np (sec)	0.2001	1
	Durée totale C (sec)	0.3758	1
	Durée totale E1(sec)	0.6783	1
	Durée totale E2 (sec)	0.2329	1
	Durée totale F (sec)	0.9004	1
	Durée totale G (sec)	0.3123	1
	Premier C (sec)	0.91	1
	Premier E1 (sec)	0.3861	1
	Premier E2 (sec)	0.8358	1
Bion® 50WG par rapport aux témoins	Nombre de np	0.5949	1
	Nombre de C	0.05948	1
	Nombre de E1	0.001057**	1
	Nombre de E2	5.732e-07***	1
	Nombre de F	0.4141	1
	Nombre de G	0.003449**	1
	Durée totale np (sec)	0.02934*	1
	Durée totale C (sec)	0.8903	1
	Durée totale E1(sec)	0.4196	1
	Durée totale E2 (sec)	1.429e-04***	1
	Durée totale F (sec)	0.5511	1
	Durée totale G (sec)	0.003523**	1
	Premier C (sec)	0.3344	1
	Premier E1 (sec)	0.0342*	1
	Premier E2 (sec)	1.894e-06***	1
Plantes greffées par rapport aux semis	Nombre de np	0.5864	1
	Nombre de C	0.1009	1
	Nombre de E1	0.004268**	1
	Nombre de E2	0.01121*	1
	Nombre de F	0.8853	1
	Nombre de G	0.6194	1
	Durée totale np (sec)	0.803	1
	Durée totale C (sec)	0.5329	1
	Durée totale E1(sec)	0.2769	1
	Durée totale E2 (sec)	0.3074	1
	Durée totale F (sec)	0.8401	1
	Durée totale G (sec)	0.5483	1
	Premier C (sec)	0.5807	1
	Premier E1 (sec)	0.2223	1
	Premier E2 (sec)	0.164	1

	Diplôme / Mention : Master 2 Sciences Technologie Santé Mention Biologie et Technologie du Végétal Spécialité : Production et Technologie du Végétal (ProTeV) Parcours : I Production Végétales Spécialisées Option : A Productions Phytosanitaires, Réglementation et Méthodes Alternatives
Auteur(s) : Philibert Marine Date de naissance : 06 Janvier 1988	Organisme d'accueil : INRA Centre Angers Nantes Adresse : 42 Rue Georges Morel 49070 Beaucouzé
Nb pages : 32                      Annexe(s) : 7	Maître de stage : Brisset Marie-Noëlle Robert Philippe
Année de soutenance : 2015	
Titre français : Effet des stimulateurs de défense des plantes sur le développement du puceron cendré du pommier <i>Dysaphis plantaginea</i> Titre anglais : Effect of plant resistance inducers on the development of the rosy apple aphid <i>Dysaphis plantaginea</i>	
Résumé : Il est nécessaire de trouver de nouvelles stratégies de gestion des bioagresseurs pour limiter l'usage de produits phytosanitaires. Parmi les stratégies à l'étude, l'une d'entre elles repose sur l'induction des défenses des plantes par l'application de stimulateurs de défense des plantes (SDP). L'objectif de cette étude était de mettre en place un protocole de criblage de SDP vis-à-vis de <i>Dysaphis plantaginea</i> , le puceron cendré du pommier, en utilisant deux SDP de référence, le Bion® 50WG et le BABA, ainsi qu'un dispositif d'électropénétrographie (EPG) pour étudier le comportement alimentaire des pucerons. Le support végétal est un des paramètres à prendre en compte dans la mise en place d'un tel protocole. Les résultats ont en effet montré que <i>D. plantaginea</i> accepte difficilement les semis qui semblent ne pas être le matériel végétal adéquat (variabilité génétique inter-individus, trop grande juvénilité, possible mémoire transgénérationnelle de traitements SDP la saison précédente). Les scions de pommiers greffés seraient donc plutôt à privilégier. Sur ce matériel, les analyses EPG ont permis d'observer des différences dans le comportement alimentaire sur des plantes traitées au Bion® 50WG. Les pucerons y ont notamment des phases d'alimentation et de salivation plus courtes et moins nombreuses que sur les plantes témoins ou traitées au BABA, qui donnent des profils similaires. Les modes d'action pourraient être à l'origine de cette différence, et doit être pris en compte lors de la mise en place du protocole de criblage.	
Abstract : It is necessary to develop new pest management strategies to reduce the use of pesticides. Amongst the strategies under study, one relies on the induction of plant defenses by the use of plant resistance inducers (PRIs). The objective of this study was to establish a methodology for the screening of PRIs in controlled conditions against <i>Dysaphis plantaginea</i> , the rosy apple aphid, with the use of two reference PRIs, Bion® 50WG and BABA, and the help of an electrical penetration graph (EPG) to study the dietary behaviour of the aphids. The plant support is one of the parameters to be taken into account in the establishment of such a protocol. The results showed that <i>D. plantaginea</i> hardly accepts the seedlings, which do not seem the optimal plant support (high genetic variability between individuals, too juvenile stage, possible generational memory effect due to SDP treatment the year before). Moreover, EPG analyses revealed differences in dietary behaviour on Bion® 50WG-treated plants, where aphids have shorter and less numerous salivation and feeding phases than on control, and BABA-treated plant, where they behave similarly. Modes of action could be the cause of this difference and must be taken into account this parameter during the development of a PRI screening protocol.	
Mots-clés : Electropénétrographie (EPG), Bion, BABA, criblage, plantes greffées, semis Key Words: electrical penetration graph (EPG), Bion, BABA, screening, grafted plants, seedlings	