

Etude du comportement de *Macrosiphum euphorbiae*, le puceron ravageur du fraisier, en présence de plantes de service, en environnement contrôlé

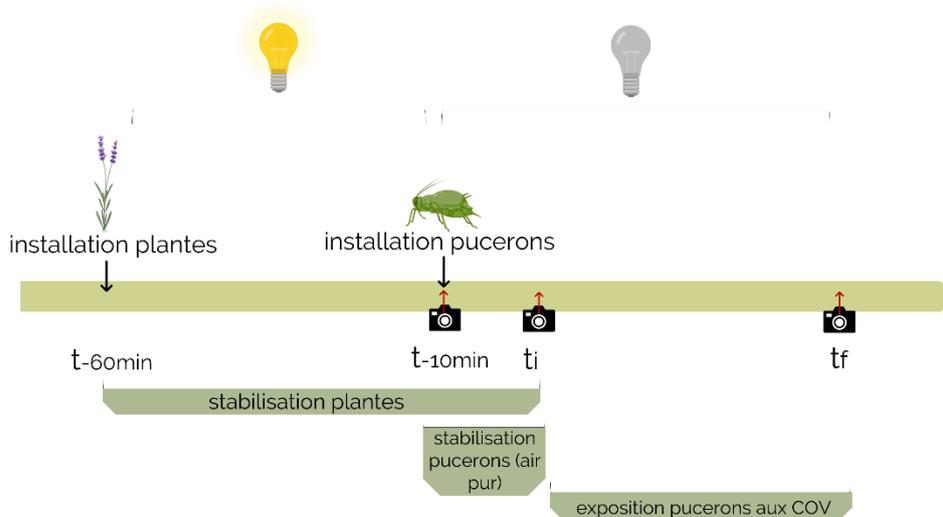
Stage de Thomas Lepers financé par le GIS PIClég

Introduction :

Ces expérimentations ont été réalisées afin de contribuer à la recherche de solutions alternatives à l'usage de produits phytosanitaires pour limiter les dégâts causés par le puceron du fraisier *Macrosiphum euphorbiae*. Ce stage réalisé dans le cadre d'une plus vaste étude menée pour trouver des solutions alternatives pour aider aux contrôles des principaux ravageurs de cultures maraichères dans le projet CASDAR Repulse (projet piloté par le Ctifl). Le stage, financé par le GIS picLeg, avait pour objectif d'identifier des plantes de services (PdS) ayant un effet répulsif ou perturbant le comportement de reproduction de ce puceron.

Matériel et méthodes :

a) Tests de répulsion en olfactomètre



Les pots et le substrat des plantes testées sont recouverts de papier aluminium avant d'être placés dans les cuves afin de limiter une pollution olfactive. Dans chaque cuve sont disposés délicatement 4 à 6 plants, qui sont ensuite fermés hermétiquement. Afin de ne pas avoir de biais liés au développement des plantes, seules des plantes du même âge et au même stade (végétatif, floraison) sont choisies. Un brassage de l'air est assuré en continu au sein des cuves par 2 ventilateurs. Ensuite débute une période de repos de 1h afin de réduire l'accumulation de COVs probablement provoquée par le stress lié au transport des plantes. Pour la réalisation d'un test, 2 cuves sont nécessaires : un témoin (fraisier ou vide) et une contenant des plantes testées. Ces cuves sont connectées chacune à 2 chambres d'olfactomètres.

Au sein de ces chambres sont disposées vingt femelles âgées de 8 jours issues de cohorte de 24h. Elles sont déposées délicatement à l'aide d'un pinceau sur la face inférieure du disque de verre fritté des chambres d'olfactomètres. Pour chaque test, 80 pucerons sont ainsi utilisés. Ensuite, les chambres sont reliées au circuit et sont fermées hermétiquement. Puis, un repos de 10 minutes est respecté afin de laisser les pucerons se stabiliser dans le noir avec un flux d'air à 0.3 L.min⁻¹ filtré au charbon. Des photographies sont ensuite réalisées grâce aux micro-caméras USB afin d'observer la disposition des pucerons sur le verre fritté au moment de l'installation (t-10) et à l'état initial (ti).

A la fin de la phase de stabilisation, le test commence avec l'ouverture des by-pass permettant aux pucerons d'être exposés à l'air provenant des cuves avec un flux de 0.3 L.min⁻¹. L'ensemble est laissé dans le noir afin d'éviter toute stimulation visuelle. Des photographies sont réalisées à la fin de l'expérience (t_f). Le dénombrement des pucerons est ensuite réalisé grâce au traitement des photographies par le logiciel ImageJ (version 1.53K). Les pucerons comptés sont ceux qui sont positionnés sur le verre fritté. Pour chaque chambre d'olfactomètre un indice de répulsion à 60 minutes (IR60) est calculé à t_f selon la formule suivante :

$$IR60 = \frac{(n \text{ à } t_i - n \text{ à } t_f)}{n \text{ à } t_i}$$

n : nombre de puceron sur le verre fritté
 f : 60 minutes après le début du test
 Co : contrôle
 T : test

A la fin de chaque test, l'air provenant des 2 cuves est prélevé via des cartouches de Tenax TA 60/80 (Perkin-Elmer) sous un flux de 0.3 L.min⁻¹ pendant 5 minutes grâce à des mini-pompes (PAS-500 SUPELCO®). Les cartouches sont ensuite conservées à 5°C jusqu'à l'analyse par TD-GC-MS. Les cartouches sont analysées à l'aide d'un CPG-SM Trace-ISQ (Thermo Fisher) équipé d'un désorbiteur thermique Turbomatrix ATD 650 et d'une colonne capillaire en silice fondue Elite 5-MS 0,25 mm x 30 m x 0,5 µm (PerkinElmer).

Liste des PdS testées :

Plante	Stade	Plante	Stade
Absinthe	Végétatif	Estragon du Mexique	Fleur
Anis	Végétatif	Fenouil	Végétatif
Cataire	Végétatif	Lavandin	Végétatif
Céleri	Végétatif	Menthe poivrée	Végétatif
Citronnelle	Végétatif	Menthe verte	Végétatif
Coriandre	Fleur	Tanaisie	Végétatif

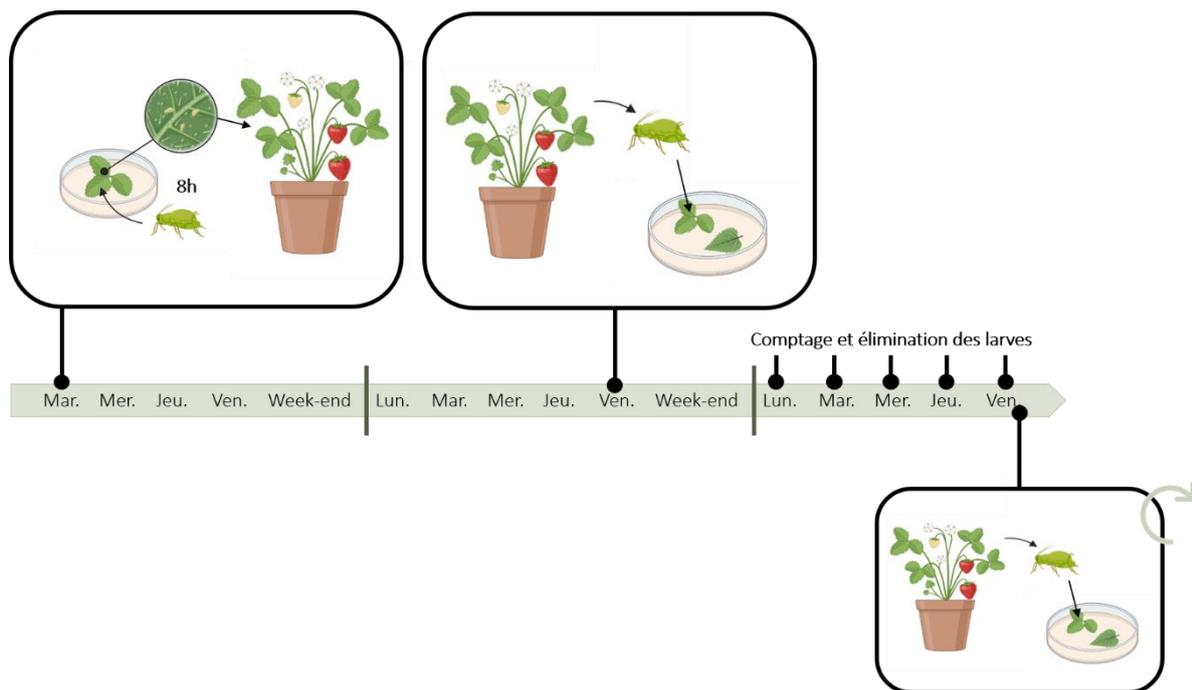
b) Test de fécondité en boîtes de Pétri

Pour étudier la fécondité des pucerons sur une période de 5 jours, les larves issues des cohortes de 8h sont placées sur des plants de fraisiers. Après 14 jours de développement, les individus sont transférés sur une feuille de fraisier, face abaxiale vers le haut, dans des boîtes de Pétri (l : 12 cm x l :

12 cm x h : 2 cm) contenant du papier filtre humidifié. Dans le but d'évaluer l'effet de la plante de service, une feuille de celle-ci est ajoutée dans chaque boîte en veillant à toujours prendre la même quantité.

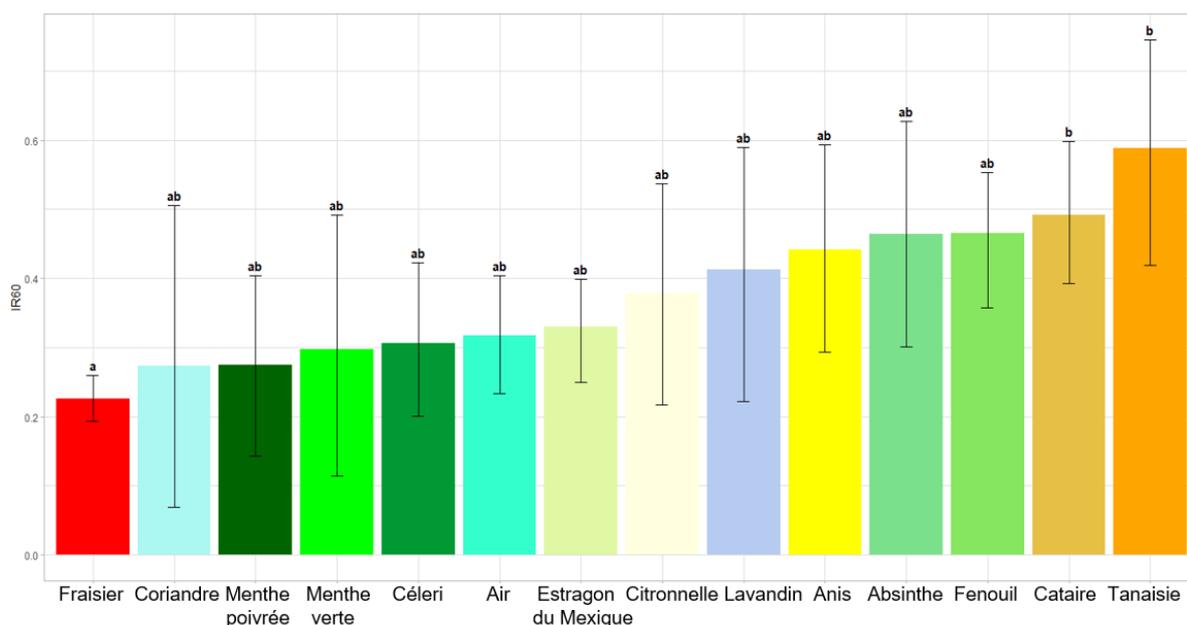
Les boîtes sont ensuite disposées dans des caissettes pour éviter toute interaction entre les différents bouquets olfactifs. Celles-ci sont ensuite placées dans des chambres maintenues à une température constante de 20 °C et à une photopériode stable (16:8 J:N).

Les femelles commencent à pondre après environ 14 jours. Les larves obtenues sont comptées puis éliminées chaque jour de la semaine. Nous observons également 2 autres paramètres : la survie des individus ainsi que leur position dans la boîte. Trois modalités (2 potentielles plantes de services et 1 contrôle) sont testées toutes les 2 semaines, avec un effectif de 30 individus par modalité.



Résultats :

a) Tests de répulsion



Parmi les plantes testées, seules deux d'entre elles présentent une différence significative (Test de Kruskal Wallis : $\chi^2_{142} = 41.356$, $p < 0.001$) par rapport au fraisier. Ces deux plantes sont la cataire (*Nepeta cataria*) et la tanaïse (*Tanacetum vulgare*) avec des valeurs de p respectives de 0.047 et 0.01. De plus, une autre plante, le fenouil, présente une différence marginalement significative avec le fraisier ($p = 0.095$).

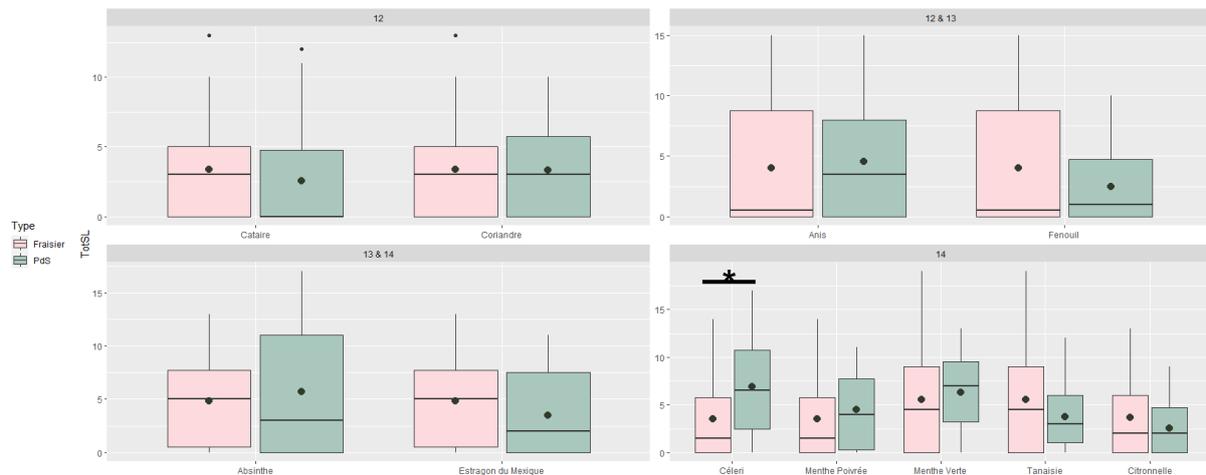
b) Analyse des COV

Liste des COV spécifiques aux PdS testées répulsives :

Cataire	Tanaïse	Fenouil
(+)-cis,trans-Nepetalactone	.beta.-Pinene	Aromandendrene
gamma-Muurolene	alpha-Terpinene	Fenchone
3-Hexen-1-ol, (Z)-	alpha-Thujene	Fenchyl acetate
alpha-Bulnesene	beta-Thujone	Anethole
Bicyclo[3.1.1]heptane, 6-methyl-2-methylene-6-(4-methyl-3-pentenyl)-, [1R-(1.alpha.,5.alpha.,6.beta.)]-	Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alpha.)-	
cis-beta-Ocimene		

Les COV en **gras** ont déjà été décrit dans la biblio comme COV répulsifs et /ou toxique pour d'autres espèces de pucerons ou attractives pour des auxiliaires.

c) Tests de fécondité



Une différence significative (Test de Wilcoxon, $W = 281.5$) apparaît entre la modalité céleri et son témoin avec une évolution du nombre moyen de ponte sur 4 jours avec respectivement une moyenne de 6.9 larves et 3.53 larves en 4 jours ($p = 0.012$). Aucune autre modalité n'a été significativement différente par rapport à son témoin.

Modalité	Boîte	Position	Nombre puceron	Ponte totale	Ponte moyenne par femelle et par jour	p-value
Cataire	Témoin	Fraisier	96	103	1.07	0.002
	Test	Cataire	34	9	0.26	
		Fraisier	65	66	1.02	0.011
Céleri	Témoin	Fraisier	146	129	0.88	> 0.001
	Test	Céleri	90	167	1.88	
		Fraisier	57	30	1.05	0.001
Tanaisie	Témoin	Fraisier	131	229	1.75	0.062
	Test	Tanaisie	28	29	1,03	
		Fraisier	117	92	0.79	0.72

En prenant en considération la position du puceron lors des relevés de fécondité, des variations significatives (Test de Kruskal Wallis, $p < 0.05$) sont observées en ce qui concerne la ponte. Par exemple, lorsque le puceron est positionné sur la cataire, il y a une baisse significative dans la ponte moyenne d'une femelle entre la feuille de fraisier de la boîte témoin ($p = 0.002$) et celle de la boîte test ($p = 0.011$). En outre, nous remarquons une différence marginalement significative entre la ponte d'une femelle sur une feuille de tanaisie et une feuille de fraisier seule ($p = 0.062$).

De plus, lorsque la femelle est positionnée sur une feuille de céleri, une augmentation significativement différente est observée dans la ponte moyenne par rapport à une femelle se positionnant sur une feuille de fraisier dans la même boîte ($p = 0.001$) ou par rapport à une feuille de fraisier seule ($p < 0.001$).

Nous poursuivons l'analyse de ces résultats afin d'identifier d'éventuelles relations entre le comportement du puceron et le mélange de composés organiques volatils émis par chaque plante de service avec pour objectif de d'en réaliser une synthèse sous forme d'un article scientifique.