

**Relationship between plant-aphids-
parasitoids and virus in sugar beet crops**

**Etude de la relation entre plante-pucerons-
parasitoïdes et virus dans la culture de
betteraves**

Loulou Albittar

**Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en
sciences agronomiques et ingénierie biologique**

Promoteurs de thèse :

Prof. Thierry Hance

Prof. Claude Bragard

**Faculté des bioingénieurs
Université catholique de Louvain**

Décembre 2017



Palmyra, Syria. Mohannad Ismail

Syria the cradle of civilizations

Contents

Abstract	1
Résumé	3
Introduction	7
Enjeux de la lutte biologique en culture de Betteraves	9
Objectifs de thèse	13
Etat de la question	15
Les pucerons	15
Importance économique et dégâts causés	15
Cycle de vie de pucerons	16
Les facteurs influençant les populations de pucerons	18
Le mode de transmission des maladies virales	20
La lutte contre les pucerons	26
Lutte chimique	26
Lutte intégrée	28
Lutte biologique	29
Les parasitoïdes	31
Cycle de vie de parasitoïdes	33
Importance de parasitoïdes	36
Le comportement des parasitoïdes	38
La recherche et l'évaluation d'hôte	38
L'évaluation d'hôtes sur les plantes endommagées par le virus	39
La stratégie d'exploitation et la décision de ponte	44
Modèles biologiques	51
La betterave	51
Maladies et ravageurs de la betterave	51

Le puceron noir de la fève <i>Aphis fabae</i> Scopoli, 1973.....	52
Cycle de vie d' <i>A. fabae</i>	53
Importance économique et dégât causés.....	56
Le virus de la jaunisse de betteraves Beet Yellows Virus (BYV)	56
Importance économique et dégâts causés	58
Lysiphlebus fabarum (Marshall, 1896), parasitoïde d' <i>Aphis fabae</i>	59
Autres espèces de parasitoïdes	61
Article 1.....	63
Abstract.....	64
Introduction	66
Materials and methods.....	69
Field locations and types.....	69
Sampling Protocol.....	70
Parasitoid complex on <i>A. fabae</i> populations.....	71
Statistical analysis.....	71
Results	72
Number of aphids and parasitoids.....	72
Parasitoid identification and parasitism rates	74
Impact of aphid density on the production of alate individuals and parasitism.....	76
Discussion.....	78
Article 2.....	85
Abstract.....	86
Introduction.....	87
Materials and methods.....	92

Behavioural bioassay	93
Statistical analyses	95
Results	95
Host acceptance	95
Suitability	98
Discussion.....	102
Article 3.....	109
Résumé	110
Introduction	112
Matériels et méthodes.....	118
Insectes.....	118
Les plantes	119
L'expérimentation du comportement.....	119
Premier patch	121
Second patch	121
Troisième patch.....	122
Analyses statistiques	124
Résultats.....	124
Le temps de résidence (Figure 3.3).....	126
Le nombre de contacts ovipositeurs (Figure 3.4).....	129
Le nombre de momies et le taux de parasitisme (Figure 3.5)	
.....	132
Le nombre de contacts antennaires (Figure 3.6).....	133
Discussion.....	136
Article 4.....	143
Abstract.....	144
Introduction	146

Materials and methods.....	150
Insect.....	150
Plants.....	151
Virus transmission	151
Sucrose and amino acid content in plant leaves.....	152
Tibia size of aphids and parasitoids	154
Lipid determination.....	154
Behavioral assays.....	155
Statistical analysis.....	157
Results	158
Amino acid and carbohydrate content	158
Aphid Tibia length and lipid content	162
Tibia length of emerged parasitoids.....	162
Non-choice experiment.....	163
Mixed patch	163
Fitness gain	167
Discussion.....	169
Discussion générale et perspectives	177
References	201

Remerciement

Marcel Proust a dit que nous sommes reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur ; elles sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries. C'est pourquoi à la fin d'une longue route de travail je m'arrête un peu pour exprimer ma reconnaissance en disant un grand Merci aux personnes qui ont cru en moi et qui m'ont aidé et permis d'arriver au bout de cette thèse.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements au Pr. Thierry Hance qui fut pour moi un promoteur de grande compétence scientifique avec qui j'ai beaucoup appris. Toujours attentif et disponible malgré ses nombreuses charges, il a été pour moi un grand frère et un ami qui m'a aidé à réaliser cette thèse en partageant avec moi les moments difficiles ainsi que les moments de joie. Je le remercie pour son écoute son aide et sa disponibilité.

Ma grande gratitude va aussi à mon co-promoteur le Pr. Claude Bragard, pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail doctoral, et aussi pour ses multiples conseils et encouragements.

J'exprime tous mes remerciements à Hans Van Dyck, Anne Legrève, Arnaud Ameline, Bertanne Visser et Frédéric Muratori, pour avoir accepté d'être membres du jury et pour leurs commentaires constructifs.

A Bertanne, je te remercie infiniment pour ta motivation, pour toutes les corrections en anglais, mais aussi pour avoir cru en moi et m'avoir toujours encouragée pour aller de l'avant.

A Fred, merci beaucoup pour ton soutien, tes conseils, ton aide en général. Tu m'as montré le chemin quand je suis arrivée en Belgique afin de faire mes premiers pas, malgré ton départ vers d'autres aventures.

Je remercie l'Université catholique de Louvain et précisément M. Christian Duqué, pour m'avoir donnée l'opportunité d'avoir une bourse et de venir en Belgique réaliser un de mes rêves, ainsi que Mme Laurence Bertrand et Mme Martine Frere pour leur aide administrative, Mme Michèle Fontaine et M. le vice-recteur Michel Devillers.

J'adresse toute ma gratitude à toutes les personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail : Brigitte et Dominique, les deux belles femmes, nos anges gardiens qui sont toujours disponibles avec beaucoup de gentillesse et de bonne humeur afin de faciliter nos démarches. Avec elles je suis sentie en confiance et très soutenue.

Michel, Olivier, Chris et Marc, merci pour toute l'aide technique que vous m'avez apporté, et merci aussi à Christine, Linda, Marie- Eve pour les analyses moléculaires et particulièrement à Virginie Moreau qui m'a consacré du temps pour apprendre l'extraction d'ARN et le PCR.

Un remerciement spécial à Stéphane et sa famille, pour leur aide amicale et leur motivation à me trouver une solution et une place parmi vous.

J'adresse mes remerciements à la famille de Neussart : Mariolla Marie - Anne, Dominique, Rosalie, Andrea, Grace, pour votre générosité et votre amour. Merci d'avoir ouvert votre résidence ainsi que votre cœur pour m'accueillir et m'aider à l'aboutissement de ce travail. Un tout grand merci aussi à la famille de Odette Hindou qui représente ma famille ici en Belgique, et la famille d'André Patsalides et Samar.

Je tiens à remercier Guillaume Le Goff pour les conseils scientifiques et son amitié. Merci aussi à Anne Sophie et Emmena pour l'aide d'analyse de sucre.

Et je ne saurais trop remercier mes chers amis : Virginie, Inès, Gwen, Béranger, Thomas, Fabiana, Coralie, pour les soirées partagées, leur bonne humeur et simplement leur amitié précieuse. Merci d'avoir été là lorsque j'en avais besoin et dans mes moments de solitude. Merci aussi à Sabrina, François, Aurore, Jennifer et Samir.

Mention spéciale pour Fatou, ma meilleure amie, toujours présente, tu es la sœur que je n'ai pas eue, tu m'as accueilli dans ton cœur et dans ta famille, je te suis reconnaissante.

Les mots les plus simples étant les plus forts, j'adresse toute mon affection à mon père et ma mère, qui ont sacrifié et supporté beaucoup pour moi pour que je puisse être là. Grâce à leur amour et leur confiance je leur dois ma réussite. Un grand merci aussi à ma belle-famille pour son amour, son soutien et ses encouragements.

C'est à Mohannad que je dois mes plus profonds remerciements, voire mon diplôme. Je ne te remercierai jamais assez, merci d'être mon mari, mon ami et mon âme, tu as supporté beaucoup de fatigue et de douleur avec et pour moi, tu étais toujours là pour me soutenir dans les moments de doutes et pour m'encourager. Tu as fait preuve de beaucoup de patience et d'amour, je t'aime.

Enfin, en particulier à toi maman qui n'a pas vu l'aboutissement de mon travail mais je sais que de là où tu es maintenant, tu es très fière de ta fille, je t'aime.

Abstract

Sugar beet is an economic crop worldwide. It is attacked by several insect species, including the two important aphid species (*Aphis fabae* and *Myzus persicae*). The two species are responsible for transmitting the *Beet Yellow Virus*. Control of beet aphids is still largely based on preventive systemic insecticide treatments of seed. In this thesis, we studied the interaction among plant, virus, aphids and the parasitoids.

In the first step, we studied the phenology and population density of *A. fabae* as well as investigated the prevalence of parasitoids attacking *A. fabae* in three organic fields within the Walloon region of Belgium. We found that the population of *A. fabae* and the parasitism rate were higher at the end of spring and the beginning of summer. Six parasitoids species have been recorded attacking *A. fabae*, with *Lysiphlebus fabarum* and *Trioxys angelicae* the most abundant species.

When the two aphid species (*A. fabae* and *M. persicae*) were presented on sugar beet and broad bean in the field, we aimed in the second step to determine the preference of three parasitoids species *Aphidius colemani*, *Lysiphlebus testaceipes* and *L. fabarum*, used in biological control. While *A. colemani* showed higher rate of acceptance and suitability on the two aphid species, *L. testaceipes* and *L. fabarum* showed a preference towards *A. fabae*. Whereas, *L. fabarum* accepted *M. persicae* on two plants, only when mixed with *A. fabae*. We found that the host plant

plays an important role in the acceptance and suitability of the parasitoid.

In the third objective, based on the different qualities of aphid patches, addressed how female parasitoid makes patch-departure decisions from different densities of aphid patches and how previous patch experiences in the environment modify this decision-making process. We found that patch density affect the residence time of *L. fabarum* depending on patch series, and that the aphid density regardless what happened in the previous patch influenced the residence time.

In the knowledge that sugar beet quality is strongly affected by the yellow viruses, transmitted by the aphid *A. fabae*, our fourth objective was to determine whether *A. fabae* feeding on virus inoculated plants, would affect the behaviour of the parasitoid *L. fabarum*. We tested the foraging behaviour of *L. fabarum* towards the aphids feeding either on inoculated or healthy plants. We investigated as well the capacity of parasitoid to develop inside the aphids feeding on inoculated plants until the emergence. We found that the inoculated plants had higher sugars and amino acids that may explain the larger size of aphid individuals. We found also that the number of antennal contact of *L. fabarum* was significantly increased on the aphid on the inoculated plants. No impact of plant virus was observed on the development of the parasitoid.

Résumé

La betterave est une culture de grande importance économique partout dans le monde. Elle est attaquée principalement par deux espèces de pucerons (*Aphis fabae* et *Myzus persicae*) qui sont responsables de la transmission du virus de la jaunisse de betterave. Le contrôle de ces pucerons se fait par voie chimique et le seuil de densité toléré en culture est très bas en raison des risques de transmission de virus. La relation entre plante, virus, pucerons et le parasitoïde comme élément de contrôle biologique potentiel des pucerons a fait l'objet de cette thèse, avec une emphase particulière vers *Aphis fabae*.

Dans une première étude, nous avons fait un état des lieux de la population d'*A. fabae* ainsi que de leur parasitoïdes présents en champs de betteraves biologique chez des maraichers du Brabant Wallon. On a trouvé que la densité d'*A. fabae* et le pourcentage de parasitisme étaient plus élevés à la fin du printemps et au début de l'été. Six espèces de parasitoïdes ont été enregistrées attaquant *A. fabae* sur le terrain, avec *Lysiphlebus fabarum* et *Trioxys angelicae* étant les parasitoïdes les plus abondants.

Lorsque les deux espèces de puceron (*A. fabae* et *M. persicae*) sont présentes seules ou en même temps sur les betteraves ou les fèves, nous avons voulu à la deuxième étude, déterminer les préférences de trois espèces de parasitoïdes *Aphidius colemani*, *Lysiphlebus testaceipes* et *L. fabarum* susceptibles d'être utilisés comme agents de lutte biologique. Les meilleurs taux d'acceptation et d'adéquation ont été enregistrés pour *A.*

colemani. *L. testaceipes* et *L. fabarum* ont montré une nette préférence pour *A. fabae* et *L. fabarum* a accepté *M. persicae* sur les deux plantes uniquement quand il a été mélangé avec *A. fabae*, Nous avons constaté que la plante hôte a joué un rôle important dans l'acceptation et l'adéquation de l'hôte.

Face à différentes qualités de colonies d'hôtes, Nous avons comparé à la troisième partie, l'impact de la richesse ou la pauvreté du patch précédemment visité en termes de nombre de pucerons (*A. fabae*) présents, sur le comportement de la femelle *L. fabarum* étant le parasitoïde le plus abondant de ce puceron en culture de betterave. On a trouvé que la densité d'un patch influence le temps de résidence de *L. fabarum* en fonction des séries et que ce temps de résidence est influencé par la densité d'hôtes de ce patch sans prendre en compte ce que s'est passé dans le patch précédent.

Sachant que la physiologie de la betterave peut être fortement affectée par le virus de la jaunisse transmis par *A. fabae*, l'objectif de la quatrième partie était de déterminer si des pucerons *A. fabae*, qui s'étaient développés sur des betteraves virosées seraient perçus différemment par le parasitoïde *L. fabarum*. On a testé le comportement d'exploitation du parasitoïde, vis à vis des pucerons qui se développent sur plante virosée par rapport à ceux-ci qui se développent sur plante saine, ainsi que la capacité d'un œuf du parasitoïde pondu dans un puceron élevé sur une plante virosée à se développer jusqu'à émergence de l'adulte. Nous avons constaté que les plantes inoculées avaient des

concentrations plus élevées de sucres et d'acides aminés, les pucerons y élevés étaient plus grands et le nombre de contacts antennaires du parasitoïde a augmenté de manière significative. Cependant, nous n'avons pas trouvé une influence du virus sur le développement ou l'émergence du parasitoïde.

Introduction

C'est à Ernst Haeckel dans son ouvrage *Generelle Morphologie der Organismen* en 1866 que l'on doit le terme d'écologie. L'écologie fait l'objet d'études qui essaient notamment de comprendre comment les écosystèmes fonctionnent et de déterminer la relation entre les êtres vivants et leur environnement (Haeckel, 1866). Cette relation dite multi-trophiques est un système d'interactions qui s'établit entre au moins deux niveaux trophiques d'une chaîne alimentaire. Ce système met le plus souvent en jeu une espèce de plante, une espèce d'insecte phytophage et les naturels ennemis de ce dernier (prédateurs ou parasitoïdes) (Knight *et al.*, 2005). De plus, il est influencé au niveau de la communauté et de la dynamique de population par l'hypothèse du monde vert (**the green world hypothesis**) de Hairston *et al.* (1960). Cette hypothèse parle de la régulation des populations de phytophages comme le résultat d'un effet Top-Down (régulation descendante) qui considère les ennemis naturels exerçant une pression de prédation ou de parasitisme comme les niveaux trophiques supérieurs, ou d'un effet Bottom-up (régulation ascendante) en supposant que la régulation d'une population est faite par l'effet des plantes qui sont des producteurs primaires et qui représentent la base des réseaux trophiques (Le Guigo, 2010).

L'agriculture est considérée comme l'un des grands piliers de la société qui se consacre à la production alimentaire. Cette dernière est toujours menacée par les ravageurs et les maladies qui

réduisent les valeurs économiques, esthétiques et biologiques de toutes les espèces exploitées par l'homme (Zaitlin & Hull, 2003). On divise les maladies des plantes en deux catégories : les maladies non parasitaires (non infectieuses, non transmissibles) qui sont causées par des conditions environnementales inadéquates telles que les carences ou les excès de nutriments, les toxines biologiques, les conditions défavorables du sol et du climat et les polluants, et les maladies parasitaires (infectieuses) qui sont dues à des champignons parasitaires, des bactéries, des mycoplasmes, des nématodes et des virus.

Les virus représentent la forme la plus simple des organismes parasitaires. Ils sont constitués d'acides nucléiques entourés de protéines, et considérés comme des parasites moléculaires qui utilisent les composants de leur hôte pour la réplication (c'est-à-dire la multiplication) de leurs acides nucléiques infectieux (Khan & Dijkstra, 2001; Hull, 2009). Un grand nombre de virus sont disséminés dans la nature par des arthropodes vecteurs comme les pucerons, les cicadelles, les thrips, les mouches blanches, les aleurodes et les acariens. Certains sont aussi transmis par des nématodes et des champignons du sol (Bosque-Perez & Eigenbrode, 2011). Les problèmes liés aux ravageurs responsables de la transmission des maladies, au cours de dernières années ont été marqués par l'augmentation de production et de l'utilisation des engrais et des produits phytosanitaires, ce qui ne s'avère pas être comme une solution durable et sans effet sur la flore et la faune (Tilman *et al.*, 2002).

Dans ce contexte, la recherche d'une nouvelle orientation de la protection de culture vers une méthode alternative de lutte comme la lutte biologique paraît comme une solution prometteuse pour l'avenir. Plusieurs types de contrôle biologique existent et ont été utilisés, par exemple, contre les nématodes du sol, plusieurs microorganismes, sont utilisés et commercialisés (deux champignons, *Paecilomyces lilacinus* (BioAct™) et *Myrothecium verrucaria* (DiTera™) et deux bactéries, *Burkholderia cepacia* (Deny™) et *Bacillus chitinosporus* (Activate™) dans divers pays d'Europe et aux États-Unis (Bélair, 2005). La lutte biologique contre la mouche blanche des serres *Trialeurodes vaporariorum* Westw par *Encarsia formosa* qui est l'hyménoptère le plus utilisé dans le monde est une autre illustration. C'est une espèce facile à élever qui se reproduit par parthénogenèse thélytoque où les mâles sont normalement très rares (1% à 2% de la population). Elle fut découverte en 1924 par Gahan aux États-Unis puis elle s'est rapidement élargie grâce à son utilisation à grande échelle en lutte biologique en Europe (Onillon, 1982). Dans cette thèse nous allons nous focaliser sur un seul type de contrôle: la lutte par entomophage en utilisant des parasitoïdes qui sont des auxiliaires très présents dans les cultures (Boivin, 2001; Boivin *et al.*, 2012).

Enjeux de la lutte biologique en culture de Betteraves

La culture de betterave a une grande importance économique au niveau mondial. En Belgique, elle représente la troisième plus grande surface cultivée après les céréales et le maïs (Tits &

Misonne, 2002). Elle correspondait à 53.691 ha en 2015 (CBB, 2016) et constitue la première source de sucre étant donné que 97,5 % de la production de sucre en 2013 au sein de l'Union Européenne était issu de betteraves sucrières (Institut des comptes nationaux, France AgriMer, 2014). Au cours de la période 2010-2014, la production annuelle moyenne de betteraves sucrières, qui fait partie des cultures industrielles, a atteint environ 161 millions d'euros, soit 2,0 % de la valeur de la production totale de l'agriculture belge, ou 4,4 % de la production végétale. La Flandre représente environ 32 % de la production de betteraves sucrières belge et la Wallonie 68 % (SPF Économie, DG statistiques – Statistics Belgium, 2014).

Cette culture est potentiellement attaquée par plusieurs ravageurs. Parmi eux, il y a les pucerons qui forment le groupe le plus important sur le plan agronomique et qui sont responsables des dégâts provoqués d'une façon directe via les piqûres dans les tissus et le prélèvement de la sève élaborée dans les vaisseaux de la plante. D'une façon indirecte, ils sont responsables d'une perte de rendement par leur fonction de vecteurs de virus qui transmettent la maladie même lorsque les pucerons sont à faible densité, comme la jaunisse de la betterave qui cause l'affaiblissement des plants ainsi que la diminution du stockage en sucre des racines. Les deux espèces de pucerons les plus dommageables et qui sont responsables de la transmission sont : le puceron vert du pêcher, *Myzus persicae* (Sulzer) et le puceron noir de la fève, *Aphis fabae* Scopoli (Dewar *et al.*, 1996).

De plus, la betterave a un aspect économique important, mais également agronomique essentielle comme « tête de rotation » (Ledent & Bertin, 2001). Elle a aussi un impact environnemental important vu la quantité de pesticides qu'elle nécessite, car les agriculteurs ont souvent tendance à utiliser des produits phytosanitaires de manière trop systématique. Actuellement, la lutte contre les pucerons en betterave consiste principalement en un traitement préventif systématique des semences en utilisant le pesticide Gaucho (MA : Imidacloprid) qui réduit l'incidence de certains virus transmis par les pucerons. Dans ce contexte, l'utilisation des pesticides dont l'impact sur la santé humaine, animale et sur l'environnement est reconnu, impose la recherche des solutions alternatives de lutte comme la lutte biologique qui semble être une alternative intéressante à ce problème (Way & van Emden, 2000). Cependant, la mise en place de telle méthode demande l'étude approfondie sur ces ravageurs aussi bien que leurs ennemis naturels.

Plusieurs ennemis naturels des pucerons ont été identifiés et ont été utilisés dans le contexte de la lutte biologique. Le lâcher de masse des parasitoïdes en champs est une des techniques potentiels pour le contrôle des populations de pucerons. Par exemple, en culture de céréales, des essais ont montré que le lâcher de 20.000 parasitoïdes par hectare provoque une diminution des populations de pucerons sous le seuil économique (Levie *et al.*, 2000; Levie *et al.*, 2005). Cependant, dans les champs de betterave, ce type de lutte biologique n'est

envisageable que si les parasitoïdes ont un effet sur la transmission virale, en diminuant les populations de pucerons de telle sorte à ce que leur dispersion soit aussi entravée. Il faut donc une action des parasitoïdes même lorsque la densité des pucerons est faible.

Dans cette optique, nous voulons étudier la dynamique d'*Aphis fabae* en champs comme il est l'un des pucerons les plus dommageable en culture de betterave, mais également celle de ses parasitoïdes surtout *Lysiphlebus fabarum*, l'espèce la plus abondante. De plus, comprendre la préférence et le choix d'hôte, le comportement des parasitoïde vis-à-vis les pucerons présents sur les plantes virosées et leur capacité d'adaptation face à différentes qualités de patchs sont des éléments préalables à la définition d'une stratégie future de lutte biologique.

Objectifs de thèse

Avant de pouvoir établir une stratégie de contrôle biologique contre les pucerons, il fallait avant tout comprendre et étudier plusieurs points et poser plusieurs questions qui constituent les objectifs de cette étude :

- 1- L'objectif de base de cette thèse est de récolter les données préliminaires à la mise au point d'une stratégie de protection de la culture de betterave contre les pucerons. Dans ce cadre, une première étape est de faire un état des lieux de la présence et de la phénologie des espèces de pucerons incriminées. De plus nous voulions déterminer quelles sont les espèces des plantes cultivées à proximité des cultures de betterave qui sont aussi infestées par les mêmes espèces de pucerons et qui pourraient servir de réservoir de pucerons ou d'ennemis naturels. Enfin, cette partie se termine par un inventaire des espèces de parasitoïdes rencontrées en conditions de cultures qui peuvent influencer la population de pucerons. Cette partie fera l'objet de l'article 1.
- 2- Comme le système implique plusieurs espèces de plantes, de pucerons et de parasitoïdes, la deuxième partie expérimentale de la thèse s'est attachée à l'étude de la préférence d'hôtes par les parasitoïdes en fonction de la présence d'un mélange de plusieurs espèces de pucerons sur deux plantes hôtes différentes. Cette partie fera l'objet de l'article 2.

- 3- En conditions naturelles, les colonies de pucerons sont présentes à des densités différentes au cours de la saison mais aussi dans leur répartition spatiale. Des plusieurs agrégats d'hôtes de densité différente représentent donc des situations que le parasitoïde rencontre couramment en conditions réelles, La stratégie d'exploitation de patchs successives de pucerons est une information intéressante pour comprendre son comportement dans des conditions proches des conditions naturelles. Comment la femelle va-t-elle gérer son temps et prendre la décision de rester ou quitter cet agrégat ? Est-elle capable d'adapter son comportement vis-à-vis du changement dans la qualité d'agrégat pour optimiser sa fitness ? Cette partie fera l'objet de l'article 3.
- 4- Enfin, sachant que la physiologie de la betterave peut être fortement affectée par le virus de la jaunisse, dans le cadre de l'interaction multi-trophique et la régulation des pucerons qui transmettent ce virus, la quatrième étape de ce travail vise à comprendre la relation multi-trophique virus-plante-vecteurs-parasitoïdes, et plus particulièrement la capacité du parasitoïde à distinguer entre les pucerons présents sur des plantes saines et ceux qui se sont développés sur des plantes virosées . Dans le même cadre, nous voulions déterminer si le fait de pondre dans des pucerons sur plante virosée est un bon choix pour la progéniture du parasitoïde. Cette partie fera l'objet de l'article 4.

Etat de la question

Les pucerons

Sur le plan taxonomique, ils appartiennent à la série Sternorrhyncha dans l'ordre des Hémiptères, et plus spécifiquement à la super-famille Aphidoidea qui se caractérise par des tubes dorsaux abdominaux appelés cornicules. Elle se divise en plusieurs familles dont les Aphididae. Les espèces de cette famille sont caractérisés par un cycle de reproduction complexe qui alterne des femelles parthénogénétiques vivipares et des individus sexués. Sur le plan morphologique, les antennes des individus ailés portent habituellement 5 ou 6 segments, le dernier segment dispose d'un processus terminal distinct et la cauda est souvent développée. Le cycle de vie est variable mais habituellement annuel avec une alternance de différentes plantes hôtes primaires et secondaires en fonction des saisons (Blackman & Eastop, 2000).

Importance économique et dégâts causés

Les pucerons sont parmi les ravageurs de l'agriculture les plus importants dans le monde (Bonnemain, 2010; Dedryver *et al.*, 2010). Ils s'attaquent à de très nombreuses plantes d'importance économique (Turpeau *et al.*, 2013). Ce sont des insectes piqueurs-suceurs qui se nourrissent directement de la sève phloémienne riche en sucre (Miles, 1987) et sont capables d'atteindre les faisceaux criblés du phloème par leurs pièces buccales. L'excès de sucre ingéré est ensuite rejeté par l'anus et est appelé miellat.

En conséquent, la plante est privée d'une partie de ses nutriments, elle devient faible avec une diminution de croissance (Bonnemain, 2010). De plus, le miellat rejeté qui se trouve sur les feuilles favorise le développement de champignons comme la fumagine (Hurej & Vanderwerf, 1993). Tout cela entraîne une diminution de performance et donc des rendements voire la mort des plantes (Simpson *et al.*, 2012). Cependant, le principal dommage causé par les pucerons est lié à leur rôle comme vecteurs d'environ 50% des maladies virales, surtout par les individus ailés (Dedryver *et al.*, 2010). Dans une étude sur le virus *Turnip yellows virus* (TuYV) qui attaque le colza (*Brassica napus*) et qui est transmis par le puceron *Myzus persicae*, il a été montré, que chaque année, plus de 72% des individus ailés étaient porteurs de ce virus (Stevens *et al.*, 2008). Les deux morphes (aptère et ailée) ont la même capacité de transmission virale après s'être nourrie un temps similaire sur une plante infectée. Ces deux morphes deviennent porteurs et commencent à transmettre après 4h heures de nutrition. Les ailés commencent le vol après 15 minutes d'infection. Parfois, chez certaines espèces, comme *M. persicae*, les ailés restent infectieux plus longtemps que les aptères mais, les deux arrêtent d'être infectieux au bout de deux jours (Heathcote & Cockbain, 1966).

Cycle de vie de pucerons

Les pucerons sont caractérisés par des cycles complexes où alternent la reproduction sexuée et asexuée et qui peuvent se produire sur des plantes hôtes différentes ou sur des parties de

plantes différentes. Ils sont aussi caractérisés par des formes différentes en fonction du rôle dans le cycle, se multiplier ou se disperser (individus ailés ou aptères) (Bonnemain, 2010). En fonction des espèces et des localisations dans le monde, les cycles peuvent être complets avec les deux types de reproduction (holocycle) ou être réduit à la seule reproduction asexuée ou parthénogénétique (anholocycle). Les femelles sexuées sont ovipares alors que les femelles parthénogénétiques sont vivipares. Dans l'anholocycle, les espèces se reproduisent toute l'année uniquement par parthénogenèse (des femelles produisent des descendants femelles sans fécondation). Tandis que dans l'holocycle, il y a une génération sexuée et plusieurs générations asexuées par an.

A l'automne, l'œuf fécondé est pondue. Il est en diapause durant les conditions climatiques défavorables de l'hiver. Au printemps, l'éclosion de l'œuf produit des femelles parthénogénétiques fondatrices. Les fondatrices donnent la naissance à plusieurs générations de femelles vivipares, appelées fondatrigenes, qui se développent sur la même plante qu'elle. Les premières générations sont essentiellement composées d'aptères puis les individus ailés croissant au fil du temps qui pourront migrer vers leurs hôtes d'été. A l'automne, les femelles parthénogénétiques appelées sexupares, apparaissent et donneront naissance à des mâles (sexupares andropares) et à des femelles ovipares (sexupares gynopares) qui sont ailés et migrent

vers les hôtes d'hiver. Après l'accouplement, la femelle pond des œufs (Turpeau *et al.*, 2013).

Certaines espèces de puceron sont classées comme monœciques, elles accomplissent tout leur cycle de développement sur une seule espèce de plante. D'autres espèces, sont classés comme diœciques ou hétéroœciques, (environ 10 % des espèces) terrent entre deux types de plantes. La plante sur laquelle a lieu la reproduction sexuée est qualifiée d'hôte primaire et les plantes sur lesquelles les pucerons migrent au cours de la saison sont qualifiées d'hôtes secondaires (Blackman & Eastop, 2000).

Les facteurs influençant les populations de pucerons

La reproduction et la dispersion des pucerons sont liées à plusieurs facteurs biotiques ou abiotiques comme la présence des plantes hôtes, les ressources de nourriture, les ennemis naturels et les conditions climatiques qui peuvent leur permettre d'avoir, jusqu'à 20 générations par an (Hodek & Emden, 1972; Muller *et al.*, 2001; Turpeau *et al.*, 2013). Tout cela, peut influencer la taille de la colonie de pucerons et par conséquent les dégâts causés sur les cultures (Hulle *et al.*, 2011). De plus, l'accroissement de densité peut provoquer la production des individus ailés afin de favoriser leur dissémination pour trouver de nouvelles plantes et nouvelles ressources (Bonnemain, 2010).

La dispersion et l'abondance des pucerons peut être aussi liées à la coexistence de deux espèces de pucerons sur la même plante hôte. Bien que les deux espèces *M. persicae* et *A. fabae* sont

répandues sur la culture de la betterave, *M. persicae* la colonise plus tôt que *A. fabae* et sa population diminue plus tôt. *A. fabae* est plus abondant que *M. persicae* sur les betteraves bien qu'un nombre similaire de chaque espèce migre au moment de la colonisation. Ce qui suggère qu'il y a une différence entre les espèces dans leur sélection et/ou leur performance sur la betterave (Williams *et al.*, 2000). De plus, en général, le taux intrinsèque d'augmentation des deux espèces diminue lorsque les plantes de la betterave deviennent matures, cependant, à n'importe quel âge donné, ce taux intrinsèque d'augmentation d'*A. fabae* est une fois et demie plus élevé que celui de *M. persicae*. Une concurrence intra spécifique semble entraîner une réaction chez *M. persicae* qui devient plus actif. Cependant, il n'y a pas de preuve établie d'une concurrence interspécifique entre les deux espèces sur la plante de betterave (Williams, 1999; Williams *et al.*, 2000). En outre, la population de pucerons peut être influencée par la présence d'ennemis naturels comme les prédateurs et les parasitoïdes. En général, chez beaucoup d'animaux, une défense inductible morphologique implique principalement une nouvelle structure qui peut les protéger ou les mettre à l'abri d'une future attaque (Tollrian & Harvell, 1999a; Tollrian & Harvell, 1999b). Dans la majorité des cas, ce sont les prédateurs qui induisent les exemples de cette hypothèse, mais dernièrement des études indiquent que les parasitoïdes peuvent être aussi impliqués. En effet, l'attaque d'un parasitoïde provoque une défense inductible qui peut jouer un rôle dans la relation et l'interaction entre ce parasitoïde et son hôte, cette interaction se marque notamment par

une réponse immunitaire par les pucerons (Grundler *et al.*, 1997). Cependant, Sloggett & Weisser (2002) ont montré qu'une défense inductible peut être aussi morphologique (production des individus ailés), comme chez le puceron du pois *Acyrtosiphon pisum* qui produit un grand pourcentage d'individus ailés suite à une attaque de parasitoïde *Aphidius ervi*. Bien que cette réaction peut être un événement spécifique à cette espèce du puceron, une autre réaction pourrait exister chez d'autres espèces, comme la capacité de fuite ou des comportements plus élaborés comme en maintenant les exuvies à proximité de la colonie de pucerons. Cette stratégie a montré une efficacité significative car les parasitoïdes étaient capables de reconnaître les exuvies déposées et de tenter de les parasiter comme les pucerons quand les deux étaient présents dans le même patch ce qui provoque une augmentation du temps de résidence de la femelle parasitoïde qui gaspille ainsi une partie de son temps précieux (Muratori *et al.*, 2008b).

Le mode de transmission des maladies virales

En général, les virus sont transmis par les pucerons selon trois modes en fonction du temps, pendant lequel les pucerons doivent se nourrir sur la plante infectée. Pour le premier, le mode **persistant**, le temps d'acquisition est de 48 à 72 heures et le virus est dit circulant. Il peut se multiplier dans l'organisme des pucerons à différents stades du cycle digestif (tube digestif puis dans l'hémocèle jusqu'aux glandes salivaires qui permettront sa transmission lors de la prochaine piqûre. Dans le deuxième, le

mode **non persistant**, le virus se maintient au niveau des pièces buccales uniquement. Dans ce cas, le temps d'acquisition et sa transmission ne sont que de quelques heures. Le dernier mode est le mode **semi-persistant**, les pucerons ont besoin d'environ 24 heures pour l'acquisition et le virus est transmis rapidement. Les deux modes non persistant et semi-persistant correspondent à des virus non circulants, ils ne sont pas ingérés par l'insecte et restent au niveau du stylet et disparaissent dans un délai relativement court (Kennedy *et al.*, 1962). De plus, chez les virus circulants (persistants) selon le mode de transmission du virus par les vecteurs à leurs descendances, on peut distinguer les virus **propagatifs** pour lesquels les vecteurs sont porteurs toute leur vie, ils se multiplient dans les glandes salivaires puis ils peuvent être transmis à la descendance et les virus **non-propagatifs** dont les vecteurs sont porteurs toute leur vie, mais qui ne se multiplient pas dans les glandes salivaires et ne peuvent pas être transmis à la descendance (Chesnais, 2016; Fereres & Moreno, 2009) (Tableau 1).

Dans le vecteur, le site de rétention du virus est différent selon les caractères circulant ou non circulant. Fereres and Moreno (2009) ont montré dans un schéma (Figure.1) les sites de rétention en appelant les virus retenus à la pointe des stylets **stylet-borne** (Kennedy *et al.*, 1962), les virus retenus dans l'intestin antérieur **Foregut-borne** (Nault & El-Desouky, 1989). Les deux virus sont regroupés sous le terme **cuticula- borne** (Harris *et al.*, 1996).

Tandis que le terme **salivary gland –borne** a été proposé par analogie avec le terme **cuticula- borne** pour se référer à des virus circulants qui sont transmis à partir des tissus salivaires (Chesnais, 2016; Fereres & Moreno, 2009) (Figure 1). Ces différents modes de transmission se traduisent par une importance épidémiologique différente et peuvent avoir des conséquences sur les populations tolérées de pucerons dans la culture.

Tableau 1. Différent mode de transmission de virus de plante par les insectes piqueurs suceurs (adapté de Chesnais, 2016)

Mode de transmission	Circulant		Non-circulant	
	Persistant propagatif	Persistant non-propagatif	Non persistant	Semi persistant
durée d'acquisition ^a	Minutes à heures	Minutes à heures	Secondes à minutes	Secondes à heures
Durée de rétention ^b	Jours à mois	Jours à mois	Secondes à minutes	Minutes à heures
Durée d'inoculation ^c	Minutes à heures	Minutes à heures	Secondes à minutes	Secondes à heures
Association des vecteurs ^d	Interne	Interne	Externe	Externe
Réplication dans des vecteurs	Oui	Non	Non	Non
Besoin d'un HC ^e	Non	Non	Oui et non	Oui et non

a. Durée nécessaire pour l'acquisition des particules virales par l'alimentation sur une plante infectée.

b. Durée pendant laquelle le vecteur reste virulifère après l'acquisition du virus.

c. Durée nécessaire au vecteur pour inoculer des particules virales infectieuses à une nouvelle plante saine.

d. Interne : signifie que le virus pénètre dans le corps de son vecteur, en passant les barrières cellulaires. Externe : signifie que le virus est lié à la cuticule du vecteur et ne passe jamais les barrières cellulaires

e. Un composant auxiliaire (Helper component – HC) est impliqué dans les cas où les particules virales ne reconnaissent pas directement les vecteurs, agissant comme un pont moléculaire entre les deux.

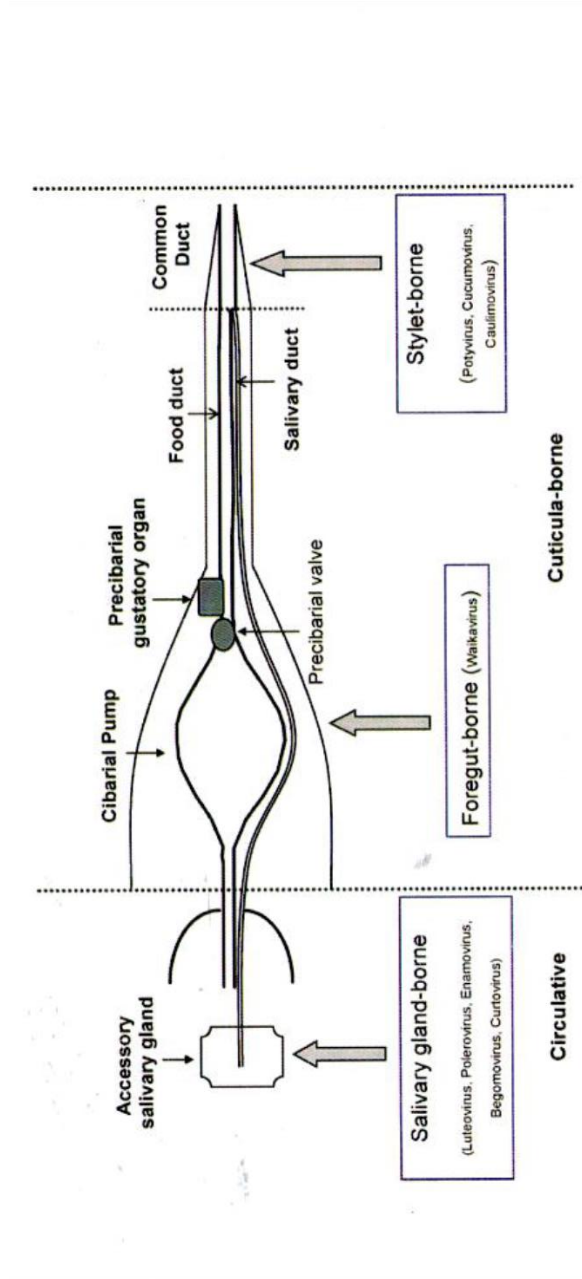


Figure 1. Schéma représentant les sites de rétention probables (flèches) pour les virus circulants de type cuticula-borne au sein des stylets de l'intestin antérieur et des glandes salivaires de l'insecte (adapté de Fereres & Moreno 2009).

On peut observer ces trois modes de transmission chez plusieurs maladies virales qui attaquent les cultures de betteraves. Par exemple, le **virus de la mosaïque de la betterave** (*Beet mosaic virus BtMV*, Potyvirus) est un virus transmis sous un mode non persistant par 24 espèces de pucerons avec *M. persicae* et *A. fabae* parmi les plus importants. Il provoque des petites taches jaunes au centre des feuilles, qui deviennent ensuite marbrées et rabougries. Le virus **de la jaunisse modérée de la betterave** (*Beet mild yellows virus BMYV*, Luteovirus), est un virus transmis par *M. persicae* et *A. fabae* par le mode persistant. Les symptômes apparaissent 12-35 jours après l'inoculation par les pucerons, surtout sur les moyennes à anciennes feuilles en taches chlorotiques douces dans les zones entre les nervures, souvent sur les pointes des feuilles. Ensuite les symptômes deviennent plus intenses et les nervures virent au jaune. Une infection précoce dans les champs peut causer plus de 47% de perte (Hills *et al.*, 1963; Hills *et al.*, 1960). De plus, le **virus de la jaunisse grave de la betteraves** (*Beet yellows virus BYV*, Closterovirus) est transmis par *M. persicae* et *A. fabae*, par le mode semi persistant. Les nervures des jeunes feuilles deviennent jaune et peuvent avoir une apparence nécrotique, les nervures secondaires et intermédiaires apparaissent souvent creusées. Après quoi les feuilles deviennent entièrement jaunes, épaisses, tannées et fragiles (Cooke & Scott 1993). Cependant, ces feuilles semblent plus favorables pour la colonisation et la reproduction des pucerons comme *M. persicae* et *A. fabae*, qui préfèrent les feuilles inoculées par le virus BYV à des feuilles

saines, surtout celles qui ont les symptômes les plus sévères sur lesquelles ils se multiplient plus rapidement avec une durée de vie plus longue celui sur des feuilles saines (Baker, 1960).

La lutte contre les pucerons

Afin d'éviter les dégâts et la perte économiques causés par les pucerons, il est essentiel de contrôler les populations déjà présentes mais aussi de prendre les précautions pour diminuer la dispersion des individus responsables de la transmission des maladies virales (Turpeau *et al.*, 2013). Deux stratégies de lutttes peuvent être utilisées pour lutter contre les pucerons : la lutte chimique et la lutte biologique (Dedryver *et al.*, 2010). Un troisième mode de lutte a aussi commencé à jouer un rôle important, appelé la lutte intégrée qui peut combiner les systèmes de protection et des applications culturales (Way & van Emden, 2000).

Lutte chimique

Très peu de terres sont exploitées en agriculture biologique, surtout en culture de betteraves. Une des raisons est liée au risque de transmission virale même à basse densité de pucerons, particulièrement en culture de betterave. En effet, l'application d'un insecticide dans un champ qui contient des jeunes plantes déjà envahies par une grande densité de pucerons, n'aura qu'un effet limité sur la dispersion du virus. Par contre, l'application sur un nombre relativement faible de pucerons en tout début de saison

sera efficace et l'évolution de la maladie à partir des premières colonies dépendra à ce moment de leur taux de multiplication ultérieur (Jadot, 1976). L'utilisation de pesticides reste donc très courante afin de limiter les problèmes phytosanitaires. Par exemple, en Belgique en 2012, 98,5 % des graines de betteraves ont été traitées avec des insecticides systémique et/ou des fongicides de semis, et ce pourcentage est en progression depuis 2007 (Legrand, 2013). Actuellement, des molécules spécifiques aux pucerons tel que le Pirimicarbe sont toujours utilisées d'une manière préventive, d'autres à large spectre telle que la Deltaméthrine, ou des aphicides moins dangereux pour leur phytotoxicité à base de sels potassiques d'acide gras sont également appliqués (Fytoweb, 2013).

Comme les dégâts le plus dommageables causés par les pucerons résultent de la transmission des maladies virales même en cas d'infestation minime, l'utilisation des pesticides pour contrôler la transmission de virus surtout sous les deux modes persistant et semi persistant, a donné des résultats prometteurs dans 78% des cas pour le virus de la jaunisse de betterave (Perring *et al.*, 1999). Cependant, l'excès d'utilisation des pesticides diminue la présence des ennemis naturels et d'autres insectes. Jansen (1996) a montré qu'un effet toxique important a été trouvé lorsque les adultes d'*Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera, Aphidiinae) ont été exposés à des résidus de plusieurs pesticides appliqués sur les feuilles de maïs tels que Bifenthrine, Cyfluthrine, l' λ -Cyhalothrine, Cyperméthrine, Deltaméthrine, Esfenvalérate,

Fluvalinate, Phosalon et Pirimicarbe, pendant 24 heures. La densité de parasitoïdes a diminué significativement après avoir été exposé aux insecticides et seuls deux produits, le Fluvalinate et l'Esfenvalerate, n'ont pas tué tous les insectes. Pour les momies¹, la Cyfluthrine et la Deltaméthrine ont légèrement réduit l'émergence des parasitoïdes adultes, mais ils n'ont pas affecté leur performance reproductive. Cette destruction des auxiliaires peut favoriser le développement des pucerons, et par conséquent la propagation des maladies virales surtout dans le cas des insecticides à large spectre (Hooks & Fereres, 2006), sans oublier l'effet négatif sur la biodiversité et sur la santé humaine (Cloyd, 2012; Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016).

Lutte intégrée

En Europe, la lutte intégrée est définie par la directive communautaire 91/414/CEE du 15 juillet 1991, comme suit :

« L'application rationnelle d'une combinaison de mesures biologiques, biotechnologiques, chimiques, physiques, culturelles qui s'intéresse à la sélection des végétaux dans laquelle l'emploi de produits chimiques phytosanitaires est limité au strict nécessaire pour maintenir la présence des organismes nuisibles en dessous de seuil à partir duquel apparaissent des dommages ou une perte économiquement inacceptable. »

¹ Momies: Pucerons parasités qui contiennent une larve de parasitoïde en fin de stades L3 ou au stade pupe. La larve de parasitoïde a déjà tissé son cocon à l'intérieur de la cuticule vidée du puceron, ce qui lui donne un aspect particulier.

Cette méthode repose essentiellement sur des principes écologiques et tient à un certain nombre de procédés de lutte spécifique : sélectionner des plantes résistantes ou tolérantes aux pucerons ou virus (Sauge *et al.*, 2011), l'installation de haies à proximités des champs qui va limiter la dispersion des individus ailés et l'installation des plantes pièges qui peuvent y détourner les pucerons de la culture d'intérêt (Dedryver *et al.*, 2010) . De plus, la lutte intégrée à recours à des systèmes d'avertissements qui permettent aux agriculteurs d'intervenir par une pulvérisation chimique en fonction du seuil de risque (niveau maximal de ravageur au-delà une perte de rendement est réelle) (Gosme *et al.*, 2010).

Pour qu'un programme de lutte intégrée soit efficace, il faut connaître en détail la biologie des espèces visées, la dispersion, la densité et les mouvements des populations, ainsi que l'écologie des ennemis naturels des ravageurs. Tout cela rend cette méthode lente, demande plus de temps et les résultats ne se perçoivent qu'à long terme (communication personnelle Claude Bragard).

Lutte biologique

La lutte biologique est une méthode qui a été définie par Harry Smith comme « l'ensemble des moyens de lutte organique incluant les prédateurs, les bactéries, maladies fongiques et les parasitoïdes » (Smith, 1919). Elle est basée sur une relation naturelle entre deux êtres vivants où tout produit chimique est exclu pour maintenir les pucerons en dessous du seuil

économique (Regnault-Roger *et al.*, 2005). La lutte biologique peut se réaliser par plusieurs techniques : lutte biologique par introduction, par augmentation et par conservation (Boivin, 2001; Eilenberg *et al.*, 2001).

Les pucerons sont attaqués par un certain nombre d'ennemis naturels qui peuvent produire un taux élevé de prédation ou de parasitisme, parmi eux les coccinelles (Coccinellidae), les chrysopes (Chrysopidae) et les Syrphes (Syrphidae). Il a été montré que l'intervention précoce de plusieurs coléoptères prédateurs (comme les coccinelles) a considérablement affecté l'établissement des colonies de pucerons dans les champs et a entraîné une réduction de la propagation du virus de la jaunisse de betterave (BYV). Plus que 81% d'*A. fabae* exposés aux prédateurs sur les jeunes plants de betterave ont disparu au cours d'une période de 24 h, contre 10% pour les pucerons qui ont été protégés par des clip cages (Landis & Van der Werf, 1997).

Deux champignons pathogènes, *Verticillium spp.*, et *Entomophthora spp.* (Minks & Harrewijn, 1989) occupent encore une place importante dans le contrôle biologique des pucerons (Rabasse *et al.*, 1975). Plusieurs espèces de parasitoïdes appartenant à la famille des Braconidae, sous-famille des Aphidiinae, sont connues aussi pour réduire considérablement les densités de population de pucerons sur le terrain (Hance *et al.*, 2017). Parmi celle-ci, *Aphidius matricariae* Haliday qui a montré une efficacité à réduire la population d'*A. fabae* sur la culture de betterave de la variété Shirin avec un taux important de

parasitisme enregistré sur le troisième stade larvaire (Tahriri *et al.*, 2007). *Lysiphlebus fabarum* s'est montré plus efficace contre le puceron *A. fabae* en culture de betterave que sur les féveroles avec une augmentation remarquable du pourcentage du parasitisme (Volkl & Stechmann, 1998). Bien qu'un impact positif de plusieurs espèces de parasitoïdes ait été trouvé dans la réduction du nombre de pucerons, les pucerons parasités ont montré plus de mouvements que ceux qui ne sont pas parasités, ce qui, peut-être, provoque une légère augmentation de la dispersion du virus (Hodge & Powell, 2008; Weber *et al.*, 1996). Dans ce cas, l'intervention de parasitoïdes pourrait accroître la dispersion du virus.

Les parasitoïdes

La définition du terme parasitoïde s'applique pour les organismes qui ont l'aptitude de tuer leur hôte unique après avoir complété leur développement à l'extérieur (ectoparasitisme) ou à l'intérieur (endoparasitisme) de celui-ci (Eggleton & Gaston, 1990; Godfray, 1994). Ce terme a été introduit par Reuter en 1913, mais ce n'est que depuis les années 1970 que ce terme a été accepté et est devenu universel (Godfray, 1994).

Les parasitoïde de pucerons sont généralement solitaires ce qui veut dire qu'un seul hôte est requis pour que le parasitoïde complète son développement. On peut distinguer entre les parasitoïdes koinobiontes dans le cas où l'hôte parasité n'est pas tué au moment de la ponte et que la larve de parasitoïde se

développe dans un hôte qui continue à se nourrir et à se développer (Boivin *et al.*, 2012), et les parasitoïdes idiobiontes dans le cas où le parasitoïde tue son hôte au moment de la ponte (Godfray, 1994). Les parasitoïdes sont largement connus et utilisés dans la lutte biologique avec 80% de succès (Van Lenteren & Bueno, 2003; van Lenteren & Woets, 1988). Ils peuvent exercer un effet de régulation sur la population de puceron grâce à leur cycle de vie et de leur faible temps de développement. Néanmoins, on trouve un taux relativement faible de parasitisme dans les conditions de terrain (Langer *et al.*, 1997; Thies *et al.*, 2005). De plus, la femelle n'a pas la capacité d'exploiter une colonie entière de pucerons et elle gère son temps de résidence dans le patch afin de maximiser sa fitness en quittant la colonie à la recherche de patch plus profitable en terme de gain de fitness (Charnov, 1976).

La majorité des parasitoïdes et surtout les parasitoïdes de pucerons appartiennent à deux ordres d'insectes : les Diptères et les Hyménoptères. On s'intéresse dans notre étude aux parasitoïdes de pucerons qui sont des endoparasitoïdes qui appartiennent à l'ordre des Hyménoptères, de la famille Braconidae (Ichneumonoidea) et de la sous- famille Aphidiinae, qui est la seule strictement soumise aux pucerons, et qui comporte un grand nombre de parasitoïdes, environ 210 en Europe et 600 dans le monde (Boivin *et al.*, 2012).

On peut distinguer entre les parasitoïdes généralistes qui parasitent plusieurs espèces sur différentes plantes et d'autres

spécialisés qui parasitent une seule espèce sur la même plante. Les deux types de parasitoïdes utilisent des signaux pour trouver leurs hôtes (Stilmant *et al.*, 2008). Ces signaux peuvent être physiques tels que la couleur, la taille d'hôte et la forme, ainsi que chimiques tels que les sécrétions cornicules (Hatano *et al.*, 2008). Bien que les espèces généralistes aient la capacité de parasiter une large gamme d'hôtes, les spécialistes ont montré plus d'efficacité en parasitant un seul hôte avec une plus grande capacité de localisation (Strickler, 1979). D'après Vinson (1976), les parasitoïdes sélectionnent leurs hôtes en trois étapes : la première est la localisation de la plante hôte de l'espèce des pucerons, la deuxième est de localiser les pucerons une fois que les parasitoïdes sont présents sur cette plante. La troisième et la dernière étape, est d'accepter l'hôte qui se présente par l'acte d'oviposition. Michaud & Mackauer (1994), Mackauer *et al.* (1996) et Muratori *et al.* (2006) ont divisé la dernière étape en deux : reconnaître l'hôte et l'accepter. En effet, le parasitoïde peut connaître son hôte visuellement ou par ses contacts antennaires à l'aide de signaux chimiques émis par la cuticule des pucerons. Cependant, accepter l'hôte dépend de l'évaluation de la qualité de l'hôte qui est réalisée lors de contacts ovipositeur (adéquation d'hôte) (Hatano *et al.*, 2008).

Cycle de vie de parasitoïdes

Les parasitoïdes des Aphididae sont des endoparasitoïdes (à l'intérieur des pucerons), solitaires (un seul individu émergera de l'hôte), koïnobiontes (l'hôte n'est pas tué au moment de la ponte),

leur taille varie de 1 à 3 mm et ils font parties des insectes holométaboles dont le cycle de vie est composé de quatre stades : l'œuf, la larve, la pupe et l'adulte. Les adultes se nourrissent essentiellement de miellat mais aussi sur les nectaires extra-floraux de certaines légumineuses ou de nectar de fleurs (Starý, 1970). En effet, la nourriture et surtout le sucre est indispensable pour la survie de parasitoïdes. La nourriture des adultes est utile pour la fécondité en affectant positivement la maturité des œufs et augmentant l'espérance de la vie reproductive. De plus elle affecte la tendance des parasitoïdes à chercher leurs hôtes (Wackers, 2004).

Après l'accouplement la femelle explore les colonies de pucerons et dispose d'un spectre d'hôtes en général défini (d'une seule espèce à plusieurs suivant la spécificité du parasitoïde). Une fois que l'hôte est accepté par la palpation des antennes, la femelle ramène son abdomen en avant entre les pattes jusqu'à ce que l'ovipositeur soit en contact avec le puceron, puis elle pond son œuf dans différentes parties du corps. La larve de parasitoïde se développe en 3 stades larvaires dans la cavité générale du puceron, puis à la fin de son cycle, elle attaque les parties vitales, provoquant la mort du puceron. Elle tisse alors un cocon généralement à l'intérieur du puceron en formant une momie fixée au support par de la soie. Cette momie de forme globuleuse peut être de couleur claire (blanc à cuivré) ou noire suivant les espèces ou les genres. L'adulte du parasitoïde en émerge après avoir découpé un opercule (Turpeau *et al.*, 2013) (Figure 2). Il a été

proposé par plusieurs chercheurs qu'après la ponte, la larve de parasitoïde se développe en trois stades larvaires, cependant, d'autres ont proposé le développement en quatre voire cinq stades larvaires. L'hypothèse de quatre stades larvaires était plus acceptable, mais une étude quantitative sur 22 espèces qui appartiennent au Aphidiinae a supporté la première hypothèse de trois stades (Muratori *et al.*, 2004; Sabri *et al.*, 2011).

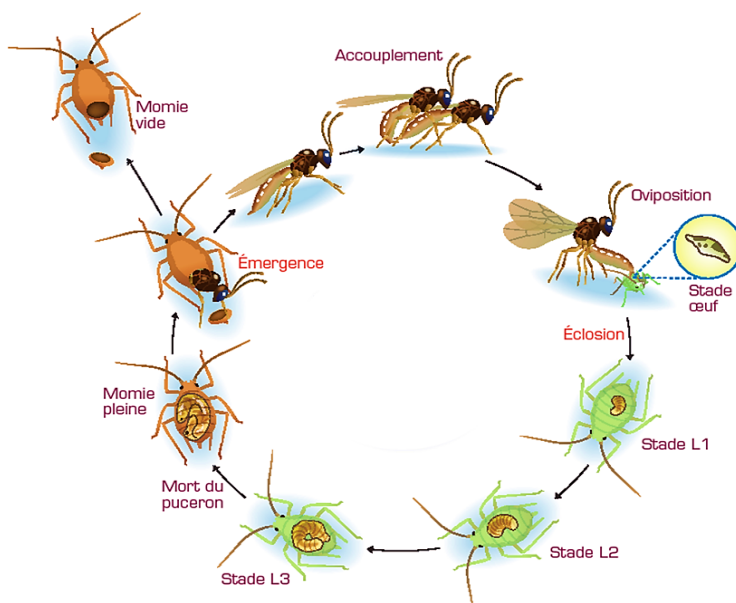


Figure 2. Cycle de vie caractéristique d'un parasitoïde de puceron D'après Chaubet (2010).

Le cycle complet du parasitoïde, de la ponte à l'émergence, peut s'effectuer en 15 jours à une température de 20°. Le nombre des œufs pondus peut atteindre environ 300 œufs. Le sexe ratio de la

descendance est choisi par la femelle en fonction de son état physiologique et des conditions du milieu dans lequel elle se trouve. Seuls les œufs fécondés par des mâles donnent des femelles et les œufs non fécondés donnent des mâles (Muller *et al.*, 1997). Toutefois il existe chez les parasitoïdes quelques cas pour lesquels les femelles se reproduisent d'une manière assexuée par parthénogenèse thélytoque (les femelles engendrent des femelles sans fécondation) comme par exemple chez *Lysiphlebus fabarum* (Turpeau *et al.*, 2013) .

Importance de parasitoïdes

Les parasitoïdes en général peuvent être classés, selon le stade auquel l'hôte est attaqué comme parasitoïdes d'œufs, des larves et des pupes (Godfray, 1994; Greathead, 1986). Les parasitoïdes de pucerons ont la capacité de s'attaquer à tous les stades. Ils sont de plus en plus utilisés dans les programmes de lutte biologique contre les pucerons (Boivin *et al.*, 2012; Hance *et al.*, 2017; Jacek *et al.*, 2005; Minks & Harrewijn, 1989) pour leur capacité à réduire considérablement le taux d'infestation par les insectes ravageurs (Boivin, 2001). Plusieurs espèces de la sous-famille Aphidiinae ont montré une grande efficacité vis-à-vis de la réduction sous le seuil économique des populations de pucerons (ailés ou aptères) qui sont responsables de la propagation des maladies virales. Cette efficacité apparaît par l'empêchement de la dispersion de pucerons en réduisant la population de pucerons (nombre de pucerons aptères) et la possibilité d'avoir des

individus ailés (Hodge *et al.*, 2011; Van Driesche & Bellows, 1996; Weber *et al.*, 1996). De plus, les parasitoïdes sont capables de trouver leurs hôtes même à basse densité, ils ont un haut taux de fécondité (Starý, 1988) et un bon taux de survie (un seul hôte est suffisant afin de compléter le développement) (Milne, 1986).

La bonne réputation des parasitoïdes à réduire le nombre de pucerons est bien connue dans les cultures sous serre. En effet, elles occupent une espace très importante qui représente environ 45 000 ha au niveau mondial et surtout un apport économique important (van Lenteren & Woets, 1988). Les pucerons sont parmi les principaux ravageurs de cultures en zone tempérée (Rabasse & van Steenis, 1999). Ils sont caractérisés par une croissance très rapide, une dispersion et une capacité à coloniser une large gamme hôtes (Dedryver *et al.*, 2010). Bien que les premières tentatives d'utiliser les parasitoïdes dans le but de contrôler les pucerons sous les serres datent d'environ plus de 40 ans (Lyon, 1968; Rabasse, 1980), un nombre limité d'espèces sont actuellement utilisées et produites en masse (Hance *et al.*, 2017). Toutefois, pour la réussite de cette méthode, des recommandations mises en place par les producteurs d'agents de contrôle biologiques sont indispensables à respecter. Par exemple, afin de bien contrôler les pucerons *Myzus persicae* ou *Aphis gossypii*, il faut lâcher 0,15 *Aphidius colemani* / m² dans les cas préventifs et 1,5 individu / m² les cas fortement infestés. De même, ces chiffres ont été recommandés pour le cas d'*Aphidius ervi* afin de contrôler *Macrosiphum euphorbiae* (van

Lenteren *et al.*, 1997; van Lenteren & Tommasini, 2003; van Lenteren & Woets, 1988).

Le comportement des parasitoïdes

La réussite d'un parasitisme exige aussi une série d'interactions entre les parasitoïdes, leurs hôtes et plantes hôtes et comprend une série d'étapes comportementales y compris, comme on l'a vu précédemment, la recherche de l'habitat, la localisation de l'hôte, l'acceptation de l'hôte et l'adéquation de l'hôte (Hatano *et al.*, 2008; Rasekh *et al.*, 2010a; Rasekh *et al.*, 2010b; Vinson, 1976).

La recherche et l'évaluation d'hôte

La réussite d'une lutte biologique dépend de la capacité du parasitoïde de reconnaître et de parasiter son hôte. Le degré de spécificité peut varier fortement. Les parasitoïdes de pucerons présentent différents niveaux de spécialisation, certains sont inféodés à quelques espèces précises (spécifiques) alors que d'autres seront sensibles à une espèce particulière mais pourront attaquer plus d'espèces différentes (Sigsgaard, 2000). Il est donc important de comprendre le comportement de choix du parasitoïde vis-à-vis son hôte principal par rapport à des hôtes alternatifs dans une culture, avant toute application dans les champs (Dorn *et al.*, 1999; Hopkinson *et al.*, 2013). En effet, plusieurs espèces de pucerons peuvent se trouver sur la même plante ou des plantes proches. Les parasitoïdes cherchent leurs hôtes et les localisent même à faible densité sur base de signaux

sémiochimiques ou de repères visuels (Guerrieri *et al.*, 2002) et ils peuvent répondre aux signaux lors d'un contact antennaire ou ovipositeur (Larocca *et al.*, 2007; Muratori *et al.*, 2006).

La sélection d'hôte consiste à choisir son espèce, son stade de développement et à distinguer son statut, sain ou parasité (van Alphen & Vet, 1986). Différents critères permettent aux femelles de choisir leurs hôtes : la taille, la nutrition et l'âge (Godfray, 1994; Olson *et al.*, 2000). Cette sélection peut aussi être influencée par l'insecte hôte, la plante sur laquelle les insectes hôtes se nourrissent et par l'hôte sur lequel les femelles se sont développées auparavant (Chau & Mackauer, 2001). De plus, le comportement de la sélection des parasitoïdes peut être modifié en fonction de l'état physiologique du parasitoïde, telles que la charge d'œuf à l'émergence (Desneux *et al.*, 2009) et de l'expérience précédente. Par exemple, les femelles qui ont un temps limite avec des charges élevées d'œufs sont plus susceptibles d'accepter des hôtes moins appropriés que les femelles avec de faibles charges d'œufs et une espérance de vie élevée (Hopper *et al.*, 2013).

L'évaluation d'hôtes sur les plantes endommagées par le virus

Le comportement de recherche de l'hôte des parasitoïdes est fortement lié avec l'environnement qu'ils exploitent (Wajnberg, 2012). Les hôtes sont distribués dans l'environnement d'une manière hétérogène, sur différentes plantes hôtes, dit saines, qui peuvent être infectées par les pucerons non porteurs du virus ou sur plantes hôtes malades infectées par des pucerons porteurs du

virus. Les femelles parasitoïdes doivent parasiter le plus grand nombre possible d'hôtes adéquats afin de maximiser les chances de survie de progéniture. Pour cela, ces femelles doivent faire une évaluation des plantes hôtes, et de la qualité du puceron hôte afin de faire le choix optimal pour leur progéniture.

Dans les systèmes tritrophiques complexes ou les cascades tritrophiques, comme les systèmes virus-plante-parasitoïdes partageant un hôte commun (les pucerons), chaque niveau interagit directement ou indirectement avec les autres niveaux, ce qui peut finalement influencer l'ensemble du système (Finke, 2012). Cette interaction ou cascade est gérée par deux forces qui sont les responsables de la régulation des populations de phytophages : cascade Top down, où la régulation des phytophages est faite par les niveaux trophiques supérieurs (ennemis naturels), et cascade Bottom up, où la régulation est faite par la plante (Hunter & Price, 1992). Les deux cascades peuvent être influencées par les changements environnementaux dus aux facteurs biotiques ou abiotiques. Par exemple, il a été montré par Petermann *et al.* (2010) et Winter & Rostás (2010) en laboratoire que l'absence d'azote peut conduire à une diminution du poids des phytophages. Ainsi que la mécanique de défenses des plantes peut également influencer les performances des phytophages, comme les trichomes (défenses physiques) chez *Solanum sisymbriifolium* qui augmentent la mortalité des larves de *Gratiana spadicea* (Medeiros & Moreira, 2005). De même, les défenses chimiques chez certaines espèces de plantes comme les

alcaloïdes ou les glycosides peuvent réduire les performances des phytophages *Manduca sexta* et *Trichoplusia ni* (Barbosa *et al.*, 1991; Constance Agbogba & Powell, 2008; Lampert & Bowers, 2010).

De plus, l'effet Bottom up des plantes peut influencer d'une manière directe ou indirecte le niveau trophique supérieur, en réduisant l'effet Top down ou au contraire le renforcer en attirant ces ennemis naturels. Par exemple, l'absence d'azote diminue les performances de phytophages qui à leur tour diminuent indirectement les performances de leurs ennemis naturels (Petermann *et al.*, 2010). Toutefois, la plante peut modifier les composés volatiles émis par lesquelles les ennemis naturels seront attirés et sont alors capables de reconnaître les plantes attaquées par leurs phytophages (Constance Agbogba & Powell, 2008). Bien que les deux cascades sont étudiés séparément, elles n'agissent pas indépendamment mais interagissent de manière complexe (Chesnais, 2016; Dicke & Hilker, 2003).

Les interactions entre les virus, leurs vecteurs et les parasitoïdes ont attiré une grande attention, en particulier les effets des plantes malades sur leurs insectes phytophages (effet Bottom-up) (Markkula & Laurema, 1964). En effet, un virus peut affecter drastiquement le phénotype de la plante hôte ou altérer les traits qui peuvent à leurs tours affecter le comportement du vecteur (Blua *et al.*, 1994) ou des ennemis naturels de ce vecteur (Christiansen-Weniger *et al.*, 1998; de Oliveira *et al.*, 2014; Finke, 2012; Mauck *et al.*, 2015). De tels changements induits par

le virus, peuvent jouer un rôle dans le choix des pucerons de coloniser une plante adéquate, en l'estimant comme un hôte supérieur ou inférieur (Blua & Perring, 1992; Castle *et al.*, 1998).

Le comportement des pucerons pourrait, à son tour, être manipulé par le virus d'une manière indirecte ou d'une manière directe. En général, la plupart des virus persistants améliorent la qualité alimentaire des plantes infectées pour les pucerons ce qui influence les traits des vecteurs. Par contre, les virus non persistants réduisent leurs qualités en partie, en altérant la concentration d'acides aminés dans la sève du phloème et les taux de glucides dans les feuilles (Calvo & Fereres, 2011; Castle & Berger, 1993; Jensen, 1972) ce qui pousse les vecteurs à quitter rapidement les plantes infectées pour disperser vers des plantes saines (Mauck *et al.*, 2010). Ce changement correspond donc à une manipulation indirecte du vecteur, et affecte son développement, son taux de croissance, la taille du corps, la reproduction et la longévité (Jimenez-Martinez & Bosque-Perez, 2004; Srinivasan *et al.*, 2008). De plus, le comportement peut être influencé par le mode de transmission de ce virus ainsi que la spécificité de transmission. En effet, Chesnais *et al.* (2017) ont fait une étude sur les effets de l'infection de la cameline par le virus non circulant de la mosaïque de chou (CaMV) ou par le virus circulant de la jaunisse de navet (TuYV) sur la fitness et le comportement de deux espèces de pucerons différant dans l'efficacité de la transmission virale : *M.persicae* qui transmet les deux virus et *Brevicoryne brassicae* qui est spécialiste de la

transmission du virus (CaMV). Dans cette étude, ils ont confirmé le rôle important du mode de transmission puisque les effets indirects du CaMV sur les deux espèces de pucerons ont induit des changements négatifs du comportement alimentaire et des performances qui était favorable pour la propagation du virus. De plus, ils ont trouvé que l'efficacité des pucerons à transmettre les virus a joué un rôle dans la manipulation des vecteurs. Cette manipulation dite directe est efficace dans les cas particuliers des virus persistants où le virus doit circuler dans le vecteur avant de pouvoir compléter sa transmission à la plante hôte. Par conséquent, le virus donc affecte directement la physiologie ou le comportement du vecteur (Chesnais, 2016; Chuche *et al.*, 2016). Elle a été testée sur le choix en distance des pucerons porteurs de deux virus (*Potato leafroll virus* PLRV et *Barley yellow dwarf virus* BYDV), et a montré que ces derniers préfèrent de s'installer sur des plantes saines tandis que les pucerons non porteurs préfèrent aller sur des plantes infectées, ce qui conduit à une propagation favorable du virus dans les champs (Chesnais, 2016; Roosien *et al.*, 2013). De plus, la durée totale du comportement alimentaire de pucerons porteurs de virus sur une plante infectée était plus élevée que ceux-ci sur une plante non infectée (Lei *et al.*, 2016). Les changements physiologiques dans la réaction de défense des plantes peuvent coïncider avec les changements de la qualité de la plante (Firlej *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2002), ce qui conduit chez les vecteurs à un changement du comportement, des performances et de leurs interactions avec les plantes et avec leurs ennemis naturels (Bottom up).

En outre, l'inoculation par le virus (persistant ou non persistant) pourrait entraîner des changements dans la composition des composés organiques volatils **VOC** (Bosque-Perez & Eigenbrode, 2011; Eigenbrode *et al.*, 2002; Visser *et al.*, 1996). Ces changements peuvent jouer un rôle sur le comportement des pucerons qui deviennent préférentiellement attirés vers les plantes infectées (Mauck *et al.*, 2010). De plus, les composants volatiles sont essentiels pour l'attraction des ennemis naturels (Holopainen & Gershenzon, 2010), ils sont particulièrement importants pour le comportement d'exploration des parasitoïdes qui devraient recueillir des informations provenant de différents endroits à différents moments pour faire des choix appropriés car la quantité et la qualité des ressources varient dans l'espace et le temps (Bell, 1990; Fitzhugh & Habu, 2002). En résumé, l'inoculation par le virus entraînerait des changements physiologiques dans la plante, qui par la suite affectent la qualité, le comportement et les efficacités des pucerons qui s'y développent. Enfin, une influence pourrait être remarquée sur la propagation du virus et la performance des parasitoïdes qui attaquent les pucerons.

La stratégie d'exploitation et la décision de ponte

Afin de maximiser les chances de réussite d'une future lutte biologique, le comportement de ponte des parasitoïdes et en particulier leur façon d'optimiser leur temps de vie pour maximiser leur fitness est un point central à étudier (van Alphen *et al.*, 2003).

Après émergence et accouplement, le parasitoïde commence à chercher ses hôtes qui sont distribués dans des patches de valeurs différentes, soit au sein de la colonie où il a émergé, soit en se dispersant sur de longues distances lorsque le nombre d'hôtes est limité au sein de cette colonie (Weisser *et al.*, 1997). Alors les femelles doivent adapter le temps passé dans les différents patches en fonction de ressources qui y sont disponibles. Une fois que le parasitoïde a trouvé l'agrégat à exploiter, plusieurs facteurs influencent son comportement et son temps de résidence sur le patch tels que son âge, la fatigue, la prédation le superparasitisme, le taux de ponte et les risques liés au déplacement entre les patches (Boivin *et al.*, 2004; Boivin *et al.*, 2012).

Charnov en (1976) était le premier à proposer un théorème s'intitulant le Théorème de la Valeur Marginale par lequel il décrit le gain de valeur adaptative du parasitoïde et le moment optimal auquel il prend la décision de quitter l'agrégat pour en chercher un autre plus profitable. Le taux marginal de gain de fitness est représenté ici par la pente de la tangente à la courbe. Plus le temps de résidence augmente, plus le taux marginal de gain de fitness diminue selon le nombre d'hôtes parasités. Selon ce modèle, la femelle doit quitter le patch au moment où le taux instantané de découverte devient inférieur à la valeur moyenne de ce taux dans le milieu (Figure 3).

Ce modèle est basé sur trois prédictions principales, la première est que la femelle reste plus longtemps dans l'agrégat dont la densité d'hôte est élevée, la seconde que la femelle reste plus

longtemps lorsque la distance entre les différents patchs est grande surtout avec le risque de ne pas trouver un patch ou le risque de prédation, et la troisième, lorsque la femelle quitte un patch, tous les autres patchs exploités devraient être ramenés à la valeur marginale de l'habitat. Ce modèle a été critiqué et ne peut toutefois pas être appliqué concrètement car il considère que l'individu est omniscient et qu'il ait une connaissance de l'abondance et la distribution de ses hôtes dans l'environnement.

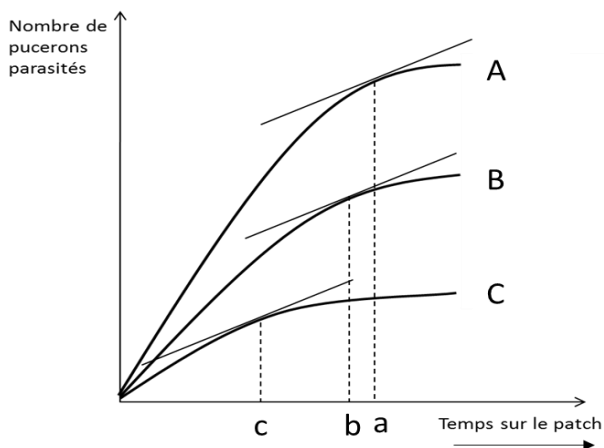
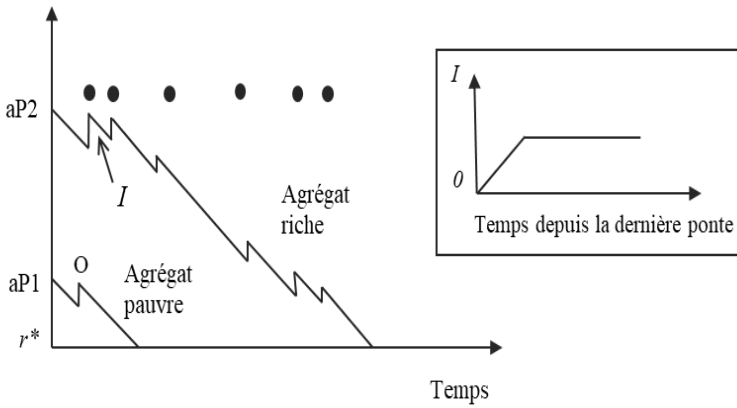


Figure 3. Courbes de fonction de gain, représentation graphique du théorème de la valeur marginale de Charnov (Luczynski *et al.*, 2007). Les courbes de nombre cumulé d'hôtes parasités au cours du temps sont différentes suivant la qualité du patch. A : Patch riche et C : patch pauvre en hôtes. D'après le théorème, le parasitoïde doit quitter le patch lorsque le taux de gain marginal (tangente à la courbe) est égal au taux moyen de l'habitat. Plus le patch est de bonne qualité, plus le temps de résidence est élevé (Godfray, 1994; Muratori *et al.*, 2006).

De ce fait, deux modèles mécanistiques ont été proposés par Waage (1997) et Driessen *et al.* (1995) afin de comprendre comment la femelle va décider de quitter ou rester dans le patch. Les modèles sont basés sur la motivation d'une femelle de rester dans le patch et de déterminer son temps optimal de résidence. Ils considèrent que la femelle entre dans un patch avec une petite tendance d'y rester, notée (r), et basé sur l'attractivité de l'odeur émise par l'hôte (kairomones perçues et liées à la densité des pucerons), qui est très importante dans le patch riche. Cette motivation d'y rester décroît d'une manière linéaire avec le temps passé depuis l'entrée dans le patch jusqu'à un seuil minimal (r^*). La rencontre d'hôtes et le nombre de ponte ont été impliqués dans les deux modèles mécanistiques, une ponte d'œuf donne un message à la femelle qu'il y a d'autres hôtes à exploiter, donc plus de motivation à rester, dit effet incrémental (Waage, 1979). Par contre, d'après Driessen *et al.*, (1995), chaque ponte accélère le départ d'un parasitoïde qui estime qu'il ne reste plus d'hôtes à exploiter, dit effet décrémental (incrément négatif) sur la tendance à rester (Figure. 4).

A



B

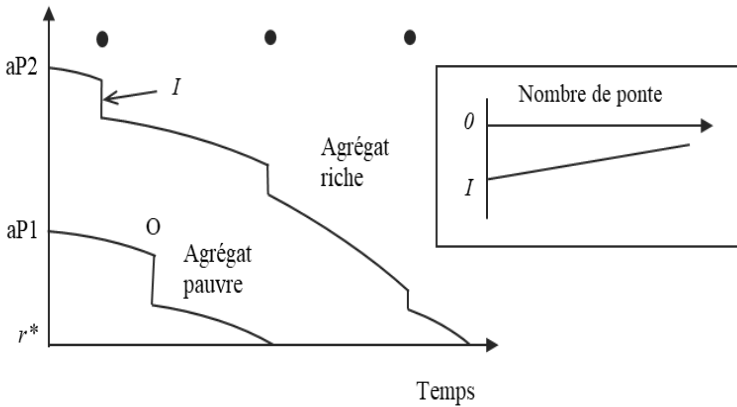


Figure 4. Représentation graphique des mécanismes déterminant le temps de résidence. Les cercles pleins représentent des pontes dans les agrégats riches, les cercles vides représentent des pontes dans les agrégats pauvres. (A) dans le modèle de Waage (1979), la tendance à rester augmentée d'un incrément, i , à chaque ponte. (B) Le cas du modèle de Driessen *et al.* (1995), il s'agit d'un incrément négatif, la tendance à rester est donc diminuer à chaque ponte d'après Driessen *et al.* (1995) et Muratori *et al.* (2006)

Selon ces différents modèles (incrémentaux, décrémentationaux), le temps de résidence optimal est influencé par le taux de kairomones présent sur le patch lié à la densité d'hôtes, le nombre de rencontres dans les patches précédents, temps de trajet entre les différents patches, (Boivin *et al.*, 2004; Driessen & Bernstein, 1999; Outreman *et al.*, 2005). Un autre modèle s'intitulant « modèle d'approvisionnement optimal avec apprentissage » a été développé par Houston & McNamara (1986). Ce modèle est basé sur la plasticité comportementale chez les parasitoïdes parlant de leur capacité d'apprentissage. Il considère que le parasitoïde est capable d'estimer à priori la qualité de l'agrégat qu'il exploite, puis il adapte son comportement de ponte et modifie sa décision en s'appuyant sur son expérience acquise au cours de précédentes rencontres avec d'autres hôtes (Vet & Dicke, 1992)

Modèles biologiques

La betterave

La betterave (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*) est une plante dicotylée faisant partie de la famille des Chénopodiacées (Donohue *et al.*, 2002). Elle est originaire d'Asie mineure, puis elle a été répandue dans la zone méditerranéenne et l'Europe (Bosemark, 2011). C'est une plante bisannuelle se comportant parfois en plante annuelle (Smith, 1987). Dans la première année c'est la phase végétative : développement des feuilles et constitution de la racine charnue, accumulation de réserves en sucre, et dans la deuxième année : la montaison, floraison et la grenaison (Caneill & Bodet, 1994). En Belgique, un grand nombre de cultivars différents de betterave ont un intérêt économique, comme la betterave sucrière (*var. altissima*), la betterave fourragère (*var. crassa*), la betterave potagère (*var. conditiva*) ou encore la bette (*var. cicla*) (Donohue *et al.*, 2002; Fadamiro & Heimpel, 2001). La variété de betterave utilisée dans toutes les expériences était une variété Iranienne (MLD2-C651-F1C).

Maladies et ravageurs de la betterave

La culture de betterave est toujours menacée par les agents pathogènes et les ravageurs de la betterave qui peuvent être autant foliaires que racinaires (Hance *et al.*, 1991). Plusieurs maladies ont été remarquées en Wallonie en 2012, telles que l'Oïdium (*Erysiphe betae*), la Cercosporiose (*Cercospora beticola*) ou la Ramulariose (*Ramularia beticola*). Elle est aussi attaquée par de

nombreux ravageurs tels que des nématodes à kyste, des tipules, des acariens etc. ainsi que par les pucerons qui sont parmi les ravageurs les plus importants des cultures de betteraves (Hosken & Pitnick, 2003).

Le puceron noir de la fève *Aphis fabae* Scopoli, 1793

Aphis Fabae Scopoli (Homoptera : Aphididae), est l'une des espèces de pucerons parmi les plus importantes comme ravageur sur plusieurs cultures dans le monde (plus de 200 hôtes dans plus de 20 familles de plantes) (Vogl & Stechmann, 1998). Il représente la seconde espèce de puceron, après *Myzus persicae*, qui cause des dommages en grand culture en France (Hulle *et al.*, 2011). *M. persicae* colonise la betterave sucrière plus tôt que *A. fabae* et ses populations diminuent également plus tôt. Bien que des nombres similaires de chaque espèce migrent au moment de la colonisation, *M. persicae* est généralement moins abondant sur la culture que *A. fabae*. De plus, le taux de croissance intrinsèque d'*A. Fabae* est une fois et demie supérieure à celui de *M. persicae*, et le taux maximal de la population est 14 fois supérieure que celui de *M. persicae* (Williams *et al.*, 1999).

L'adulte *Aphis fabae* mesure entre 1,5 et 2,6 mm, de couleur sombre noir à verdâtre. Les nymphes ont des stries blanches sur l'abdomen et les individus ailés sont noirs, trapus avec une cauda courte (Turpeau *et al.*, 2013) (Figure. 5). Ce puceron est un vecteur de plus de 30 phytovirus différents comme des virus

persistants chez les Brassicacées, Astéracées et des virus non persistant qui attaquent les Fabaceae, Chenopodiaceae, Solanaceae, Apiacées, Astéracées et les Cucurbitaceae (Chesnais, 2016).

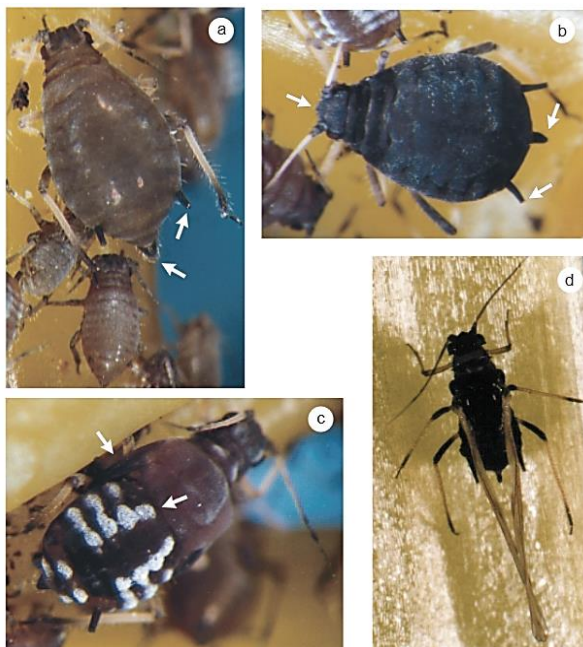


Figure 5. Le puceron *A. fabae*.: a : stades larvaires, b : adulte aptère, c : larve avec stries sur l'abdomen, d : adulte ailé d'après Boivin and Godin (2002).

Cycle de vie d'A. fabae

Ce puceron a un cycle dioécique. A l'automne, il dépose ses œufs pour hiverner sur les hôtes primaires comme le fusain d'Europe (*Eunymus europea*), la Boule de neige (*Viburnum opulus*), ou le

Seringat (*Philadelphus sp.*) (Duffus, 1971). Au printemps, les pucerons qui éclosent à partir de ces œufs, sont des femelles sans ailes, connues sous le nom de fondatrices. Elles sont capables de se reproduire de manière asexuée par « parthénogenèse » qui n'implique pas d'accouplement et qui donnent naissance à des femelles et peuvent se reproduire aussi sans s'accoupler. La génération suivante produit généralement des formes ailées, et celles-ci entreprennent des migrations vers les hôtes secondaires comme la fève (*Vicia fabae*), l'épinard (*Spinacia oleracea*) et la betterave (*Beta vulgaris*) à partir de mai. La reproduction asexuée (nymphes aptères) sur ces hôtes permettent à de grandes populations de se développer rapidement. Des formes à ailes et sans ailes se multiplient tout au long de l'été. Vers l'automne, la migration vers les hôtes primaires se produit, et c'est sur ces plantes que les femelles accouplées pondent des œufs qui hiverneront, ce qui permettra au cycle entier de recommencer l'année suivante (Blackman & Eastop, 2000; Chinery, 1993) (Figure. 6).

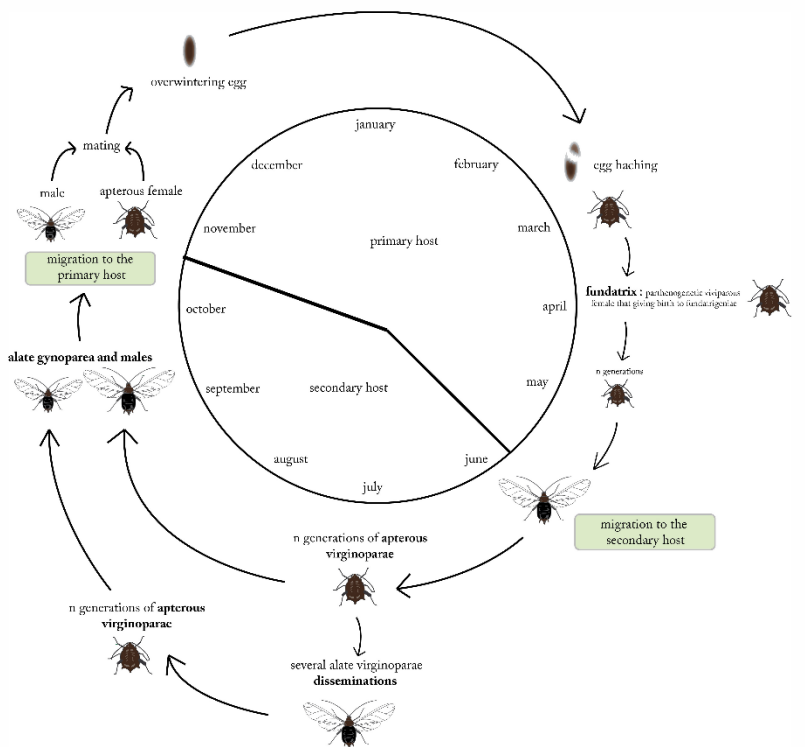


Figure 6. Cycle de vie diœcique du puceron *A. fabae* Scopoli dessiné par Delphine Bourdais.

Le climat a une influence sur le cycle d'*A. fabae*, par exemple, lors d'hivers froids, le cycle de vie sera classique avec une reproduction d'individus sexués tandis qu'en cas d'hiver plus doux, le puceron se reproduira comme une espèce anholocyclique et demeurera sur les hôtes secondaires (Sandrock *et al.*, 2011; Thacker *et al.*, 1997).

Importance économique et dégât causés

Aphis fabae est une espèce polyphage, il s'attaque à plus de 200 espèces de plantes qui appartient à plusieurs familles :Fabaceae, Chenopodiaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Solanaceae et diverses cultures florales et ornementales (Fernandez-Quintanilla *et al.*, 2002). Chaque année, les pertes dans la production de féverole (*Vicia fabae*) et de betteraves sucrière (*Beta vulgaris*) causées par *A. fabae* peuvent dépasser 60% (Hurej & Vanderwerf, 1993). Il peut affecter directement la croissance de la plante en prélevant la sève, ce qui entraîne une chlorose dû à une insuffisante de chlorophylle, ainsi qu'une perte de fleurs (Blackman & Eastop, 2000). De plus, il produit le miellat favorisant la croissance de plusieurs champignons qui entravent la photosynthèse et affaiblissent les plantes (Hurej & Vanderwerf, 1993). Cependant, le principal dommage causé par *A. fabae*, est son rôle comme vecteur pour le virus de la jaunisse de betterave qui affecte la croissance des plantes et réduit le stockage du sucre dans les racines (Clover *et al.*, 1999; Simpson *et al.*, 2012). *A. fabae* peut donc affecter gravement la production végétale à travers de multiples mécanismes.

Le virus de la jaunisse de betteraves *Beet Yellows Virus* (BYV)

Le virus de la jaunisse de la betterave est une maladie économiquement importante de la betterave à sucre *Beta vulgaris* ssp. Des études en Europe (Russell, 1958, 1965; Smith &

Hinckes, 1985) ont montré que cette maladie est le plus souvent causée par le virus de la jaunisse modérée de la betterave (BMYYV, groupe lutéovirus) ou par le virus de la jaunisse grave de la betterave (BYV, groupe closterovirus) auquel on s'intéresse dans notre étude.

Le *Beet Yellows Virus* **BYV** décrit en 1936 (Russell, 1965) est de la famille des Closteroviridae. Les membres prototypes du genre *Closterovirus* sont caractérisés par leurs grands génomes d'ARN et virions exceptionnellement longs (Dolja, 2003). Il est transmis via le mode semi-persistant par au moins par 22 espèces de pucerons, comme *Rhopalosiphum padi* (L.), *Acyrtosiphon kondoi* Shinji, et *Diuraphis noxia* (Mordvilko), les plus importants sont le puceron vert de pêcher *M. persicae* (Sulzer) et le puceron noir de la fève *A. fabae* Scopoli (Bennett 1960), qui se développent et colonisent la plante de betterave (Chénopodiacées). Ces deux espèces de puceron sont les plus fréquemment rencontrées et les plus dommageables en culture de betteraves en Belgique (Tits & Laanen, 2005). En Europe, le risque du virus de la jaunisse dans les cultures de betteraves est fondé sur l'abondance des pucerons ailés sur les plantes (Dewar *et al.*, 1996) qui sont responsables de la première infection en champs (Heathcote & Cockbain, 1966) mais aussi sur l'attaque par d'autres espèces qui ne sont pas considérées comme des pucerons qui colonisent la culture de betterave (Summers *et al.*, 1990).

Importance économique et dégâts causés

Le virus infecte 121 espèces dans 15 familles, la plupart des espèces infectées appartiennent aux Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Aizoaceae et Caryophyllaceae (Duffus, 1973). Lors de l'infection des betteraves avec le BYV, les feuilles deviennent épaisses et cassantes, tandis que l'amidon et la teneur de sucre sont en augmentation (Goodman *et al.*, 1965; Watson & Watson, 1951) et la capacité photosynthétique de la plante diminue (Hall & Loomis, 1972a, b). Les symptômes se développent sur les feuilles inoculées par les pucerons porteurs de virus, puis sur les autres feuilles infectées par voie systémique via le virus qui a été transporté par le phloème. L'infection systémique s'étend à quelques jeunes feuilles présentes dans le cœur de la plante et à toutes les feuilles qui apparaissent plus tard (Roseboom & Peters, 1984). Les symptômes du BYV provoquent la décoloration des nervures dans les premières feuilles après l'infection, puis les feuilles systématiquement infectées deviennent jaunes quand elles arrivent à l'âge de maturité et présentent des taches rouges ou nécrotiques typiques par la suite. Les pertes et dégâts sont exprimés par un pourcentage de la production de betterave par hectare et sont influencés par la date d'infection (i.e, une infection précoce conduit à une perte très élevée). Une comparaison d'analyse de croissance entre les betteraves saines et les betteraves infectées par BYV le 5 juin (stade de 8 feuilles), a montré une production de 44,800 kg/hectare de racine pour les plantes infectées tandis que les plantes saines donnaient une production de 92,900 kg/hectare. En revanche une infection en 14

juillet (stade de 28 feuilles) conduit à une réduction de rendement mais à une production qui arrive à 86, 800 kg/hectare (van der Werf, 1988).

Lysiphlebus fabarum* (Marshall, 1896), parasitoïde d'*Aphis fabae

Lysiphlebus fabarum (Hymenoptera: Braconidae : Aphidiinae) est une espèce multivoltine et thélytoque (population asexuée) solitaire koinobionte (Nemec & Sary, 1985; Nuessly *et al.*, 2004). Il est le parasitoïde le plus abondant d'*A. fabae* dans les agroécosystèmes d'Europe centrale (Starý, 1970). Il complète ses étapes du développement dans le corps du puceron (Carver, 1989; Volkl & Stechmann, 1998) (Figure. 7).

L'analyse du temps de développement de *L. fabarum* montre qu'en moyenne il s'écoule $10 \pm 0,26$ jours entre la ponte et l'émergence à 20 C°. La durée de vie moyenne de l'adulte est de 13 jours, mais cette durée varie en fonction de la disponibilité en nourriture, en pucerons, en plantes, en fonction des temps de recherches actives des femelles et des conditions environnementales (température, humidité et de photopériode) (Matin *et al.*, 2009).



Figure 7. À droite Une femelle de *L. fabarum* abdomen replié, prête à pondre. À gauche : photo prise à la loupe binoculaire d'un individu de l'espèce *L. fabarum* (Chaubet, 2010)

L. fabarum a une caractéristique qui le rend peut-être unique chez les Aphidiinae, il s'agit de sa capacité de solliciter le miellat directement des pucerons comme le ferait les fourmis. En conséquence, il se sert activement des pucerons comme une source de nourriture via le miellat autant que comme un hôte pour la ponte (Rasekh *et al.*, 2010b). Ce comportement peut augmenter son temps de résidence dans la colonie.

Les femelles semblent préférer pondre dans des pucerons de stade larvaire 2 ou 3. La fécondité moyenne d'une femelle est alors de 122 ± 27 descendants. Mais les taux de parasitismes sont fortement liés aux mouvements à la fois d'*A. fabae* et du parasitoïde. De plus, des études montrent que *L. fabarum* est davantage attiré pour pondre dans les pucerons qui ont la couleur

sombre ou noire comme *A. fabae* que les espèces plus claires tel que *A. craccivora* et *A. nerii* (Matin *et al.*, 2009).

Autres espèces de parasitoïdes

La plupart de parasitoïdes d'*Aphis fabae* sont des Braconidae. Parmi eux, les espèces *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) et *Aphidius colemani* (Viereck) (Hymenoptera : Braconidae) possèdent la caractéristique d'évaluer la qualité des hôtes présents. Les deux parasitoïdes sont endoparasitoïdes, koïnobiontes et solitaires. Ils sont généralistes et parasitent une grande gamme d'hôtes (Fernandes *et al.*, 1998; Silva *et al.*, 2008). Ils montrent une préférence pour différentes espèces de pucerons sur différentes plantes (Sekhar, 1960b). Ils sont souvent utilisés dans plusieurs programmes de lutte contre les pucerons (Chacon *et al.*, 2008; Soglia *et al.*, 2006) . Ils contribuent à la régulation des population de l'hôte de deux manières en produisant à la fois une mortalité directe de l'hôte, et une diminution de son taux de reproduction (Wellings *et al.*, 1994).

Article 1

Phenology, alate production and parasitoids associated with the black bean aphid, *Aphis fabae*, developing on organic beet plants

Loulou Albittar ^{1*}, Mohannad Ismail ², Agathe Dupuis ¹, Claude Bragard ¹, Thierry Hance ¹

¹ Earth and Life Institute, Biodiversity Research Centre,
Université Catholique de Louvain,

4-5 Place Croix-du-Sud, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

² Wuhan Botanical Garden/Institute, Chinese Academy of
Sciences, Wuhan, China

Abstract

The black bean aphid, *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae), is a serious pest on a wide range of economically important plants, including sugar beets, beans and potatoes. To estimate the negative effect of aphid infestation on organically grown beans and beet plants, we studied the phenology and population density of *A. fabae* in three organic fields within the Walloon region of Belgium. We further investigated the prevalence of parasitoids attacking *A. fabae* to determine their potential as biological control agents within these fields. We also investigated the relation between *A. fabae* population density and parasitoid presence on the prevalence of alate *A. fabae* individuals.

10 infested leaves per field were collected weekly and transferred to the laboratory during the season in 2012. For each leaf, the number of aphids and their instar stages were recorded, as well as the number of mummies (parasitoid infested aphids).

Our results revealed that highest *A. fabae* densities were reached at the end of spring and at the beginning of summer. Aphid population was positively related to an increase in the production of alates (i.e. winged individuals), as well as the level of parasitism. A total of six parasitoid species were recorded attacking *A. fabae* in the field, with *Lysiphlebus fabarum* Marshall and *Trioxys angelicae* Marshall (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) being the most abundant parasitoids. Increased aphid and parasitoid number might stimulate the

increased production of alate individuals. Field characteristics, including site and the availability of host plants in the surroundings of the agricultural crops also affected *A.fabae* population. Predominance of the parasitoids *L. fabarum* and *T. angelicae* makes these species excellent candidates for the development of biological control programmes against *A. fabae*.

Key words: Agriculture; density, mummy; parasitism; plant

Introduction

Aphids are among the most important crop pests worldwide (Bonnemain, 2010), with 50-100 species that are of economic importance (Blackman & Eastop, 2000; Turpeau *et al.*, 2013). The black bean aphid, *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae), is a serious widespread pest on a range of plants, including tobacco, broad beans, potatoes, as well as different varieties of beet, such as sugar beet (Fernandez-Quintanilla *et al.*, 2002). Each year, losses in broad bean (*Vicia fabae* L.) and sugar beet (*Beta vulgaris* L.) production caused by *A. fabae* may exceed 60% (Hurej & Vanderwerf, 1993). *A. fabae* can directly affect sugar beet growth, as well as the storage of sugar by sucking on plant sap, resulting in chlorosis as well as loss of flowers and wilting (Blackman & Eastop, 2000). Moreover, *A. fabae* produces honeydew, which encourages the growth of fungi (sooty mold) that hamper photosynthesis and weaken the plants (Hurej & Vanderwerf, 1993). However, the main damage caused by *A. fabae* is through its role as a vector for plant viruses that affect plant growth and reduce sugar storage in roots (Clover *et al.*, 1999; Simpson *et al.*, 2012). *A. fabae* can thus severely affect crop production through multiple mechanisms.

Aphid density and the presence of alate (winged) individuals may be affected by the type of host plants that surround an agricultural field (Hodek & Emden, 1972), as well as the presence of natural enemies (Jacek *et al.*, 2005; Shaw, 1970). In spring, aphids that hatch from eggs are fundatrices (stem mothers) which reproduce

in a parthenogenetic manner, and give asexual winged individuals in the second generation. These winged individuals migrate to several secondary hosts including sugar beet and are responsible for the beginning of the infection and the dispersion (Nottingham & Hardie, 1989; Powell & Hardie, 2001). Then, sexual individuals (alate gynoparae) migrate in autumn onto winter host plants to mate and then lay their eggs (Nottingham & Hardie, 1989). Sexual individuals are able to reproduce at a high rate with more than 10 generations per year (Iversen & Harding, 2007), depending on environmental conditions. Both adults and nymphs feed gregariously on leaves, stems, flower buds and meristems (Powell & Hardie, 2001), thereby causing major damage to individual crop plants.

In Europe, the losses in sugar beet production due to direct damage caused by aphids amounts to 2,000,000 tons (Wellings *et al.*, 1989). In Belgium, sugar beet is the third most important economic crop after cereals and corn (Tits & Misonne, 2002). Due to severe damage caused by aphids, including *A. fabae* (Tits & Laanen, 2005), farmers generally treat their fields systematically with aphidicides (Legrand, 2013). Extensive use of pesticides, however, result in pest resistance, secondary pest outbreak, reduces the number of natural enemies and can negatively affect human and animal health (Cloyd, 2012; Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016). For instance, Jansen (1996) showed that densities of the parasitoid of *Aphidius rhopalosiphii* de Stefani-Perez were significantly reduced after repeated

exposure to insecticides. Biological control thus seems an attractive alternative to combat aphid infestation on sugar beet in Belgium and other European countries.

Aphids are attacked by a number of natural enemies that engage in a high rate of predation, including ladybird beetles (Coccinellidae), green lacewings (Chrysopidae) and hoverflies (Syrphidae). Two pathogenic fungi, *Verticillium* spp. and *Entomophthora* spp. (Minks & Harrewijn, 1989) further occupy an important place in the biological control of aphids, particularly the black bean aphids *A. fabae* (Rabasse *et al.*, 1975). Several parasitoid wasp species, belonging to the family Braconidae: Aphidiinae are known to considerably reduce aphid population densities in the field. Although a positive impact was found in reducing aphid numbers, parasitized aphids exhibited more movement than unparasitized controls, thereby causing a slight increase in virus dispersal (Hodge & Powell, 2008; Weber *et al.*, 1996). Parasitoid wasps remain the most effective biological control agents against aphids and correspond to 80% of the known successes in classical biological control in Europe (Boivin *et al.*, 2012).

Before initiating a biological control program, it is critical to survey the parasitoid community associated with a pest species in the field (Ismail & Albittar, 2016; Mills, 1993). As sugar beet fields have been systematically treated with the insecticide imidacloprid as seed dressing for more than 20 years (Rouchaud *et al.*, 1994) they do not constitute an appropriate crop to analyse

aphid development and presence of their natural enemies. Therefore, we chose to focus on organic fields of swiss chard beet and broad bean in order to identify the parasitoids that are naturally associated with *Aphis fabae*. The objective of the current investigation was thus to evaluate the phenology of *A. fabae* in the Walloon region of Belgium on different cultivated host plants, to identify and investigate the biodiversity and frequency of associated parasitoids in the field. We also investigated the relation between *A. fabae* population density and parasitoid presence on the prevalence of alate *A. fabae* individuals and thereby the potential risk of virus dispersal within and between fields.

Materials and methods

Field locations and types

The work was carried out in three organic fields containing a swiss chard beet plot, as well as broad beans in the Walloon Brabant region in Belgium. We could not work on sugar beets because all fields are pesticides treated in Belgium. In addition, swiss chard (*Beta vulgaris* var. *cicla*) belongs to the same family of sugar beet (Tits & Laanen, 2005) and the virus of BYV can attack it. The first site was situated in Chaumont-Gistoux with a size of approximately 1 hectare. Samples were taken from plots containing beans (0.01 hectare) and beet (0.06 hectare). The second site in Gottechain had a size of approximately 2 hectares and was divided into two separate fields (swiss chard 0.6 hectare

and broad bean 1.4 hectare) by grass strips which were at least 3 meters wide. The field where we conducted sampling represents about 0.5 hectare. The last site in Walhain covers approximately 6 hectares and divided into several plots for various crops (broad bean, beet, spinach, courgette and maize). Samples were collected only from broad bean and swiss chard. At this site, other plants were also cultivated in the field, including parsley, strawberries, lettuce and corn. Early in the season, samples were collected from broad beans, while later in the season samples were collected from Swiss chard. The seedling growing of swiss chard was April in Walhain and May in Gottechain and Chaumont-Gistoux. At all three sites, broad bean and swiss chard were the main crops grown, but all farmers first grew broad bean then swiss chard.

Sampling Protocol

The experiment was conducted by taking 30 samples from the three sites (sample: a leaf infested with *A. fabae*). The samples were collected randomly from both: side and center. At each site, 10 infested leaves per field (one leaf per plant) were collected weekly from May to September in 2012 and transferred to the laboratory. The samples were collected from the apical leaf buds of the broad bean and from one leaf of swiss chard plants. For each leaf, the number of aphids and their instar stages were recorded, as well as the number of mummies (parasitoid infested aphids). To determine the rate of parasitism, aphids on each of the leaves were then transferred to individual broad bean plants

enclosed in mesh cages (30 plants in total). These colonies were then maintained in a growth chamber at $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, under a photoperiod 16L: 8D, and a relative humidity $65 \pm 10\%$ for 10 days.

Parasitoid complex on A. fabae populations

All collected mummies were placed into plastic Petri-dishes to determine the species and emergence rate of parasitoids. Mummies were placed into another growth chamber under the aforementioned temperature, photoperiod and humidity conditions. Parasitism rate was expressed as the number of mummies obtained / (number of aphids still alive + number of mummies). For identification, collected parasitoids were preserved in 70% alcohol containing glycerine in small Eppendorf tubes.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using the statistical software R version 2.15.2 (R Core Team, 2013). Aphid and alate population were analysed using repeated measures analysis because the data is pseudo replicated, with zero-inflated models from the package (pscl) and with a negative binomial error distribution (over dispersed data), with site, plant and time as fixed factors. Mummy density was analysed using repeated measures analysis with Generalized Linear models (GLM) based on a negative binomial distribution, with site, parasitoid species and time as fixed factors. For all tests, significant results at $p <$

0.05 were followed by Bonferroni's post-hoc multiple comparison tests ($p = 0.05/k$, where k is the number of comparisons). To test for a relationship between aphid density, number of alate (winged) individuals and number of mummies, we used linear regression. Since data were not normally distributed, data was log-transformed.

Results

Number of aphids and parasitoids

Number of aphids, including the peak in abundance, varied greatly from one location to the other (Figure 1.1). The maximum number of aphids in the field appeared early in summer followed by a gradual decrease until August. In only one of the sites, Walhain, another two peaks in emergence occurred at the end of August and mid-September (Figure 1.1). The number total of aphid ($\chi^2 = 33.36$, $df = 2$, $p < 0.001$) and winged individuals ($\chi^2 = 60.55$, $df = 2$, $p < 0.001$) varied significantly among sites, with higher numbers observed at the Walhain site. The lowest number of individuals was found in Gottechain (Figure 1.1). The number of individuals varied between the two plants with higher numbers on swiss chard (Aphid: $\chi^2 = 52.22$, $df = 1$, $p < 0.001$), (winged: $\chi^2 = 54.59$, $df = 2$, $p < 0.001$). The aphid individuals ($\chi^2 = 67.43$, $df = 16$, $p < 0.001$) and winged individuals ($\chi^2 = 65.72$, $df = 16$, $p < 0.001$) varied also significantly during the time of the season (Figure 1.1).

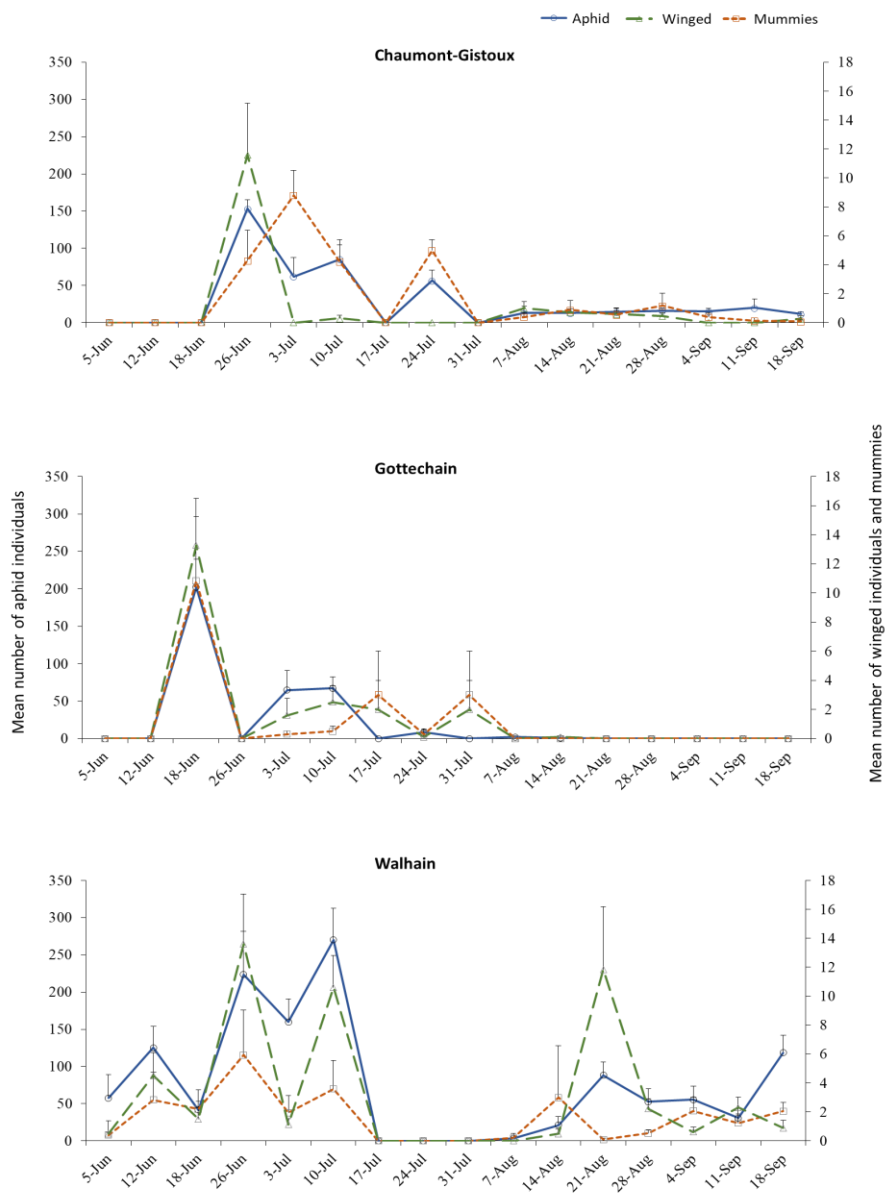


Figure 1.1. Mean number ($\pm$ se) of aphid individuals (left Y-axis) and winged individuals and mummies (right Y-axis) at the three locations.

Parasitoid identification and parasitism rates

A total of 150, 105 and 238 parasitoids emerged from mummies collected from *A. fabae* at the Chaumont-Gistoux, Gottechain and Walhain site, respectively. Six species of aphid parasitoids were identified, as well as several hyperparasitoid species (Table 1.1). The most abundant species were *Lysiphlebus fabarum* Marshall and *Trioxys angelicae* Haliday. Other species that were recovered included *Trioxys acalephae* Marshall and three *Aphidius* species (*A. colemani* Viereck, *A. matricariae* Haliday and *A. avenae* Haliday).

The number of mummies varied significantly among sites ($\chi^2 = 9.17$, $df = 2$, $p = 0.01$) with higher parasitism rates observed in Walhain (from 1 to 12.73 %) and Chaumont-Gistoux (from 1.61 to 9.52 %) compared to Gottechain (from 0.49 to 5.35 %). Parasitism rates also varied among parasitoid species ($\chi^2 = 150.76$, $df = 6$, $p < 0.001$) with the highest rates observed for *L. fabarum* and *T. angelicae*. A significant interaction was found between site and parasitoid species ($\chi^2 = 44.87$, $df = 12$, $p < 0.001$), where *L. fabarum* was most abundant in Gottechain and Walhain, but absent in Chaumont-Gistoux (Table 1.1). *T. angelicae*, however, was most abundant in Chaumont-Gistoux compared to Gottechain and Walhain (Table 1.1).

Table 1.1. Average percentage ($\pm$ SE) of emerged parasitoid species recorded parasitizing the black bean aphid *A. fabae* at three sites in Belgium.

	<i>L. fabarum</i>	<i>T. angelica</i>	<i>T. acalephae</i>	<i>A. colemani</i>	<i>A. matricariae</i>	<i>A. avenae</i>	<i>Hyper- parasitoid</i>
Walhain	71.85 $\pm$ 2.92	17.23 $\pm$ 2.45	10.50 $\pm$ 1.99	0.42 $\pm$ 0.42	0	0	0.42 $\pm$ 0.42
Gottechain	89.52 $\pm$ 2.99	10.48 $\pm$ 2.99	0	0	2.90 $\pm$ 1.33	0	0
Chaumont-Gistoux	0	76.67 $\pm$ 3.45	20.00 $\pm$ 3.27	1.33 $\pm$ 0.94	1.33 $\pm$ 0.94	0.67 $\pm$ 0.66	2.00 $\pm$ 1.14

Impact of aphid density on the production of alate individuals and parasitism

Aphid density had a significant effect on the production of alate individuals at all three sites (Chaumont-Gistoux: $F_{1,14} = 5.70$, $R^2 = 0.29$, $p = 0.03$; Gottechain $F_{1,14} = 70.13$, $R^2 = 0.83$, $p < 0.001$; Walhain $F_{1,14} = 40.26$, $R^2 = 0.74$, $p < 0.001$) (Figure 1.2a). Parasitism rates also increased with increasing aphid density at the three sites (Chaumont-Gistoux: $F_{1,14} = 64.84$, $R^2 = 0.82$, $p < 0.001$; Gottechain $F_{1,14} = 36.4$, $R^2 = 0.72$, $p < 0.001$; Walhain $F_{1,14} = 41.56$, $R^2 = 0.75$, $p < 0.001$) (Figure 1.2b).

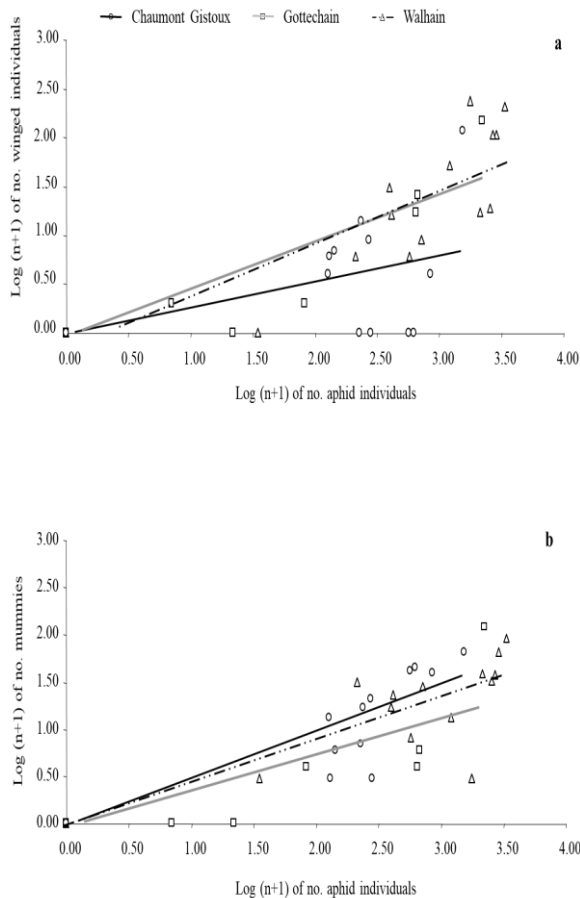


Figure 1.2. (a) Regression of alate individuals (log transformed) on aphid density (log transformed; Chaumont-Gistoux: $y = 0.26$ aphid density $- 0.02$; Gottechain: $y = 0.49$ aphid density $- 0.06$; Walhain : $y = 0.5574$ aphid density $- 0.19$). (b) Regression of mummies (log transformed) on aphid density (log transformed; Chaumont-Gistoux: $y = 0.50$ aphid density $- 0.06$; Gottechain: $y = 0.38$ aphid density $- 0.06$; Walhain : $y = 0.45$ aphid density $- 0.01$).

The number of alate individuals was significantly associated with increasing parasitism rates at the three sites: Chaumont-Gistoux ($F_{1,14} = 6.18$, $R^2 = 0.31$ $p = 0.02$), Gottechain ($F_{1,14} = 98.91$, $R^2 = 0.88$, $p < 0.001$) and Walhain ($F_{1,14} = 413.06$, $R^2 = 0.48$, $p = 0.002$) (Figure 1.3).

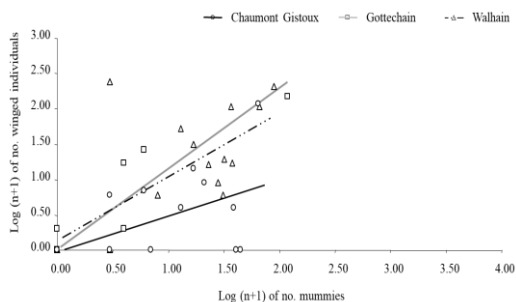


Figure 1.3. Regression of winged individuals (log transformed) on mummies (log transformed; Chaumont-Gistoux: $y = 0.48 \text{ mummy} + 0.04$;

Discussion

We conducted a field study to assess the phenology of the aphid *Aphis fabae* throughout the season (May to September 2012) in three organic agricultural fields in Belgium. We further evaluated the diversity and density of parasitoid species attacking *A. fabae* and how aphid density affected the production of alate (winged) individuals. Maximal aphid numbers were observed during early summer, but aphid density varied depending on the field site. Six parasitoid species were found to attack *A. fabae* in the field, with

L. fabarum and *T. angelicae* (Braconidae: Aphidiinae) being the most abundant species. Aphid density was positively related to an increase in the production of alate (winged) individuals, as well as the level of parasitism.

A. fabae is a host-alternating species, overwintering on a winter host such as the spindle tree (*Euonymus europaeus* L.), *Viburnum* spp., or the mock-orange (*Philadelphus* spp.) and then migrating in the spring to a wide range of summer hosts, including broad bean and different beet crops (Heathcote & Cockbain, 1966; Powell & Hardie, 2001). At all three sites, broad bean and sugar beet were the main crops grown, but all farmers first grew broad bean then sugar beet. We observed that *A. fabae* first appeared on broad bean, and might then migrated to swiss chard beet once these plants started growing in the fields. Aphids were thus sampled throughout the season from broad bean and then swiss chard beet to represent natural conditions and fluctuations observed in (winged) aphids, mummies and parasitoids. Aphid density and parasitism rates varied among sites and throughout the growing season with maximal numbers observed during spring and the beginning of summer, followed by a reduction in August. A similar phenology with a peak of development in June and then a marked decrease in August was also observed for aphids feeding on maize, with decreasing numbers being associated with increased parasitism (Hance, 1995).

The highest numbers of aphids and parasitoids were found in Walhain and Chaumont-Gistoux. The field in Walhain is

relatively open, surrounded by grass and large areas of organic crops. Such an environment seems to favor the development of both aphids and their parasitoids. Chaumont-Gistoux is surrounded by hedges. These can serve both as refuges for aphids and their natural enemies, although hedges are used primarily as a barrier, reducing insect dispersal. The field in Gottechain, however, was more exposed to the abiotic environmental conditions, lacking hedges and completely surrounded by conventional fields. Those fields were treated systematically with an unknown number of pesticides on a yearly basis (Legrand, 2013). This might affect aphid and parasitoid densities. Jacek *et al.* (2005) indeed found a higher density of *A. fabae* in sugar beet when the field was surrounded by barren soil rather than herbs. Many other studies further revealed that habitats, such as sites with floral vegetation or fields with crops, could improve the nutritional resources available to natural enemies (Dib *et al.*, 2012; Landis *et al.*, 2000). Environmental factors such as alternative host plant availability surrounding the sampled fields could thus have had an impact on the insect populations sampled (Sandrock *et al.*, 2011). Manipulation of the environment can thus favor the presence of enemies naturally present in an agroecosystem (Boivin *et al.*, 2012). For example, open, green corridors, hedges and grass strips located in the vicinity of crops may facilitate zones of refuge and food to promote parasitoid development and dispersal to the cultivated areas. Furthermore, the presence of flowers or other non-damaging insects producing honeydew could also contribute to parasitoid development and

fecundity (Landis *et al.*, 2000; Langer & Hance, 2004; Tompkins *et al.*, 2010).

In this study, we identified six parasitoid species: *L. fabarum*, *T. angelicae*, *T. acalephae*, *A. colemani*, *A. matricariae* and *A. avenae*, with *L. fabarum* and *T. angelicae* being most abundant. It is widely known that *L. fabarum* is the most abundant and effective parasitoid of the black bean aphid (Albittar *et al.*, 2008; Alikhani *et al.*, 2013; Stary & Havelka, 2008; Stary *et al.*, 2014; Volkl & Stechmann, 1998) . Whereas, *T. angelicae* is less often attacks the black bean aphid. *T. angelicae* might be considered as a potential biocontrol agent against in Belgium, and presented high rate of Parasitism. While *L. fabarum* was recovered at a higher rate in Gottechain and Walhain, *T. angelica* was recovered from all three sites, with higher numbers observed in Chaumont-Gistoux, but very low numbers at the other sites. Parasitism rates varied among sites and parasitoid species. Parasitism rates were, however, generally low in all fields. The maximum percentage of hosts parasitized in the field reached 12.73% in Walhain. Parasitism rates might be affected by the presence of both predators and Entomopathogenic fungi which were present in all of the study field's. Parasitized aphids are vulnerable to predators (Xue *et al.*, 2012) and the fungus-infected hosts are unsuitable for parasitoid larval development (Askary & Brodeur, 1999), thus may driving the rate of parasitism down. Variation in number and density of parasitoids among sites might further be related to host plant species, and plant size (Fenoglio *et al.*, 2013), or to negative interactions among parasitoids (Hawkins & Mills, 1996; Ismail &

Albittar, 2016). We further found that parasitoids become abundant in late spring and early summer, but no parasitoids emerged from mummies in autumn, probably due to diapause of the parasitoids. This is consistent with earlier studies on *A. fabae*, where natural enemies are uncommon or inactive during autumn (Way & Banks, 1968).

It is well known, in aphid biology that the production of alate individuals and their dispersal is influenced directly by aphid density when aphid colonies grow larger on plants, as well as by the presence of natural enemies (Bonnemain, 2010; Shaw, 1970, 1973). Other factors could also influence the production of alates, such as the nutritional quality of host plants, plant variety and pheromones (Brisson, 2010; Muller *et al.*, 2001). In the latter case, a high density of aphids increases the concentration of pheromones, which play an important role in the attraction of parasitoids (Le Ralec *et al.*, 2010). As a consequence, behavioral and morphological modification of aphids in the presence of foraging parasitoids can influence the control of aphid populations (Kunert & Weisser, 2003). Aphids can respond to predator or parasitoid oviposition threats in a number of ways, including kicking, moving away, dropping from the plant, and producing winged morphs (Roitberg *et al.*, 1979). During the few weeks that sugar beet and broad bean co-occurred (particularly in Walhain), we observed that more aphid individuals settled on broad bean compared to sugar beet. Parasitism rates were also found to be higher on broad bean. This could be due to the fact that broad bean is preferred by *A. fabae* over sugar beet, as was

shown by Hardie (1981). (Cockbain *et al.*, 1963) had indeed already mentioned that many *A. fabae* settled permanently on broad bean plants, with only a few individuals settling on sugar beet plants. Host plant species further has a significant impact on the parasitoid species that attack *A. fabae* (Albittar *et al.*, 2016; Hopkinson *et al.*, 2013). Indeed, it was found that parasitism rates by three parasitoid species, including *L. fabarum*, varied between broad bean and sugar beet, with more parasitoids parasitizing aphids on broad bean compared to beet crops. Hence the presence of an essential host such as the broad bean might influence the dynamics of *A.fabae* and its parasitoids. Further studies concerned with the interaction and competition of parasitoid species should be done to determine which species and/or combination thereof is most successful in controlling aphid infestations.

Acknowledgments

This study was supported by a PhD fellowship from the Université Catholique de Louvain in Belgium. We thank Bernard Chaubet for his help in identifying the parasitoids. We are grateful to Bertanne Visser for her valuable comments and suggestions to improve previous versions of this manuscript.

Article 2



Host plants and aphid hosts influence the selection behaviour of three aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae)

Loulou Albittar ^{1*}, Mohannad Ismail ², Claude Bragard ¹,
Thierry Hance ¹

¹ Earth and Life Institute, Biodiversity Research Centre,
Université Catholique de Louvain,

4-5 Place Croix-du-Sud, B-1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

² Wuhan Botanical Garden/Institute, Chinese Academy of
Sciences, Wuhan, China

Abstract

Aphis fabae and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) are insect pests that damage sugar beet and bean crops. Both are responsible for losses in yield and transmission of viral diseases, and may be present on the same host at the same time. Three parasitoid species, *Aphidius colemani*, *Lysiphlebus testaceipes* and *Lysiphlebus fabarum* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) have the potential to be used as biological control agents against at least one of these species of aphids. As a first step prior to the implementation of a biological control program, our aim was to understand the host selection behaviour of the parasitoids, particularly when both aphids are present. We recorded the host acceptance (number of insertions of the ovipositor / number of antennal contacts), suitability (number of mummies / the number of insertions of the ovipositor) and emergence (number of adults emerging from mummies) of these three aphid parasitoids when parasitizing the two aphids. We also analysed the effect of the host plant on the host preference of the parasitoid. Females of each parasitoid species ($n = 15$) were exposed to 20 aphids of *A. fabae* or *M. persicae*, or a mixture of these two species of aphids, for 15 min, on a leaf disc of each of the two host plants, sugar beet and bean. Higher host acceptance and suitability were recorded for *A. colemani* attacking both species of aphid: *A. fabae* (43 and 46%) and *M. persicae* (43 and 46%) on beet and bean plants respectively, compared to *L. testaceipes*

and *L. fabarum*. *L. testaceipes* and *L. fabarum* showed a clear preference for *A. fabae*. *L. fabarum* accepted *M. persicae* on both plants only when it was mixed with *A. fabae*, probably due to a confusion effect. We found that the host plant played a significant role in host acceptance, host suitability. We conclude that *A. colemani* is the better of the three parasitoids studied for the biological control in bean, and particularly, sugar beet crops.

Key words. Aphidiinae, Aphididae, aphid, broad bean, host preference, parasitoid, plant influence, sugar beet

Introduction

Aphids are among the most important crop pests worldwide (Bonnemain, 2010) and fifty species are of economic importance

(Turpeau *et al.*, 2013). Aphid pests are often generalists, facultatively or obligatorily change host plants during their life cycle and thrive on several secondary hosts, including crop plants and wild species. The two main species of aphids on sugar beet crops in Europe are the black bean aphid *Aphis fabae* (Scopoli) (Hemiptera: Aphididae) and the peach potato aphid *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) (Jadot, 1974, (Smith & Hallsworth, 1990). In Europe it is estimated that aphids on sugar beet are responsible for an annual loss of 2 million tonnes (Wellings *et al.*, 1989). Both *M. persicae* and *A. fabae* affect plant growth and the storage of sugars (Clover *et al.*, 1999; Simpson *et al.*, 2012) directly by sucking plant sap and indirectly by transmitting plant viruses. The beet yellow virus and the beet mild yellow virus can cause yield losses of up to 50% and 35%, respectively (Smith *et al.*, 1991).

To limit the damage and resultant economic losses caused by aphids it is essential to control populations and reduce their spread (Turpeau *et al.*, 2013). Several methods have been used to combat aphids. Currently, control of beet aphids is still largely based on preventive systemic insecticide treatments of seed, but changes in pesticide regulations due to the negative effects of these chemicals necessitate the development of other control strategies. Biological control is considered a good alternative and the use of aphid parasitoids is promising (Boivin *et al.*, 2012). For wheat it has been shown that releasing 20,000 individuals of the parasitoid *Aphidius rhopalosiphi* (De

StefaniPeres) (Hymenoptera: Aphidiinae) / ha can decrease the population of the grain aphid *Sitobion avenae* (Fabricius) (Hemiptera: Aphididae) below the economic threshold (Levie *et al.*, 2005). Biological control of aphids using parasitoids has not yet been tested extensively on sugar beet and it is suggested that the use of biocontrol agents to reduce populations of potential vectors would not necessarily prevent the transmission of viruses (Bragard *et al.*, 2013).

The success of a biological control program depends on the capacity of the parasitoid to recognize and parasitize its host. Therefore, it is important to understand the behaviour of the parasitoid in selecting its principal and alternative hosts in a crop, prior to any release in the field (Dorn *et al.*, 1999; Hopkinson *et al.*, 2013). Successful parasitism requires a series of interactions among parasitoids, their hosts and host plants, including habitat finding, host location, host acceptance, host suitability and host regulation (Hatano *et al.*, 2008; Rasekh *et al.*, 2010a; Vinson, 1976, 1984). Parasitoids may respond to semiochemical cues during antennal contact and ovipositor probing (Larocca *et al.*, 2007; Muratori *et al.*, 2006) and volatile chemical compounds emitted by damaged plants (Dicke *et al.*, 2003; Mattiacci *et al.*, 1994; Turlings *et al.*, 1990). Host selection by parasitoids may be influenced by the insect host, the plant on which the insect hosts are feeding and by conditioning of females to the host on which they developed (Chau & Mackauer, 2001). Moreover, selection behaviour of the parasitoids can be modified according to the

physiological status of the parasitoid, such as egg load at emergence (Chau & Mackauer, 2001; Desneux *et al.*, 2009) and previous experience. Female parasitoids that are time limited with high egg loads are more likely to accept less suitable hosts than females with low egg loads and a high life expectancy (Hopper *et al.*, 2013).

Three parasitoid species are currently recorded parasitizing *A. fabae* and *M. persicae* in the field: *Aphidius colemani* (Viereck), *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) and *L. fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Aphidiinae). They are reported to respond to a variety of both contact and olfactory cues associated with the host or its habitat (Carver & Franzmann, 2001; Jang *et al.*, 2000). The parasitoid *A. colemani* appears to be a species complex in which different geographic populations may vary genetically and have different patterns of host preference (Messing & Rabasse, 1995; Wellings *et al.*, 1994). It is now produced commercially and has been used in many biological control programs against various important aphid pests, such as *M. persicae* in greenhouses (Boivin *et al.*, 2012; Grasswitz, 1998). For inundate release in greenhouses mummies are placed at the base of the plants.

According to Grasswitz (1998) the newly emerged adults from these mummies may lack early post eclosion experiences, which can affect their foraging behaviour. *L. testaceipes* is a generalist parasitoid that has a broad range of hosts (Mackauer & Sary, 1967) with various preferences for different aphids on several plants (Knight, 1944; Sekhar, 1960a). *L. fabarum* is the most

abundant parasitoid of *A. fabae* in agroecosystems. It causes a considerable reduction of the abundance of *A. fabae* and thus could be useful in the biological control of this pest (Volkl, 1992). It is a multivoltine species and mainly thelytokous in central Europe (Nemec & Sary, 1985).

To our knowledge, few studies have been conducted on aphid parasitoids in sugar beet fields. *M. persicae* and *A. fabae* are characterized by very wide host ranges and are adapted to feed on a large number of plant families and species (Fernandez-Quintanilla *et al.*, 2002), including sugar beet. Weeds around cultivated fields play a significant role in the build-up of aphid populations (Duffus, 1971). As the host plant may influence parasitoid acceptance, plant hosts must be considered when assessing the behaviour of the three most common parasitoid species of sugar beet aphids. Biocontrol agents are usually reared continuously on one host species and on one host plant, but they are released to control several pests on several host plants. For this reason, our aim was to determine whether rearing parasitoids on one host aphid species and one host plant species would affect future preference of the parasitoids for different hosts.

In order to select the best species for parasitoid augmentation, several traits need to be evaluated. In this study, because released parasitoids would be required to control two aphid species (*A. fabae* and *M. persicae*), we first compared the host acceptance behaviour and the suitability for the parasitoids (*A. colemani*, *L. testaceipes* and *L. fabarum*) of each of the species

of aphid separately. Secondly, we investigated the acceptance behaviour of the parasitoids when both aphid species were present, as would be the case in the field, to test whether the parasitoids would differ in their preference. Thirdly, we tested whether changing the host plant would affect the host acceptance of the parasitoid.

Materials and methods

The aphid *A. fabae* was obtained from the Laboratory of Functional and Evolutive Entomology (ULg, Gembloux) in Belgium and was reared continuously in small pots containing bean plants (*Vicia fabae*). The aphid *M. persicae* was provided by Viridaxis S.A., Belgium and was reared continuously on sweet pepper plants (*Capsicum annuum*) variety Napoli. Aphids were maintained in wooden cages (50 × 50 × 50 cm) in climate rooms at 20 ± 1°C, 60 ± 10% RH and a photoperiod of 16L: 8D. Strains of the parasitoids *A. colemani* and *L. testaceipes* were provided by Viridaxis S.A., while the parasitoid *L. fabarum* (thelytokous strain IL0764), was obtained from Professor C. Vorburger (Institute of Integrative Biology, Zurich). The parasitoid *A. colemani* was reared on the aphid *M. persicae* fed on sweet pepper. *L. testaceipes* and *L. fabarum* were reared on the aphid *A. fabae* fed on bean plants. We used the same host plants. Mummies of the three parasitoids obtained from the suppliers twice in order to refresh our cultures. The Viridaxis S.A Company also refreshes their rearing stocks regularly. The three parasitoids were

maintained in climate rooms at $22 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ RH and a photoperiod of 16L : 8D. Cohorts of parasitoids were produced by exposing second instar *M. persicae* to 2–3 day-old females of *A. colemani* (1 pair per 50 aphids), 2nd instar *A. fabae* to 2–3 day-old female wasps of *L. testaceipes* (1 pair per 10 aphids) and *L. fabarum* (1 female for 10 aphids) in a $50 \times 50 \times 30$ cm wooden cage for 24 h. Eight to twelve days later, mummies were carefully removed from plants by scraping them gently off the leaves and kept individually in gelatine capsules until emergence. The emerged adults were fed with diluted honey. A male and a female of each species were put in small Petri dishes and observed until the end of copulation. Mated females were then used in the experiments.

Behavioural bioassay

For the host preference test, 15 females each of *A. colemani* and *L. testaceipes* (mated) and 15 females of *L. fabarum*, aged ≤ 24 h, were exposed individually for 15 min to a group of 20 aphids (L3). There were three treatments: 20 individuals of *A. fabae* reared on bean, 20 individuals of *M. persicae* reared on sweet pepper, or 10 individuals of each aphid species mixed together. To analyze the influence of plant species on choice of aphid by the parasitoids, two host plants were tested: sugar beet and bean. The experiment was repeated 15 times for each plant species, during which each female was observed individually. The aphids were placed on 1 cm diameter leaf discs in glass petri dishes of 5

cm diameter. The experimental arena was placed on a light table (2500 LUX) in a dark room at $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$. In all experiments, we recorded the number of antennal contacts and the number of ovipositor insertions (stings). It was not possible to distinguish between simple probing and ovipositor insertions (stings) that led to egg deposition, because oviposition took approximately 1.4 s (Volkl & Mackauer, 2000). After each 15min observation, all aphids were transferred and reared under controlled conditions ($22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 10\%$ R.H) on fresh bean plant leaves for 12 days, until mummification. Leaves were placed on cotton soaked with water in plastic Petri dishes, the lids of which had openings in the centre covered by mesh for ventilation. We used leaves of bean since it is a suitable host for both aphid species, and is easier to use in Petri dishes than leaves of sugar beet.

Host acceptance is expressed as the number of ovipositor insertions recorded for a parasitoid divided by the number of antennal contacts expressed as a percentage as in Acebes & Messing (2013). In their case, they distinguished between acceptance and oviposition, which is the deposition of an egg inside the host. In our case, true oviposition could not be determined as the oviposition process takes less than one second and is similar to a sting without egg deposition. Suitability is the number of mummies divided by the number of attempts at ovipositor insertion expressed as a percentage. Emergence is the number of emerged parasitoid wasps divided by the total number of mummies expressed as a percentage.

Statistical analyses

Host acceptance, and host suitability were analyzed using Generalized Linear models based on a quasibinomial distribution (i.e. for overdispersed binomial data expressed as proportions) and a logit link function (Crawley, 1993), including parasitoid species, host species and host plant as fixed factors with interactions. Significant results at $p < 0.05$ were followed by the use of Tukey HSD posthoc multiple comparison tests using the Agricolae package (Mendiburu, 2015). Data are presented as means ($\pm$ SE). Statistical analyses were done using the statistical software R version 2.15.2 (R Core Team, 2013). Emergence values are cited in the text without statistical analysis, since no mummies were recorded in four of the replications of *L. fabarum* attacking the aphid *M. persicae* on beet and bean individually, and only one emergence from one mummy from *M. persicae* on both beet and bean plants.

Results

Host acceptance

colemani accepted both species of aphid: *A. fabae* (approximately 43 and 46%) and *M. persicae* (approximately 43 and 46%) on beet and bean plants, respectively. The parasitoid *L. testaceipes* accepted *A. fabae* (approximately 50 and 89%) more frequently than *M. persicae* (approximately 17 and 13%) on both beet and bean plants, respectively, but with a stronger preference on bean

plants (Figure 2.1). *L. fabarum* accepted only *A. fabae* (approximately 21 and 45%) on both beet and bean plants, respectively (Figure 2.1). *L. fabarum* accepted *M. persicae* (beet = 9 and bean = 8%) only when it was mixed with *A. fabae* (Figure 2.1).

Host acceptance varied among the parasitoid species ($F_{2, 336} = 70.56$; $p < 0.001$). *L. testaceipes* and *A. colemani* accepted both aphid species while *L. fabarum* accepted *M. persicae* only in the presence of *A. fabae*. Host acceptance also varied according to aphid species ($F_{3, 336} = 31.16$; $p < 0.001$), *A. fabae* was always accepted more readily than *M. persicae*, whether aphids were separate or mixed. Plant host had a significant effect on the acceptance of these species of aphids ($F_{1, 336} = 23.94$; $p < 0.001$). Aphids on bean leaves were accepted more readily than those on beet leaves, particularly by *L. testaceipes* (Table 2.1). Significant interactions were found between parasitoid and aphid, aphid and plant but not when the three factors were combined (Table 2.1).

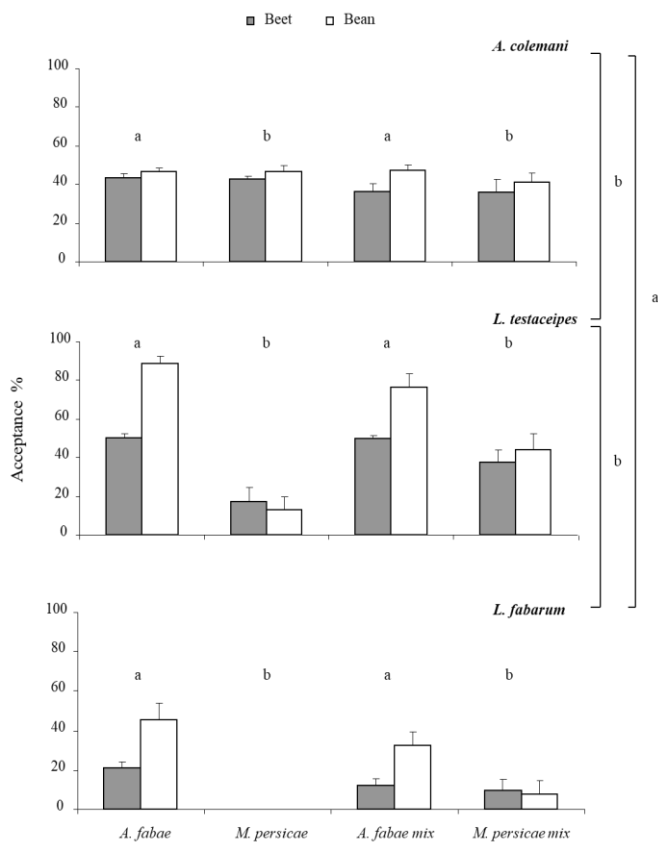


Figure 2.1. Host acceptance (mean $\pm$ SE) expressed as a percentage of the different aphids accepted by the three parasitoids: *A. colemani*, *L. testaceipes* and *L. fabarum* on both plants (bean and beet) and in three combinations of aphids (*A. fabae*, *M. persicae* and a mixture of *A. fabae* and *M. persicae*, results presented separately for each species of aphid). Small letters indicate significant differences in the main factors (parasitoid species and aphid hosts at $p < 0.05$).

Table 2.1. Results obtained using a general linear model to determine the effects of parasitoid species, host aphid and plant, and their interactions, on host acceptance and suitability.

Trait	Effect	DF	F	P value
Host acceptance rate	Parasitoid	2	70.56	< 0.001
	Aphid	3	31.16	< 0.001
	Plant	1	23.94	< 0.001
	Parasitoid: Aphid	6	12.87	< 0.001
	Parasitoid: Plant	2	2.26	0.1
	Aphid: Plant	3	3.16	0.02
	Parasitoid:Aphid:Plant	6	1.66	0.13
	Residuals	336		
Suitability rate	Parasitoid	2	15.17	< 0.001
	Host	3	13.42	< 0.001
	Plant	1	8.74	0.003
	Parasitoid: Aphid	6	6.39	< 0.001
	Parasitoid: Plant	2	1.11	0.33
	Aphid: Plant	3	0.13	0.94
	Parasitoid:Aphid:Plant	6	0.26	0.95
	Residuals	336		

Suitability

Suitability differed significantly among parasitoids ($F_{2, 336} = 15.17$; $p < 0.001$). For both aphid species, *A. colemani* produced more mummies per ovipositor contact than *L. testaceipes* and *L. fabarum* (Figure 2.2). Significant differences were also recorded between aphid species, *A. fabae* being more suitable than *M. persicae* ($F_{3, 336} = 13.42$; $p < 0.001$) particularly for *L. fabarum*. Plant host too had a significant effect on aphid suitability ($F_{1, 336} = 8.74$; $p = 0.003$).

Parasitized aphids were allowed to continue their development on bean after the experiment no matter whether the parasitoid had had the choice of aphids on sugar beet or on bean. The difference in plant host suitability probably reflects the fact that on sugar beet ovipositor insertion was more frequently followed by egg laying than on bean. This is an interesting observation in the context of biological control. A significant interaction was found only between parasitoid and aphid (Table 2.1). The emergence from mummies in all the treatments is shown in (Figure 2.3).

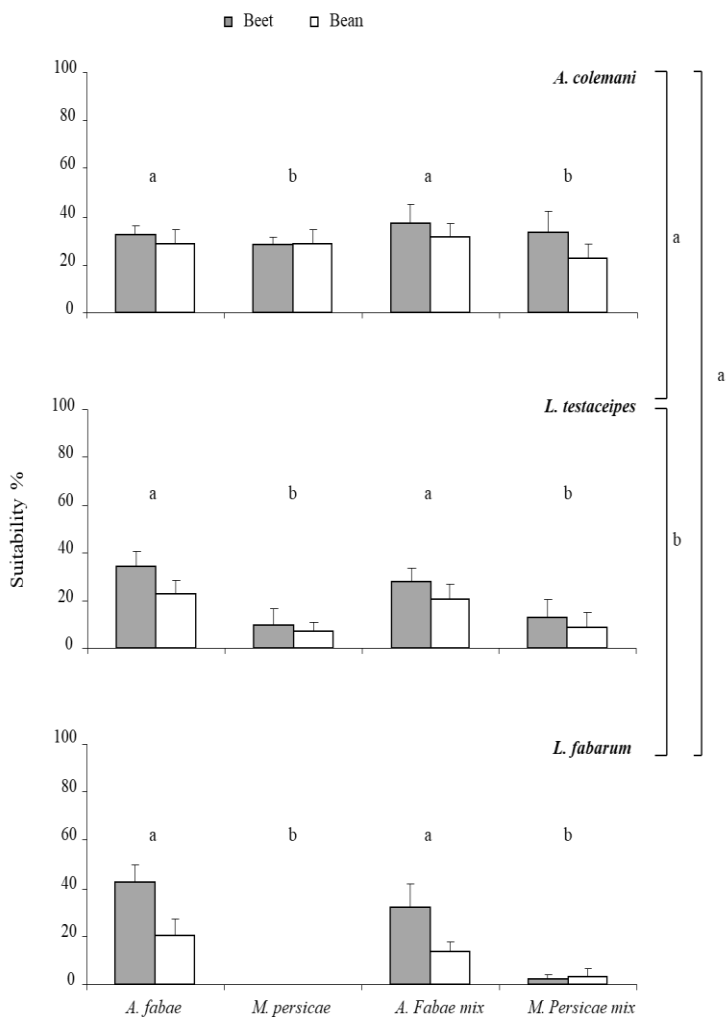


Figure 2.2. Suitability (mean $\pm$ SE) expressed as a percentage recorded in the three combinations of aphids (*A. fabae*, *M. persicae*, and mix *A. fabae* and *M. persicae*, results presented separately for each species of aphid) on both plants (bean and beat) for the three parasitoids: *A. colemani*, *L. testaceipes* and *L. fabarum*. Small letters indicate significant differences in the main factors (parasitoid species and aphid hosts at $p < 0.05$).

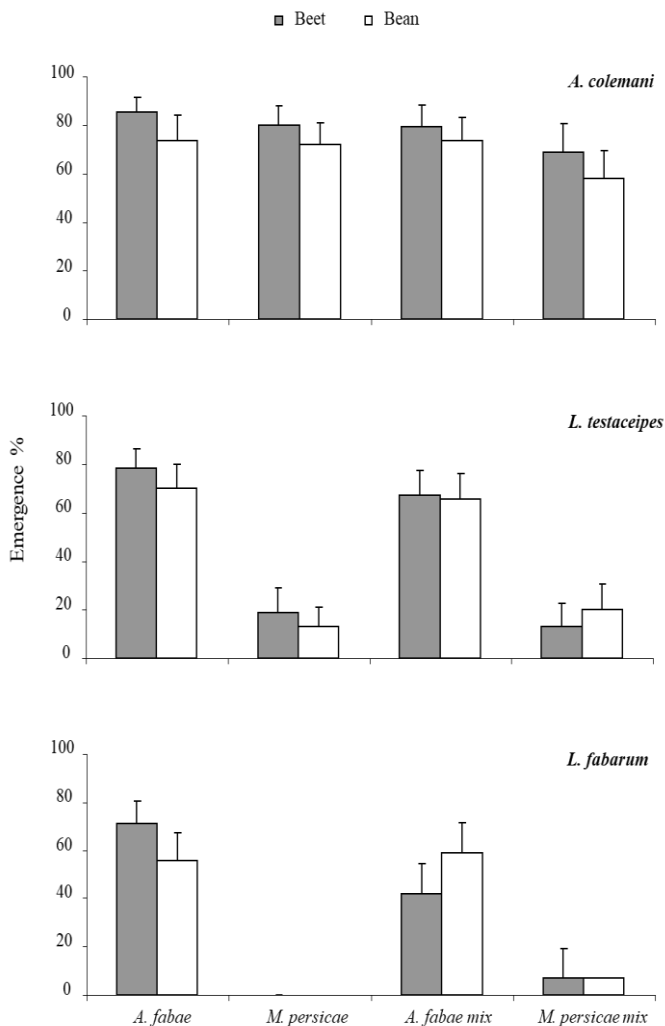


Figure 2.3. Emergence (mean $\pm$ SE) expressed as a percentage of the three parasitoids: *A. colemani*, *L. testaceipes* and *L. fabarum* recorded for the three combinations of aphids (*A. fabae*, *M. persicae*, and mixture of *A. fabae* and *M. persicae*, results presented separately for each species of aphid) on both plants (bean and beet).

Discussion

In this study we compared the acceptance and suitability of two species of aphids on two host plants: bean and beet, for three species of parasitoids. We did not manipulate their experience by rearing the parasitoids on each of these species of aphids. We chose to take into account the aphid species on which they are usually reared before release into the field, where they are likely to be exposed to several potential host species. We found that *A. colemani* did not display any difference in its acceptance of these species of aphids on either host plant. Messing & Rabasse (1995), using a strain of *A. colemani* reared on either *M. persicae* or *Aphis gossypii*, showed that *A. gossypii* was the preferred host twice as much as *M. persicae*, no matter which aphid was used for rearing the parasitoid. They interpreted this result as evidence of an innate preference of *A. colemani* for *A. gossypii*. They also record that parasitoids reared on *M. persicae* had a lower preference for *A. gossypii*. No such difference was recorded for *A. colemani* in our study. However, we showed that *L. testaceipes* clearly preferred *A. fabae*, and this preference is enhanced on bean plants. Its own, but in the presence of *A. fabae* a 40% acceptance was recorded on sugar beet and less than 20% on bean. *L. testaceipes* also accepted a greater percentage of *M. persicae* in the presence of *A. fabae*. This could be a confusion effect linked to the close presence of a suitable host. In this case, chemical cues of the suitable host may have triggered the searching behaviour and acceptance of an unsuitable host (Meisner *et al.*, 2007). The acceptance of *M.*

persicae by *L. testaceipes* in the presence of *A. fabae* appeared to decrease, as fewer ovipositor contacts were recorded following antennal contact compared to when *M. persicae* was the only host present. This probably indicates a preference for *A. fabae* when a choice is possible. Suitability of *L. persicae* for *L. testaceipes* is particularly low considering that most mummies produced gave rise to an adult on bean plants and half of them on sugar beet. For *L. fabarum*, suitability of *A. fabae* seemed to be influenced by the host plant. Surprisingly, some *L. fabarum* adults emerged from the few *M. persicae* mummies recorded when a mixture of the two aphids was used.

Depending on the species of aphid and parasitoid and whether the aphids were presented alone or in a mixture, acceptance and suitability were modulated by the host plant. This is consistent with the results of previous studies, such as that of Grasswitz (1998). They show that a brief preflight experience of the aphid/plant combination resulted in a significant increase in the proportion of *A. colemani* females that responded to such a combination in a wind tunnel, compared to naive females. Damaged plants produce semiochemicals that can be detected by parasitoids and were tested in *A. ervi* (Du et al., 1998). Among the volatiles produced by plants in response to aphid attack, 6-methyl-5-hepten-2-one is identified as being primarily responsible for the attraction of *A. ervi*. In contrast, bean infested with *A. fabae* does not produce this volatile and attracted

significantly fewer *A. ervi*, for which *A. fabae* is not a host (Du *et al.*, 1996; Guerrieri *et al.*, 1999; Powell *et al.*, 1998).

In our study, the parasitoid *A. colemani* was the best in terms of acceptance, suitability and emergence on both species of aphids on both plants, followed by *L. testaceipes* and *L. fabarum*. The parasitoid *L. testaceipes* showed a preference and greater acceptance of *A. fabae* over *M. persicae*, when they were presented both individually and simultaneously, as well as on both host plants. *A. colemani* and *L. testaceipes* are generalists but with preferences for aphids on particular species of plants (Silva *et al.*, 2008; Soglia *et al.*, 2006). It is possible that preimaginal learning, such as contact with the mummy, may have occurred and determined host choice preference (van Emden *et al.*, 2008). Changes in host acceptance that depend on plant type are recorded for other aphid parasitoids. Experimental studies show that *L. testaceipes* accepts more aphids on mung bean than on cotton (Hopkinson *et al.*, 2013) and that *A. rhopalosiphi* more readily attacks its host *S. avenae* and non-host *M. persicae* on wheat than on Brussels sprouts (Brimah & Vanemden, 1994). *A. colemani* accepts a host more readily on cucumber than on eggplant (Messing & Rabasse, 1995). However, when provided with a choice of odours on infested plants, *A. colemani* does not show any significant preference for the cultivar on which they were reared (Kalule & Wright, 2004)..

L. fabarum clearly prefers *A. fabae* and does not parasitize *M. persicae*. This may be related to colour, as this parasitoid prefers

dark coloured aphids (Tregubenko, 1980). High suitability and emergence were recorded for *L. fabarum* attacking *A. fabae* on sugar beet. This is consistent with the results of Volkl & Stechmann (1998), who record that the percentage parasitism of *A. fabae* by *L. fabarum* in the field is lower on broad bean than on other host plants, including fodder beet. It is possible that our results for suitability were influenced by the aphid host being reared only on broad bean before the experiments, particularly for *M. persicae*. This is important in an applied context, as the host aphid and host plant used in the mass rearing of the parasitoid are often different to those of the target aphid and the target plant host. Further investigation of crosses using several aphid hosts with several host plants would help to determine if rearing conditions change parasitoid preferences.

Host switching experiments suggest that the natal host of the parasitoid is important in host selection (Bourchier *et al.*, 1994). It is possible that *L. testaceipes* prefers to lay its eggs on the host on which it was reared (Vinson, 1998). The wasps that had *A. fabae* – broad bean as a natal host combination parasitized *A. fabae* on broad bean (positive conditioning), while their performance on *A. fabae* – beet was variable, and they largely avoided the host combination they were reared on (negative conditioning). We obtained similar results for *L. testaceipes*, as the greatest acceptance of *A. fabae* was recorded on bean, which was also the rearing plant. In contrast, Hopkinson *et al.* (2013)

record that *A. craccivora* on mung bean is accepted more frequently by *L. testaceipes* than *A. gossypii* on cotton.

Bilu *et al.* (2006) record that *A. colemani* shows positive conditioning to *M. persicae* on peppers and negative conditioning to *R. padi* on wheat. However, their experiments were done using whole plants in a choice design and thus the conditioning effect included the attraction effect of the whole system, plant + host, and the suitability for the mummy's development. As parasitoids show a preference for the plant on which they were reared, this is most likely the consequence of conditioning. In our study attraction could play only a minor role as leaves, rather than whole plants, were used in the behavioural experiments.

Our results show that the choice of aphid by parasitoids depends not only on the species of aphid but also on the plant and previous rearing history. In sugar beet crops, the parasitoid *A. colemani* is able to attack the two main aphid species, *A. fabae* and *M. persicae*, which may be present simultaneously in the same field and even on the same plant. This makes it a good candidate for biological control of aphids on sugar beet, while *L. testaceipes* is limited mostly to *A. fabae*. However, the potential synergistic or competitive effects of the two parasitoid species on the growth of both aphid populations should be analyzed in field trials, particularly where the aphids are mixed, in order to better understand the consequences of the confusion effect.

Acknowledgments

This study was supported by a PhD fellowship from Université catholique de Louvain in Belgium. We thank G. Le Goff for his comments on the statistical analyses. We are grateful to M. Brooks for improving the English of the manuscript. We also thank C. Vorburger (Institute of Integrative Biology, Zurich) for providing the parasitoid *L. fabarum*, and Viridaxis S.A. in Belgium for providing the parasitoids *A. colemani* and *L. testaceipes*. This publication is 348 BRC of the Biodiversity Research Centre.

Disclosure. The authors declare that they have no conflict of interest.

Article 3

***L. fabarum* adapte son temps de résidence en fonction de la densité d'hôtes dans le patch.**

Loulou Albittar ¹, Mohannad Ismail ^{1,2}, Gwennaël Bataille ¹,
Inès Pons ¹, Claude Bragard ¹, Thierry Hance ¹

1 Earth and Life Institute, Biodiversity Research Centre,
Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve 1348,
Belgium

2 Key Laboratory of Aquatic Botany and Watershed Ecology,
Wuhan Botanical Institute/Wuhan Botanical Garden, Chinese
Academy of Sciences, Wuhan, 430074, China

Résumé

La stratégie d'exploitation de patchs successives de pucerons au laboratoire est une information intéressante pour comprendre le comportement des parasitoïdes face à plusieurs agrégats d'une densité différente, situation qu'il rencontre couramment en conditions réelles. Dans le but de mieux caractériser le comportement d'exploitation des colonies d'hôtes de différentes qualités, nous avons analysé au cours de cette étude l'évolution des taux de parasitisme au cours d'une séquence de visite de 3 patchs de qualité différentes afin de caractériser l'influence d'une expérience antérieure sur le temps de résidence et la prise de décision de la femelle.

Pour cela, nous avons comparé l'impact de la richesse ou la pauvreté du patch précédemment visité en termes de nombre de pucerons présents sur le comportement de la femelle *L. fabarum* quand elle visite subséquemment un patch pauvre ou riche en pucerons.

Trois patchs de densités des pucerons égales ou différentes sont présentés successivement à une femelle âgée ≤ 24 h. La femelle est observée et laissée dans chaque patch jusqu'à une durée maximale définie à 50 minutes. La femelle est libre de quitter le patch avant ces 50 minutes et dans ces conditions le temps réel de résidence est mesuré. Entre deux patchs, elle est isolée dans une boîte de Pétri durant 20 minutes, temps constant qui mine un trajet entre deux patch. De plus on a noté pour chaque patch : le temps de résidence du parasitoïde, le nombre de contacts antennaires ainsi que le nombre de contacts ovipositeurs.

Les résultats montrent que la densité d'un patch influence le temps de résidence de *L. fabarum* en fonction des séries (identiques ou différentes), et que la densité riche d'un patch allonge le temps de résidence de *L. fabarum*. Par contre, le temps de résidence dans le patch et pour toutes les séries est influencé par la densité d'hôtes de ce patch sans prendre en compte ce que s'est passé dans le patch précédent. Il semble donc que l'expérience antérieure ne change pas le comportement d'exploitation de la femelle mais que seule intervient la qualité du patch qu'elle est occupée à visiter. De plus, le nombre de contact ovipositeur augmente lorsque la densité du patch de visite est riche quelle que soit la densité du patch précédent, ce qui conduit à montrer que chaque contact ovipositeur correspond à une expérience positive pour les femelles.

Introduction

En général, tous les animaux font face à la nécessité de chercher et de trouver les ressources nécessaires pour leur croissance, leur longévité et leur reproduction de la façon la plus optimale (MacArthur & Pianka, 1966). Les animaux qui exploitent un environnement hétérogène doivent être capables d'acquérir et traiter les informations pertinentes de cet environnement et leur changement permanent. Ils sont donc face à des décisions complexes comme où aller exploiter et pour combien du temps (Pike *et al.*, 2000). Quels sont les critères qui vont déterminer leur temps de résidence ou les pousser à continuer la recherche ailleurs ? Pourquoi certains individus répondent-ils d'une manière différente aux mêmes signaux (van Alphen *et al.*, 2003)? Plusieurs modèles théoriques tentent de répondre aux questions précédentes et prédire l'allocation du temps du patch qui maximiserait la valeur adaptative d'un individu, comme le modèle de Charnov en 1976 qui a proposé le théorème de la valeur marginale par lequel il décrit le gain de valeur adaptative d'un animal et le moment optimal auquel il prend la décision de quitter l'agrégat pour en chercher un autre plus profitable. Le taux marginal de gain de fitness est représenté ici par la pente de la tangente à la courbe (Figure 3.1).

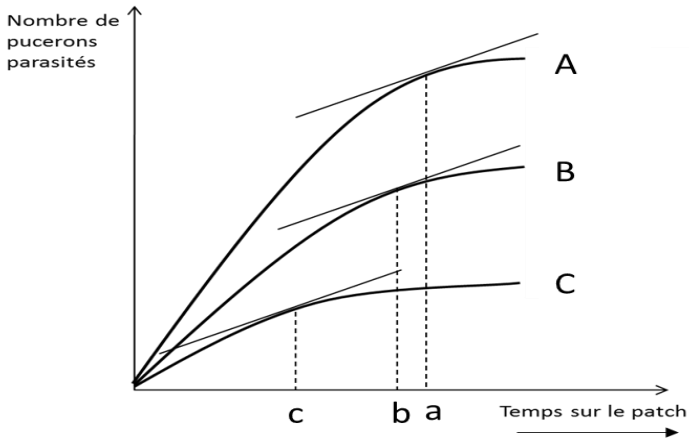


Figure 3.1. Le taux marginal de fitness gain, représentation graphique du théorème de la valeur marginale de Charnov (1976). A= densité riche, B= densité moyenne, C= densité pauvre.

Plus le temps de résidence augmente, plus le taux marginal de gain de fitness diminue selon le nombre d'hôtes parasités. Selon Charnov (1976), la femelle doit quitter le patch au moment où le taux instantané de découverte devient inférieur à la valeur moyenne de ce taux dans le milieu. Ce modèle est basé sur deux prédictions principales, la première est que la femelle reste plus longtemps dans l'agrégat dont la densité d'hôte est élevée, la seconde, que la femelle reste plus longtemps lorsque la durée de trajet entre les différents patches est grande. Dans ce dernier cas, le risque de ne pas trouver un patch à exploiter est grand, ainsi que la femelle soit vulnérable pour les prédateurs.

Le théorème de Charnov a rencontré plusieurs critiques concernant l'hypothèse que la femelle est omnisciente et capable

d'estimer le gain de fitness qu'elle pourrait avoir en quittant un agrégat d'hôtes pour en rechercher un nouveau. Sous cette hypothèse, elle aurait donc une connaissance globale de l'état de la ressource dans le milieu qu'elle peut visiter. Un « *modèle d'approvisionnement optimal avec apprentissage* » a été développé par Houston & McNamara en 1986. Ce modèle considère que le parasitoïde est capable d'estimer à priori la qualité de l'agrégat qu'il exploite et de modifier sa décision en fonction de son expérience. Il considère donc que la femelle entre dans un patch avec une base initiale de motivation à rester, par l'attractivité de l'odeur émise par l'hôte. Suite à cela, des modèles mécanistiques ont été réalisés afin d'expliquer les processus de prise de décision de la femelle, et de déterminer le temps de résidence optimal du parasitoïde sur un patch (Driessen *et al.*, 1995; Waage, 1979). Selon ces différents modèles (incrémentaux, décrémentationaux), le temps de résidence optimal est influencé par différents facteurs tels que le taux de kairomones présent sur le patch, la densité d'hôtes, le temps de trajet entre les différents patches, la qualité des patches précédents et l'état physiologique de la femelle (Boivin *et al.*, 2004; Driessen & Bernstein, 1999; Outreman *et al.*, 2005; Wang & Keller, 2004).

Les parasitoïdes sont des insectes qui souvent ont été utilisés pour tester les théories d'écologie comportementale. Ils sont aussi des agents très importants de la lutte biologique contre les herbivores, comme les pucerons qui attaquent les cultures (van Alphen *et al.*, 2003). Ils représentent une bonne opportunité pour comprendre comment ils peuvent utiliser des informations qu'ils perçoivent

de leur environnement dans le contexte de l'exploitation futur des patches d'hôtes (Hoedjes *et al.*, 2011).

La stratégie de recherche des parasitoïdes va dépendre de leur limitation, soit le nombre d'œufs disponibles pour la ponte pour les espèces limitées en quantité d'œufs ou le temps disponible pour localiser et trouver leurs hôtes pour les espèces dont le temps de vie est limité (Heimpel & Rosenheim, 1998).

Afin de maximiser les chances de réussite d'une future lutte biologique, le comportement de ponte des parasitoïdes, en particulier leur façon d'optimiser leur temps de vie pour maximiser leur fitness est un point central à étudier (van Alphen *et al.*, 2003). Après émergence et accouplement, le parasitoïde commence à chercher ses hôtes, soit au sein de la colonie où il a émergé, soit en se dispersant sur de longues distances lorsque le nombre d'hôte est limité au sein de cette colonie (Weisser *et al.*, 1997). En général, les parasitoïdes sont attirés par un agrégat d'hôtes via les stimuli chimiques émis par la plante ou directement par les kairomones émises par les pucerons surtout quand ces derniers sont présents en forte densité sur le site (Le Ralec *et al.*, 2010). Une fois que le parasitoïde a trouvé l'agrégat à exploiter, plusieurs facteurs influencent son comportement et son temps de résidence sur le patch, afin d'optimiser sa présence dans l'agrégat. Le temps de résidence des parasitoïdes dans les agrégats est souvent un point focal de l'analyse comportementale des parasitoïdes qui exploitent les hôtes distribués d'une manière groupées dans différents agrégats (Waage, 1979; McNamara & Houston, 1985; Godfray, 1994) et qui détermine le moment où ils

décident de quitter cet agrégat lorsque la qualité des hôtes diminue (Boivin, 2012). Ce moment est basé sur plusieurs informations obtenues durant l'exploitation de différentes ressources (anciennes et actuelles). Plusieurs études ont évalué l'effet de plusieurs sources d'informations sur le comportement de parasitoïdes (Froissart *et al.*, 2012; Muratori *et al.*, 2008a; Tentelier *et al.*, 2009; Thiel & Hoffmeister, 2006).

Au cours de notre étude, nous nous sommes intéressé au comportement d'approvisionnement de *Lysiphlebus fabarum* (Marshall) (Hymenoptera: Braconidae), le parasitoïde d'*A. fabae* le plus abondant dans l'agroécosystème d'Europe centrale (Stary, 1970). La femelle a une durée de vie moyenne de 13 jours à 21°C, mais cette durée varie en fonction de la disponibilité en nourriture, en pucerons, en fonction des temps de recherche active et des conditions environnementales (Matin *et al.*, 2009). *L. fabarum* montre un comportement unique chez Aphidiinae de sollicitation de la production de miellat directement de pucerons comme le font les fourmis, en imprimant légèrement et à plusieurs reprises des tapotements sur *A. fabae* avec l'extrémité des antennes courbées vers le bas à la manière d'une fourmi. En conséquence, il se sert des pucerons à la fois comme source de nourriture et comme hôtes pour la ponte et son temps de résidence dans la colonie augmente jusqu'à 3,6 fois pour des femelles à jeun par rapport à des femelles nourries avec du miel. Ce comportement ne cause pas une mortalité de l'hôte mais il réduit les mécanisme de défense (Rasekh *et al.*, 2010a).

Il existe peu d'étude sur l'analyse successive de patches d'hôtes de qualité différentes et des conséquences de l'expérience antérieure sur les comportements subséquents. Or, cela correspond précisément à la situation en conditions naturelles. L'objectif de notre étude était précisément d'analyser l'influence d'une expérience antérieure sur le temps de résidence et la prise de décision de la femelle. Pour cela, nous avons comparé l'impact de la richesse ou la pauvreté du patch précédemment visité en termes de nombre de pucerons présents sur le comportement de la femelle *L. fabarum* quand elle visite subséquemment des séries des patches de qualité identiques ou différentes. En accord avec la théorie de Charnov (1976), on peut émettre l'hypothèse qu'une femelle parasitoïde optimise son comportement pour maximiser son fitness. On s'attend donc à ce qu'une femelle confrontée uniquement à des patches pauvres en hôtes, ou uniquement à des patches riches en hôtes, augmente son temps de résidence sur les patches ainsi que son efficacité de ponte au fur et à mesure des rencontres, le manque de variation dans son environnement la rendant moins sélective. A l'inverse, en présence de patches de densité d'hôtes variables, la femelle devrait augmenter ou diminuer son temps de résidence, en fonction de son expérience sur les patches précédents.

Matériels et méthodes

Insectes

Les pucerons *A. fabae* ont été obtenus auprès de Laboratory of Functional and Evolutive Entomology (Université de Liège-Gembloux) en Belgique et ont été élevés en continu dans des pots contenant des plants de fèves (*Vicia fabae*) dans la section biodiversité de l'Earth and Life Institute (Université catholique de Louvain). Les pucerons ont été maintenus dans des cages en bois (50 × 50 × 50 cm) dans des logettes climatisées à 20 ± 1 ° C, humidité relative $60 \pm 10\%$ et photopériode 16L: 8D. Les pucerons utilisés dans les essais étaient de troisième stade larvaire (L3). Afin de synchroniser l'âge des individus, 20 adultes ont été mis sur une plante de fève puis retirés le lendemain. Après 3 jours les larves que nous obtenions étaient toutes âgées du stade L3.

La souche du parasitoïde *L. fabarum* (souche Thelytokus IL07-64) a été obtenue auprès du professeur C. Vorburger (Institute of Integrative biology (Zurich, Suisse) et a été élevée sur le puceron *A. fabae* élevé sur des plants de fèves. Des parasitoïdes synchronisés ont été produits en exposant le troisième stade de *A. fabae* aux femelles de *L. fabarum* âgées de 2 à 3 jours (1 femelle pour 10 pucerons) dans une cage en bois de 50 x 50 x 30 cm pour 24h. Huit à dix jours plus tard, les momies ont été soigneusement retirées des feuilles en utilisant une brosse fine et isolées individuellement dans Eppendorf jusqu'à l'émergence. Les femelles utilisées dans les essais biologiques étaient âgées de

moins de 24h et nourries de miel dilué. Les parasitoïdes ont été maintenus dans une logette à 22 ± 1 ° C, humidité relative $60 \pm 10\%$ et une photopériode 16L: 8D.

Les plantes

Deux espèces de plantes ont été utilisées : les betteraves *Beta vulgaris*, souche iranienne (MLD2-C651-F1C), cultivée à une densité d'une graine par pot (5 cm), et les fèves *Vicia faba* pour laquelle 6 graines par pot (13 cm) ont été plantées. Les deux cultures ont été maintenues dans une serre à 23 ± 2 ° C et une photopériode de 16L: 8D.

L'expérimentation du comportement

Trois patches de densité de pucerons (5 pucerons ou 30 pucerons), égales ou différentes sont présentés successivement à une femelle âgée ≤ 24 h. La femelle est observée et laissée dans chaque patch jusqu'à une durée maximale définie à 50 minutes. La femelle est libre de quitter le patch avant ces 50 minutes et dans ces conditions le temps réel de résidence est mesuré. Entre deux patches, elle est isolée dans une boîte de Pétri durant 20 minutes, temps constant qui mime un trajet entre deux patch (Muratori *et al.*, 2008). Le dispositif expérimental utilisé lors de cette expérience est constitué d'une plaque en verre sur laquelle nous avons tracé un cercle rouge de 5 cm de rayon, celui-ci délimite la zone maximum au-delà de laquelle le parasitoïde sera considéré comme ayant quitté le patch. Au centre de cercle, une feuille de

betterave d'environ 2 cm² portant les pucerons a été déposée. Cette plaque a été recouverte d'une cage en plastique transparent, percée aux extrémités de deux trous recouverts de toile. L'expérience a été faite sur une table lumineuse (2500 LUX) dans une chambre noire à 20 ± 1°C.

Les observations ont été réalisées via le logiciel "JWatcher_V1.0", grâce à ce logiciel, il a été noté pour chaque patch : le **temps de résidence** du parasitoïde, le **nombre de contacts antennaires** ainsi que le **nombre de contacts ovipositeurs**.

Le **temps de résidence** correspond au temps où le parasitoïde reste sur le patch. C'est à dire la durée entre le dépôt du parasitoïde au milieu du patch et sa sortie du cercle rouge. La sortie est validée lorsque le parasitoïde passe au moins une minute hors du cercle (Muratori *et al.*, 2008).

Une fois que le parasitoïde a dépassé les 50 minutes, il a été retiré manuellement du patch. Le nombre d'un **contact antennaire** a été défini comme étant le nombre de fois où le parasitoïde touche un même puceron avec ses antennes. Le nombre de **contacts ovipositeurs** correspond au nombre de fois où le parasitoïde plie son abdomen et tente de piquer un puceron.

Nous avons réalisé 4 séries différentes de patchs successifs de densité variable (les **patchs P : pauvres**, contenant 5 pucerons et les **patchs R : riches**, contenant 30 pucerons). Les densités de pucerons ont été choisies d'après la variabilité dans la distribution des agrégats en prélevant les échantillons, durant notre première

expérience de terrain. Les séries (RRR, RPR) ont été répétées 19 fois et les séries (PPP, PRP) ont été répétées 20 fois.

L'expérience a été réalisée en respectant le protocole suivant (Figure 3.2) :

Premier patch

La feuille de betterave est déposée au centre du cercle, sur laquelle une première densité de pucerons a été placée (L3) (définie dans le schéma d'expérience). Ensuite le patch est recouvert d'une cage en plastique, puis le parasitoïde est introduit au niveau de feuille.

La femelle a été retirée une fois qu'elle avait quitté le patch (après une minute hors du patch), ou une fois qu'elle était restée dans le patch après 50 minutes d'observation. Les pucerons sont ensuite récupérés et déposés dans une boîte de Pétri avec un couvercle permettant l'aération et contenant un coton imbibé d'eau avec au-dessus une feuille de féverole.

Second patch

Au terme des 20 minutes, l'expérience a été renouvelée comme dans le premier patch avec la même femelle, mais avec un nouveau patch de pucerons (L3), nombre de pucerons ($P=5$, $R=30$) est défini dans le schéma d'expérience. Puis les pucerons ont été déposés dans une nouvelle boîte de Pétri sur une nouvelle feuille de féverole.

Troisième patch

Au terme des 20 minutes, l'expérience a été renouvelée une troisième fois avec la même femelle mais un troisième patch de pucerons (L3) (nombre égal au premier patch de pucerons), défini sur le schéma d'expérience). Puis les pucerons ont été déposés dans une troisième boîte de Pétri sur une nouvelle feuille de féverole.

Les 3 boîtes de Pétri contenant les pucerons ont été mises à incuber durant 7 à 10 jours dans une logette de parasitoïdes à 21-22°C. Les feuilles de féveroles contenues dans les boîtes ont été changées une fois chaque 3 jours. Des observations régulières ont permis de récupérer les momies s'étant formées pour les compter.

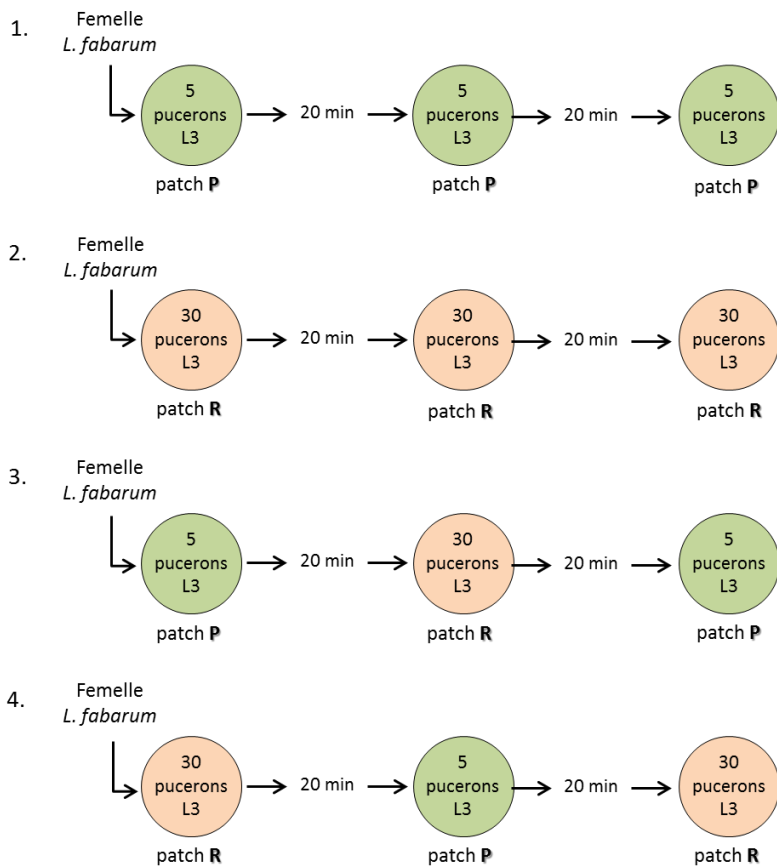


Figure 3.2. Schéma de l'expérience d'exploitation successive de patch riches ou pauvres par les parasitoïdes en laboratoire

Analyses statistiques

Les données ont été analysées via le logiciel R studio (version 3.3.3, 2017). Pour le temps de résidence, les données ont été analysées par la régression de Cox (modèle à risque proportionnel) (proportional hazard regression) (Cox, 1972). Comme la sur-dispersion était plus élevée que ce qu'elle devrait être, les données du nombre de contacts antennaires, le nombre de contacts ovipositeurs et le nombre de momies ont été traitée par GLM binomial négatif (Modèle linéaire généralisé) en analysant ce qui se passe dans le patch 1, ce qui se passe dans le 2 en fonction du patch 1 et ce qui se passe dans le patch 3 en fonction du patch 2. Les graphiques du temps de résidence, nombre de contact antennaire et le nombre de contact ovipositeur ont été tracés en utilisant la moyenne (moyenne $\pm$ SE).

Résultats

En général, le temps de résidence variait entre les patchs riches et les patchs pauvres, ainsi que le comportement du parasitoïde dans chaque patch. On a remarqué que le temps le plus élevé était en moyenne environ 43 minutes dans le patch riche tandis que le plus bas était en moyenne 8 minutes dans le patch pauvre (Tableau 1). On a trouvé qu'il y a une différence significative du temps de résidence selon les séries d'expériences ($\chi^2 = 59.35$, $df = 3$, $p < 0.001$), et selon les patchs (selon l'ordre de présentation) ($\chi^2 = 10.86$, $df = 2$, $p < 0.01$). Il y un effet significatif de l'interaction séries/patch ($\chi^2 = 23.67$, $df = 6$, $p < 0.001$).

Tableau 3.1: les moyennes $\pm$ SD du temps de résidence (TR), contact ovipositeur (CO), contact antennaire (CA) et nombre de momies (R= 30 puceron, P= 5 pucerons)

série	moyenne $\pm$ SD de TR			moyenne $\pm$ SD de CO			moyenne $\pm$ SD de CA			moyenne $\pm$ SD de momies		
	Patch 1	Patch2	Patch 3	Patch 1	Patch2	Patch 3	Patch 1	Patch2	Patch 3	Patch 1	Patch2	Patch 3
RRR	31,294 $\pm$ 20,93	31,84 $\pm$ 20,92	42,626 $\pm$ 15,93	24,421 $\pm$ 23,33	25,21 $\pm$ 21,64	45,736 $\pm$ 30,32	264,63 $\pm$ 412,61	267,26 $\pm$ 429,36	376,21 $\pm$ 332,42	3,625 $\pm$ 0,65	3,166 $\pm$ 0,56	5,066 $\pm$ 0,82
PPP	7,75 $\pm$ 8,13	10,732 $\pm$ 13,65	14,585 $\pm$ 14,90	0,4 $\pm$ 1,56	4,8 $\pm$ 9,31	5,7 $\pm$ 8,97	9,05 $\pm$ 39,30	49,55 $\pm$ 124,55	105,9 $\pm$ 208,74	0 $\pm$ 0	1,1 $\pm$ 0,22	0,55 $\pm$ 0,162
RPR	19,154 $\pm$ 19,65	9,762 $\pm$ 11,96	39,085 $\pm$ 16,80	15,315 $\pm$ 20,50	3,578 $\pm$ 6,88	43,105 $\pm$ 23,45	80,26 $\pm$ 185,88	50,89 $\pm$ 143,98	160,05 $\pm$ 272,80	6,5 $\pm$ 0,89	1,8 $\pm$ 0,29	8,846 $\pm$ 1,31
PPR	7,722 $\pm$ 7,25	21,933 $\pm$ 20,91	11,484 $\pm$ 14,04	0,6 $\pm$ 2,03	21,05 $\pm$ 27,24	6,75 $\pm$ 14,78	10,05 $\pm$ 34,37	101,6 $\pm$ 263,05	60,3 $\pm$ 186,90	1,5 $\pm$ 0,38	5,5 $\pm$ 0,96	2,25 $\pm$ 0,38

Le temps de résidence (Figure 3.3)

Temps de résidence dans le patch 1

Une différence significative du temps de résidence dans le patch 1 apparaît en fonction de la densité de ce patch ($\chi^2 = 20,584$, $df = 1$, $p < 0.001$). Le temps de résidence augmente quand la densité de ce patch est la plus élevée.

Temps de résidence dans le patch 2 en fonction de la densité du patch 2 & 1

Le temps de résidence est significativement différent dans le patch 2 selon la densité de ce patch ($\chi^2 = 17.02$, $df = 1$, $p < 0.001$), quand la densité de patch 2 est riche le temps de résidence augmente. Par contre, il n'y a pas de différence significative du temps de résidence dans le patch 2 selon la densité de patch 1, qu'il soit pauvre ou riche ($\chi^2 = 1.27$, $df = 1$, $p = 0.26$), ni pour l'interaction entre la série et la richesse du patch 2 ($\chi^2 = 2.71$, $df = 1$, $p = 0.09$).

Temps de résidence dans le patch 3 en fonction de la densité du patch 3 & 2

Il existe une différence significative du temps de résidence dans le patch 3 selon la densité de ce patch ($\chi^2 = 34.59$, $df = 1$, $p < 0.001$). Par contre, on n'observe pas de différence significative pour le temps de résidence dans le patch 3 selon la densité de

patch 2 ($\chi^2 = 0.24$, $df = 1$, $p = 0.63$) et pour les interactions entre la densité de patch 2 et patch 3 ($\chi^2 = 2.75$, $df = 1$, $p = 0.09$).

Temps de résidence dans le patch 2 en fonction de la série

Les résultats montrent une différence significative du temps de résidence dans le patch 2 en fonction de la série ($\chi^2 = 21$, $df = 3$, $p < 0.001$). Pour les séries RRR, PRP le temps est significativement plus important que dans les séries PPP et RPR, c'est-à-dire quand la densité de patch 2 est riche.

Temps de résidence dans le patch 3 en fonction de la série

Il apparaît également une différence significative du temps de résidence dans le patch 3 selon la série ($\chi^2 = 37.57$, $df = 3$, $p < 0.001$). Le temps de résidence est significativement plus important dans les séries RRR et RPR que dans les séries PPP et PRP. En effet, on remarque que le temps de résidence est plus grand lorsque la densité des patches 3 est riche.

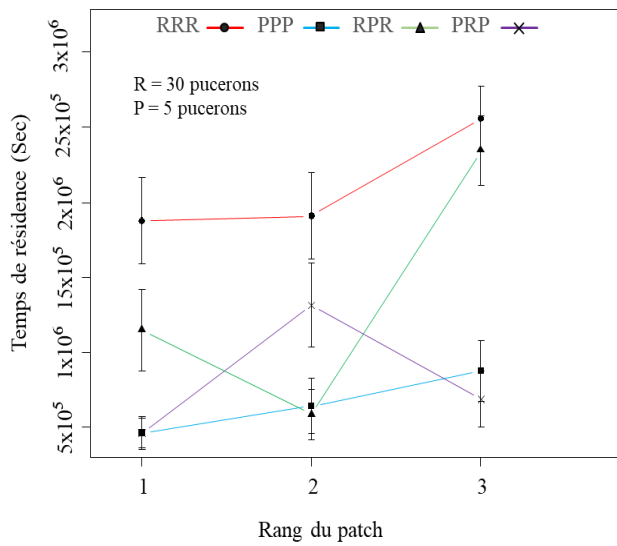


Figure 3.3. Moyenne du temps de résidence dans les quatre séries en fonction du rang du patch (R = 30 pucerons, P = 5 pucerons)

Le nombre de contacts ovipositeurs (Figure 3.4)

Le nombre de contact ovipositeur dans le patch1

Une différence significative du nombre de contact ovipositeur apparaît dans le patch 1 en fonction de la densité de ce patch (Déviance = 29,75, df = 1, $p < 0.001$).

Le nombre de contact ovipositeur dans le patch2 en fonction de la densité de patch 2 & 1

De même, une différence significative du nombre de contact ovipositeur dans le patch 2 en fonction de la densité de ce patch est mise en évidence (Déviance= 11.87, df = 1, $p < 0.001$) mais pas en fonction de la densité du patch 1 (Déviance= 0.05, df = 1, $p = 0.82$), ni pour l'interaction (Déviance= 0.52, df = 1, $p = 0.61$).

Le nombre de contacts ovipositeurs dans le patch 3 en fonction de la densité de patch 3 & 2

Le nombre de contacts ovipositeurs dans le patch 3 diffère significativement en fonction de la densité de ce patch (Déviance= 26.33, df = 1, $p < 0.001$). Aucune différence significative du nombre de contacts ovipositeurs dans le patch 3 selon la densité de patch 2 n'a pu être mise en évidence (Déviance = 0.04, df = 1, $p = 0.84$). Le nombre de contacts ovipositeurs augmente quand la densité de patch 3 est riche quelle que soit la densité du patch 2. Il n'y a pas d'effet significatif de l'interaction

entre la densité du patch 3 et patch 2 sur le nombre de contact ovipositeur (Déviance = 0.02, $df = 1$, $p = 0.88$).

Le nombre de contacts ovipositeurs dans le patch 2 selon la série

Il y a une différence significative du nombre de contacts ovipositeurs dans le patch 2 selon la série (Déviance = 12.86, $df = 3$, $p < 0.01$). Il y a une différence significative entre la série RRR et RPR, entre la série PRP et RPR (tableau). Le nombre de contacts ovipositeurs est plus grand quand le patch 2 est riche quel que soit le patch précédent.

Le nombre de contacts ovipositeurs dans le patch 3 selon la série

Il y a une différence significative du nombre de contacts ovipositeurs dans le patch 3 selon la série (Déviance = 26,38, $df = 3$, $p < 0.001$). Pour les séries RRR, RPR le nombre de contacts ovipositeurs est significativement plus important que dans les séries PPP, PRP. Le nombre de contact ovipositeur est plus grand quand la densité de patch 3 est riche.

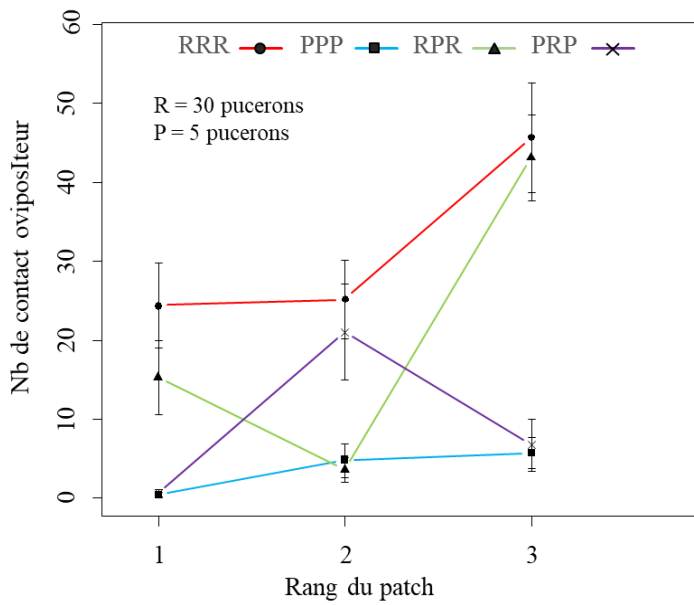


Figure 3.4. Moyenne du nombre de contacts ovipositeurs dans les quatre séries en fonction du rang du patch (R= 30 pucerons, P=5 pucerons)

Le nombre de momies et le taux de parasitisme (Figure 3.5)

Les résultats mettent en évidence une différence significative du nombre de momies selon les séries (Déviance = 70.4, $df = 3$, $p < 0.001$). Par contre, il n'y a pas de différence significative pour le nombre de momies selon les patchs (Déviance = 4.34, $df = 2$, $p = 0.11$). Il y a un effet significatif de l'interaction entre séries et patchs sur le nombre de momies (Déviance = 25.57, $df = 3$, $p < 0.001$) (Tableau 1, Figure 3.5).

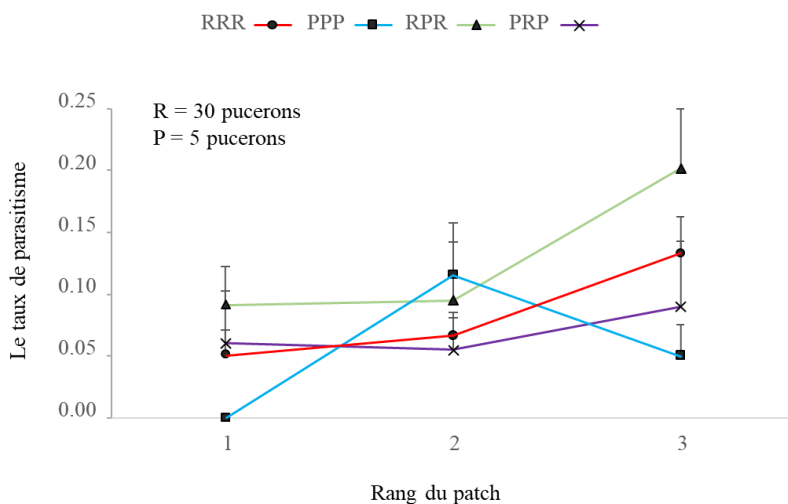


Figure 3.5. Le taux de parasitisme dans les quatre séries en fonction du rang du patch (R= 30 pucerons, P=5 pucerons).

Le nombre de contacts antennaires (Figure 3.6)

Le nombre de contacts antennaires dans le patch 1

Il y a une différence significative du nombre de contact antennaire dans le patch 1 en fonction de la densité de ce patch (Déviance = 14.83, $df = 1$, $p < 0.001$)

Le nombre de contacts antennaires dans le patch 2 en fonction de la densité de patch 2&1

Aucune différence significative du nombre de contact antennaire dans le patch 2 en fonction de la densité du patch 2 (Déviance = 3.69, $df = 1$, $p = 0.05$) et la densité de patch 1 n'a pu être mise en évidence (Déviance= 1.61, $df = 1$, $p = 0.20$).

Le nombre de contacts antennaires dans le patch 3 en fonction de la densité de patch3 & 2

Cette fois, le nombre de contact antennaire dans le patch 3 diffère en fonction de la densité d'hôtes (Déviance = 5.24, $df = 1$, $p < 0.001$). On n'observe pas de différence significative du nombre de contacts antennaires dans le patch 3 en fonction de la densité du patch 2 (Déviance = 1.10, $df=1$, $p = 0.29$). Le nombre de contact antennaire augmente quand la densité du patch 3 est riche quelle que soit la densité du patch 2. Il n'y a pas d'effet significatif de l'interaction entre la densité du patch3 et patch 2 sur le nombre de contact antennaire (Déviance = 2.35, $df = 1$, $p = 0.12$).

Le nombre de contacts antennaires dans le patch 2 selon la série

Aucune différence significative du nombre de contacts antennaires dans le patch 2 selon la série n'a pu être mise en évidence (Déviance = 5.94, $df = 3$, $p = 0.11$).

Le nombre de contacts antennaires dans le patch 3 selon la série

Il y a une différence significative du nombre de contact antennaire dans le patch 3 selon la série (Déviance = 8.69, $df = 3$, $p < 0.001$). Pour les séries RRR, RPR le nombre de contacts antennaires est significativement plus important que dans les séries PPP, PRP. Le nombre de contact antennaire dans le patch 3 est plus grand quand la densité de patch 3 est riche.

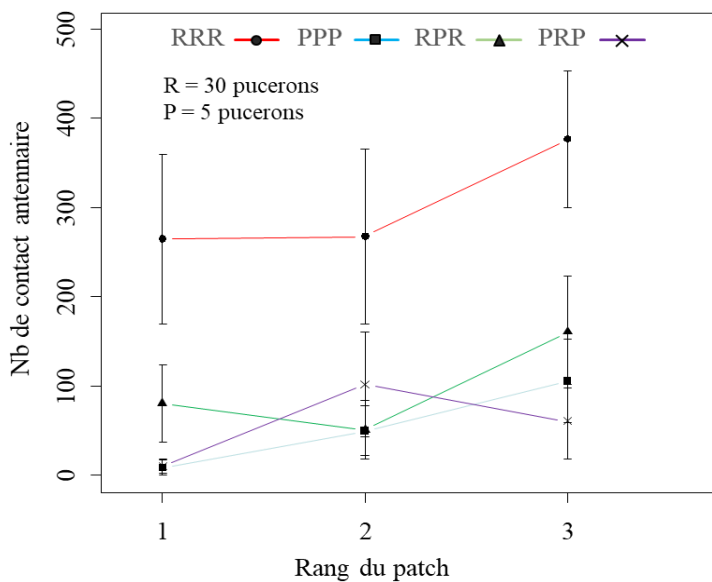


Figure 3.6. Moyenne du nombre de contacts antennaires dans les quatre séries en fonction du rang du patch (R= 30 pucerons, P=5 pucerons)

Discussion

Dans cette étude, on a observé comment *L. fabarum* gère son temps de résidence ou son comportement une fois qu'il est en face d'un patch riche ou pauvre en fonction de ce qu'il a rencontré précédemment. On a trouvé que la densité d'un patch influence le temps de résidence de *L. fabarum* en fonction des séries (identiques ou différentes), et que lorsque la densité d'un patch est élevée, la femelle de *L. fabarum* allonge son temps de résidence quelle que soit la densité du patch précédent. Le nombre de contacts ovipositeurs était aussi influencé par la densité du patch visité quelle que soit la densité du patch précédent,

En général, on a pu observer que dans les séries identiques RRR ou PPP, le temps de résidence augmente graduellement et devient plus élevé dans le troisième patch. Dans les autres séries, la densité riche d'un patch allonge le temps de résidence de *L. fabarum*. Par contre, le temps de résidence dans le patch et pour toutes les séries est influencé par la densité de ce patch sans prendre en compte ce que s'est passé dans le patch précédent.

La femelle avait tendance à rester plus de temps lorsque la densité du patch actuellement visité est riche quelle que soit la densité du patch précédent. Il semble donc que l'expérience antérieure ne change pas le comportement d'exploitation de la femelle mais que seule intervient la qualité du patch qu'elle est occupée à visiter. Par conséquent, la femelle passe plus de temps dans le deuxième patch pour les séries RRR (31.84 ± 20.92 minutes), PRP (21.93 ± 20.91 minutes) et plus de temps dans le troisième patch pour les

séries RRR (42.63 ± 15.93 minutes), RPR (39.09 ± 16.80 minutes). Il y avait une augmentation graduelle pour la série RRR. On peut donc penser que la perception d'un parasitoïde de la disponibilité des hôtes (densité) est rapide et correcte et pourrait se baser sur une quantité de kairomones diffusée (Powell & Zhang, 1983), la quantité du miellat accumulée (Budenberg, 1990) et le nombre d'hôtes rencontré (van Steenis *et al.*, 1996). Ces résultats sont en accord avec la première prédiction du théorème de la Valeur Marginale de Charnov (1976) qui décrit à quel moment optimal un parasitoïde a tendance à quitter le patch qu'il exploite pour en chercher un autre, et que ce parasitoïde devrait rester plus longtemps lorsque la densité ou les ressources de ce patch sont élevées. Par contre, ces observations ne sont pas en accord avec les résultats de l'étude de Thiel & Hoffmeister (2006) sur le parasitoïde de Drosophile *Asobara tabida* Nees (Hymenoptera: Braconidae). Dans ce cas, ils ont montré que la décision de quitter le patch ou de rester était influencée par les rencontres avec des hôtes non adéquats tandis que l'effet de la densité de l'hôte était relativement faible.

Le comportement de ponte des parasitoïdes et leur façon d'optimiser leur temps de vie afin de maximiser leur fitness sont des points essentiels qui influencent la décision d'un parasitoïde pour quitter le patch (van Alphen *et al.*, 2003). De plus, le mécanisme utilisé pourrait être lié à ses informations collectées durant l'exploitation du patch (nombre d'ovipositions et le nombre de rejets) (Iwasa *et al.*, 1981). Cette décision est alors

déterminée par un mécanisme qui peut être incrémental ou décrémental (Outreman *et al.*, 2005). Dans cette étude, comme le nombre de contact ovipositeur augmente lorsque la densité du patch de visite est riche et il baisse lorsque le patch de visite est pauvre quelle que soit la densité du patch précédent, chaque oviposition correspond à une expérience positive pour la femelle et lui montre les hôtes à exploiter. Bien qu'un test expérimental ou un calcul de modélisation n'ont pas été faits, nous supposons que le parasitoïde *L. fabarum* a tendance à exploiter beaucoup plus et à rester plus longtemps dans le patch riche. Il semble donc qu'il suit un mécanisme incrémental lorsque le patch est riche mais il peut être en même temps décrémental et qu'il change son comportement de ponte lorsque la densité du patch est pauvre. Ce passage d'un mécanisme incrémental à un mécanisme décrémental a été mis en évidence dans une étude de Outreman *et al.* (2005) sur le parasitoïde *Aphidius rhopalosiphi* qui attaque le puceron du blé *Sitobion avenae*, en observant son comportement vis-à-vis de plusieurs patches avec densités différentes. Cette étude a montré que *A. rhopalosiphi* augmente son temps de résidence dans le patch de visite après chaque oviposition lorsque la densité de puceron est riche. Cependant, il peut changer graduellement le mécanisme qui devient décrémental lorsque le parasitoïde a déjà pondu plusieurs œufs.

Le mécanisme incrémental qui a été décrit par Waage (1979) pour le parasitoïde *Venturia canescens* (Gravenhorst). Il est associé à la façon dont les individus sont distribués et selon la connaissance

de la distribution des hôtes par la femelle (un peu ou aucune information) dans le patch. Dans notre étude, les femelles de *L. fabarum* utilisées durant l'expérience étaient naïves au départ. Elles ont ensuite exploité plusieurs séries de patchs avec un nombre d'individus différents sans nécessairement connaître la densité disponible dans le patch. En conséquent, nous supposons qu'un mécanisme incrémental chez *L. fabarum* a été adopté et conduit à un temps de résidence plus long dans le patch riche.

Plusieurs contacts ovipositeur ont été observés sur le même puceron hôte. Cependant, ces pucerons n'ont pas été disséqués et il n'est donc pas possible de confirmer la ponte et l'existence d'un véritable superparasitisme bien que celui-ci soit possible. Rosenheim & Mangel (1994) ont prédit que le superparasitisme est un mécanisme qui encourage le parasitoïde à prendre la décision de quitter le patch le plus tôt possible et qui accélère son départ. Or, dans notre étude, *L. fabarum* ne paraît pas être influencé par ce mécanisme et semble incapable de distinguer les pucerons déjà parasités comme cela été observé chez le parasitoïde *Aphidius rhopalosiphi* lorsque le parasitisme est récent (Outreman *et al.*, 2005). A l'avenir, il serait nécessaire de vérifier l'existence d'un véritable superparasitisme et de déterminer à partir de quel moment *L. fabarum* est capable de discriminer des hôtes déjà parasités.

Bien que le nombre de contacts ovipositeurs était significativement plus important dans les patchs riches et différent entre les séries, le nombre de momies produites n'était

pas différent entre les patchs mais bien entre les séries. Le nombre plus élevé de momies a été remarqué dans la série RPR, puis dans la série RRR. Cela signifie que, même si la femelle a tendance à piquer beaucoup plus ou à passer plus du temps dans le patch riche, elle ne va pas forcément y pondre plus. Ce comportement est bien connu chez notre espèce d'étude (Rasekh *et al.*, 2010b) . Ces résultats peuvent être expliqués par l'interaction des variables de l'état physiologique concernant l'état de la femelle, sa réserve d'œuf ou la fatigue et des variables d'état écologique comme l'état des patchs, la taille des hôtes, la structure d'âge du patch, tout cela peut jouer un rôle déterminant à la motivation de ponte (Houston *et al.*, 1988; Iwasa *et al.*, 1984; Sirot & Bernstein, 1997). Par d'ailleurs, *L. fabarum* est un parasitoïde qui possède une sorte d'adaptation très particulière pour chercher sa nourriture auprès de la colonie des pucerons en imitant les fourmis. C'est un parasitoïde lent, il prend environ 7.5% de son temps à examiner son hôte, et environ 31,9% à taper avec ses antennes pour solliciter le rejet de miellat par l'hôte, miellat dont la femelle adulte se nourrit (Rasekh *et al.*, 2010a). Dans notre cas, la production de momies peut atteindre un maximum 8, 8 pour un comportement de ponte de 50 minutes alors que les résultats de (Rasekh *et al.*, 2010a), ont montré que *L. fabarum* est capable de rencontrer en moyenne 47.4 ± 6.4 pucerons par heure, mais pond seulement 1.2 œufs par heure. Selon ces auteurs, l'insertion de l'ovipositeur peut prendre entre 2 secondes et une minute. De plus, la majorité des insertions ne donne pas lieu à une ponte.

Nos analyses ont montré qu'il y avait une différence significative pour le nombre de contacts antennaires uniquement dans le troisième patch. *L. fabarum* est une espèce proovigénique (tous les œufs sont matures dès l'émergence) (Rasekh *et al.*, 2010a). Comme toutes les espèces proovigéniques, on suppose, que *L. fabarum* lorsqu'il arrive au troisième patch, comme il a déjà pondu une partie de son stock d'œufs, il prend plus de temps pour examiner les hôtes et teste bien son hôte avec l'ovipositeur avant de prendre la décision de la ponte. De plus, les pucerons représentent pour lui une source de nourriture aussi bien que de ponte, il a besoin de se nourrir pour augmenter la chance de prolonger sa vie et d'assurer le ponte des œufs (Giron *et al.*, 2004). Les parasitoïdes, en général, ont besoin de nourriture surtout le sucre afin de couvrir leur besoin énergétique (Wackers, 2004). Une étude sur l'influence de la nourriture sur la longévité d'*A. ervi*, montre que ce parasitoïde a besoin deux apports alimentaires par jour pour atteindre le maximum de longévité, et que la durée de la vie a été 8 fois plus longue quand les femelles se sont nourries chaque jour par rapport à celles qui ne se sont pas nourries (Azzouz *et al.*, 2004).

En conclusion, l'expérience antérieure dans un patch ne semble pas être un caractère déterminant de son exploitation, seule intervient la densité du patch visité quelle que soit la densité du patch précédent. Dans les séries différentes (RPR, PRP) la femelle avait tendance à rester plus de temps lorsque la densité du patch visité était riche ce qui confirme l'hypothèse de Charnov

(1976) et semble montrer que la femelle dispose de signaux (probablement chimiques) lui donnant une idée de la richesse du patch. Par contre dans les séries identiques (RRR, PPP) le temps de résidence augmente graduellement. *L. fabarum*, donc, paraît capable d'adapter son temps à faire beaucoup plus de contacts ovipositeurs dans le patch riche et moins dans le patch pauvre mais il n'adapte pas son comportement en fonction de ses expériences antérieures. Enfin, les résultats de cette étude suggèrent qu'une analyse plus poussée des données pourrait préciser l'évolution du comportement au fil des patches, tels que le mécanisme de motivation et l'apprentissage de ce parasitoïde.

Article 4

Influence of Beet Yellow Virus on aphid parasitoid foraging behavior and development

Loulou Albittar ^{*1}, Mohannad Ismail ², Gertrud Lohaus ³, Claude Bragard ¹, Thierry Hance ¹

1 Earth and Life Institute, Biodiversity Research Centre,
Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve 1348,
Belgium

2 Key Laboratory of Aquatic Botany and Watershed Ecology,
Wuhan Botanical Institute/Wuhan Botanical Garden, Chinese
Academy of Sciences, Wuhan, 430074, China

3 Molecular Plant Science/Plant Biochemistry, Bergische
Universität Wuppertal, 42119 Wuppertal, Germany

Abstract

Aphis fabae Scopoli is a major pest on sugar beet by causing yield loss due to transmission of the Beet Yellow Virus (BYV). The interaction between plants, viruses, insect vectors and parasitoids has attracted increasing attention, and our current aim was to test the foraging strategy of the parasitoid *Lysiphlebus fabarum* on aphids reared on infected plants, and to test whether immature parasitoids will successfully develop inside aphids feeding from infected plants.

We measured the content of sucrose and amino acids in the leaves, as well as tibia size of *A. fabae* reared on healthy and inoculated plants. 25 *L. fabarum* females aged ≤ 24 h were individually exposed for 30 minutes to a group of 10 aphids (L3). Three series of experiments were performed: 10 individuals of *A. fabae* born and reared on a healthy plant, 10 individuals of *A. fabae* born and reared on an inoculated plant and a mix of 5 individuals of *A. fabae* born and reared on a healthy plant and 5 individuals born and reared on an inoculated plant. We observed the number of antennal contacts, the number of ovipositor insertions, the patch residence time, the number of mummies and the emergence of parasitoids.

We found that inoculated plants had higher concentrations of sugars and total amino acids compared to healthy plants. Aphids reared on inoculated plants were bigger in size than aphids reared on healthy plants. The number of parasitoid antennal contacts increased significantly on inoculated plants. Moreover, in mixed experiments more ovipositor insertions were observed on aphids

reared on inoculated plants. We found no influence, however, of the virus on the development or emergence parasitoids. Physiological changes on virus inoculated plants and born aphids thus do not seem to influence the parasitism rate and development of parasitoid larvae, but do affect the number of antennal contacts.

Key words: closterovirus, trophic, semi-persistent, suitability, plant quality, vector

Introduction

In complex trophic systems each trophic level interacts directly or indirectly with other trophic levels, ultimately influencing the whole system. This is indeed the case for virus-plant-parasitoid systems sharing a common vector or host (Finke, 2012). Aphid pests are a good example of insects that affect plant growth directly by sucking plant sap and indirectly by transmitting plant viruses (Clover *et al.*, 1999; Simpson *et al.*, 2012). The interaction among plant viruses, their insect vectors and parasitoids has attracted increasing attention, particularly the effects of diseased plants on insects (Markkula & Laurema, 1964). Indeed, a plant virus may drastically affect the physiology of the host plant or alter traits, including colour, chemical volatiles, an accelerated demise of photosynthesis (Balachandran *et al.*, 1997), and the accumulation of nitrogen compounds or expanded oxidase activities (Culver & Padmanabhan 2007) that may in turn affect the behaviour of the insect vector (Blua *et al.*, 1994) or the vector's natural enemies (Christiansen-Weniger *et al.*, 1998; Mauck *et al.*, 2015). Such virus-induced changes may play a role in the suitability of aphid vectors to colonize a plant, which can be estimated as a superior or inferior host (Blua & Perring, 1992; Castle *et al.*, 1998). The behaviour of aphids might in turn be influenced by the virus altering the concentration of amino acids in the phloem sieve and carbohydrate levels in leaves (Calvo & Fereres, 2011; Castle & Berger, 1993; Jensen, 1972). As a consequence, physiological changes in plant defence responses might coincide with changes in plant quality (Firlej *et al.*, 2010;

Li *et al.*, 2002), which provokes a behavioural change in the relationship of natural enemies with their phytophagous hosts. In addition, virus infestation could cause changes in the volatile organic compound composition (Bosque-Perez & Eigenbrode, 2011; Visser *et al.*, 1996; Wu *et al.*, 2014), which could affect the behaviour of aphids that might prefer the virus inoculated plants (Mauck *et al.*, 2010). Those compounds are also essential for the attraction of natural enemies (McCormick *et al.*, 2012). This is particularly important for mobile parasitoid foragers that should collect information from diverse locations at different times to make appropriate choices as resource quantity and quality typically varies in space and time (Bell, 1990).

In this study we focused on the black bean aphid *Aphis fabae* Scopoli that can affect beet plant growth, sugar beet production, and the storage of sugars directly by sucking plant sap (Albittar *et al.*, 2016; Volkl, 1992) and indirectly by transmitting a plant virus (beet yellow virus, BYV; closterovirus group). It was suggested that virus infection could result in a 60% loss of sugar yield (Smith & Hallsworth, 1990). BYV is mainly transmitted in a semi-persistent manner (i.e. a non-circulative virus) that binds to the insect vector's stylet or foregut (Ng & Falk, 2006), where the virus transported by the stylus has a longer retention time (a few hours). We were interested in the behaviour of *Lysiphlebus fabarum* Marchal (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae), the most abundant parasitoid of the aphid *A. fabae* in agroecosystems (Stary, 1986). Lifetime is high in *Lysiphlebus fabarum* had high

fecundity and short longevity (Rasekh *et al.*, 2010a). In addition, it is the abundant parasitoid on *A. fabae* in Belgium (Personal observation,) compared to other aphid parasitoids; hence this species could be useful in the biological control of aphid pests. It is a multivoltine species that is mainly thelytokous (i.e. a type of parthenogenesis in which females are produced from unfertilized eggs) in central Europe (Nemec & Stary, 1985). *L. fabarum* is reported to respond to a variety of contact and olfactory cues associated with the host and its habitat (Carver & Franzmann, 2001; Jang *et al.*, 2000).

When assessing the fitness of insect natural enemies as potential biocontrol agents against pest populations, a detailed knowledge of the impact of trophic interactions in the field is essential. Foraging behaviour of parasitoids is strongly dependent on the environment in which they forage (Pierre *et al.*, 2012; Wajnberg, 2012; Wajnberg *et al.*, 2000). However, the consequences of virus infection in host plants are still poorly understood in terms of behavioural changes of female parasitoids. Despite the positive effects of *L. fabarum* on reducing aphid densities, parasitized aphids were found to exhibit more movement than unparasitized controls, thereby potentially causing a slight increase in virus dispersal (Hodge & Powell, 2008; Weber *et al.*, 1996). It was further demonstrated that the presence of natural enemies may directly affect aphid behaviour through the formation of winged adults, which can result in increased dispersal of aphids and associated plant viruses (Dader

et al., 2012; Jeger *et al.*, 2011; Shaw, 1973). While virus infection affects plant development and sap composition (Ferreles *et al.*, 1990; Jensen, 1972), it may also indirectly affect aphid development, growth rate, body size, reproduction and longevity (Donaldson & Gratton, 2007; Jimenez-Martinez & Bosque-Perez, 2004; Jimenez-Martinez & Bosque-Perez, 2009; Srinivasan *et al.*, 2008). For instance, reproduction of the aphid *Acyrtosiphon pisum* increased on red clover with moderate viral infection by *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), but reproduction decreased when plants suffered from severe viral infection (Markkula & Laurema, 1964). As a consequence, the suitability of aphids as hosts for parasitoids is expected to depend on the infection status of the plant used for feeding.

Few studies have focused on the effect of plant viruses on host suitability for parasitoids, and to our knowledge, no study has yet assessed the impact of BYV infection on the foraging behaviour of parasitoids. In this study, we investigated the foraging strategy of *L. fabarum* females that attack the aphid *A. fabae* on uninfected and BYV-infected plants. We hypothesized that virus infection would lead to physiological changes in the plant affecting the quality of aphids and subsequently the development of parasitoids. We further hypothesized that the performance of female parasitoids would be affected when developing on a host reared on a virus-infected plant. We compared antennal contact, ovipositor insertions, as

well as residence time of each female parasitoid on aphids that were reared either on healthy or on BYV inoculated plants. We further determined whether female parasitoids were able to distinguish between aphids carrying the virus from uninfected aphids.

Materials and methods

Insect

The aphid *A. fabae* was obtained from the Laboratory of Functional and Evolutionary Entomology (Université de Liège-Gembloux) in Belgium and was reared continuously in pots containing broad beans (*Vicia fabae*). Aphids were maintained in wooden cages (50 × 50 × 50 cm) in climate rooms at a temperature of $20 \pm 1^\circ\text{C}$, relative humidity of $60 \pm 10\%$ and a photoperiod 16L: 8D. The parasitoid *L. fabarum* (thelytokus strain IL07-64) was obtained from Professor C. Vorburger (Institute of Integrative Biology, Zurich, Switzerland), and reared on *A. fabae*. Cohorts of parasitoids were produced by exposing second instar *A. fabae* to 2-3-day-old female wasps (1 female for 10 aphids) in a 50 x 50 x 30 cm wooden cage for 24h. Eight to ten days later, mummies were carefully removed from leaves using a fine brush and isolated individually in microcentrifuge tubes until emergence. Females used in bioassays were less than 24h of age and fed with diluted honey. Parasitoids were maintained in a separate growth chamber at a temperature of $22 \pm 1^\circ\text{C}$, relative humidity of $60 \pm 10\%$ and a photoperiod of 16L: 8D.

Plants

Two plant species were used: 1) sugar beet, *Beta vulgaris*, Iranian strain (MLD2-C651-F1C), cultivated at a density of 1 seed per pot (5 cm) in order to maintain the aphid rearing and perform experiments, and 2) broad bean, *Vicia faba* for which 6 seeds per pot (13 cm) were planted to continue the development of aphids after experiments. Both plant cultures were maintained in a greenhouse at $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and photoperiod of 16L: 8D.

Virus transmission

BYV was obtained from sugar beet leaves collected from a field in Brasemenil, Belgium, at the end of August 2014. Plant leaves (sugar beet) were collected according to the visual symptoms of BYV. Presence of the virus was then verified using RT-PCR as described in (Stevens *et al.*, 1997) using BYV strain PV-0981 from Leibniz Institute DSMZ- German collection of microorganisms and cell cultures, and the primers: forward BYVs GGTCGACGGGAAGATAGTCA and reverse BYVs TGTCTGAGCTAGTTCGACAGA. Virus inoculation was conducted based on the method described in Weber *et al.* (1996) as follows: twenty sugar beet plants (6 weeks old) were inoculated with BYV using 10 apterous adult *A. fabae* for each plant. Adult *A. fabae* were placed on an inoculated leaf (sugar beet leaves collected from the field) and left on the plant for an acquisition period of 24 hours. Individuals were then carefully transferred to healthy sugar beet plants with a fine brush

and left for another inoculation period of 24 hours. After inoculation, aphids were removed and presence of the virus on new plants verified with RT-PCR 6 weeks later.

Sucrose and amino acid content in plant leaves

Phloem sap sampling

Fully expanded leaves were taken from plants for phloem sap sampling. For each treatment (healthy and infected) one independent sample from ten different plants was taken and quenched in 20Mm EDTA (ethylene diamine tetra acetic acid) at a pH of 7.0, after which the sample was placed for 16 hours in a sealed desiccator in complete darkness. The supernatant was analysed according to (Lohaus & Schwerdtfeger, 2014) as described below.

Analysis of soluble carbohydrates

The identity and quantities of sugars and glycosides in leaves were determined by HPLC according to (Lohaus *et al.*, 1995). An ion exchange column (CarboPAC10; Dionex Corp, Sunnyvale, CA, USA) was eluted with 60 mM NaOH (JT Baker Chemicals) (flow rate: 1 ml min⁻¹) for 25 min. Sugars were detected by a pulse amperometric detector with a gold electrode (ESA, Model 5200, Coulochem II, Bedford, USA). Pulse settings were set at 50, 700 and 800 mV for 400, 540 and 540 ms, respectively. Sugar standards (Sigma-Aldrich, Germany) and antirrhinoside

standards were measured in parallel (0–500 μ M) and for each carbohydrate a calibration curve was made. Sugar concentrations in nectar and phloem sap were calculated based on calibration curves and the recorded volume of each sample. The evaluation of chromatograms was performed with the integration program Peaknet 5.1 (Dionex). Analyses were performed in the laboratory of Dr. Gertrud Lohaus, Molekulare Pflanzenforschung/ Pflanzenbiochemie(Botanik)/Bergische Universität Wuppertal in Germany.

Analysis of free amino acids

Amino acid assays were performed by HPLC (Pharmacia/LKB) according to (Riens *et al.*, 1991). After pre-column derivatization with o-phthalaldehyde, amino acid derivatives were separated on a 4 mm particle size reversed-phase column (Merck, Darmstadt, Germany) with an acetonitrile gradient in 18 mM potassium phosphate at a pH of 7.1. Derivates were detected by fluorescence. Proline (a secondary amino acid) could not be detected with this method. Amino acid standards (Sigma-Aldrich, Germany) were measured in parallel (0–20 μ M) and for each amino acid a calibration curve was made. The evaluation of chromatograms was performed with the integration program Peaknet 5.1 (Dionex). We then calculated the ratio of total sugars to total amino acids.

Tibia size of aphids and parasitoids

To evaluate the development of aphids on inoculated and healthy leaves of sugar beet, as well as the effect of the host on parasitoid development, hind tibia length (as a proxy for body size)(Godfray, 1994) was determined for 40 larvae (L3) of *A. fabae* reared on each type of plant since birth (40 aphids/plant type) under a binocular microscope (Leica) linked to a video camera (Sony). The same procedure was used to determine size of 26 adult parasitoids that emerged from mummies reared on healthy plants and 19 adult parasitoids that emerged from mummies reared on inoculated plants.

Lipid determination

Aphid fat content was measured for 40 larvae (L3), each group of five larvae was considered as a replicate (in total 8 replicates), using the vanillin assay with triolein (92860; Sigma) as a standard (Van handel, 1985). Vanillin assays were confirmed to be a reliable technique for the determination lipids content in insects (Williams *et al.*, 2011). Vanillin reagent was prepared by mixing vanillin (V2375; Sigma) with orthro-phosphoric acid 68%, reaching a final concentration of 1.2 g/L. For the assay, 100 μ L of supernatant (samples of aphids crushed in 150 μ l of chloroform: methanol (1:2)) was transferred into a borosilicate microplate well and heated at 90°C until complete evaporation. Ten microliters of 98% sulphuric acid was then added to each well and the microplate placed again at 90°C for 2 minutes in a

water bath. After cooling of the microplate on ice, 190 μ L of vanillin reagent was added to each well. The plate was homogenized, incubated at room temperature for 15 minutes and absorbance measured with a spectrophotometer (brand) at 525 nm (Foray *et al.*, 2012).

Behavioral assays

To synchronize larvae of *A. fabae* at developmental stage 3 (L3), colonies of aphids were established on healthy and BYV-infected sugar beet plants. Ten apterous adult aphids from each culture (healthy and inoculated) were transferred to two (4-week-old) sugar beet (healthy and inoculated) plants. The next day, adult aphids were transferred from these plants to 2 other sugar beet plants, leaving only 1st instar aphids on the original plants.

To test whether *L. fabarum* females were able to discriminate between healthy and infected individuals, *L. fabarum* females aged ≤ 24 h were individually exposed for 30 minutes to a group of 10 aphids (L3). Three different treatments were tested: two mono experiments: 1) 10 *A. fabae* individuals (uninfected) born and reared on a healthy plant, 2) 10 *A. fabae* individuals born and reared on an inoculated plant, and 3) one mixed experiment: 5 individuals of *A. fabae* born and reared on a healthy plant and 5 individuals of *A. fabae* born and reared on inoculated plants (Figure 4.1). For the latter treatment, females had the choice to go to a healthy patch or a virus infected patch or to reject both. Each experiment was repeated 25 times, where each female was

observed individually on each plant type. Leaf discs (diameter = 1 cm) were placed in a glass Petri dish (diameter = 15 cm; containing openings covered by mesh in the center for ventilation), with a red circle (diameter = 9 cm) in the middle indicating the limit of the patch. Once this limit was crossed, the parasitoid was considered to have left the patch. The experimental arena was placed on a light table (2500 LUX) in a dark room at $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

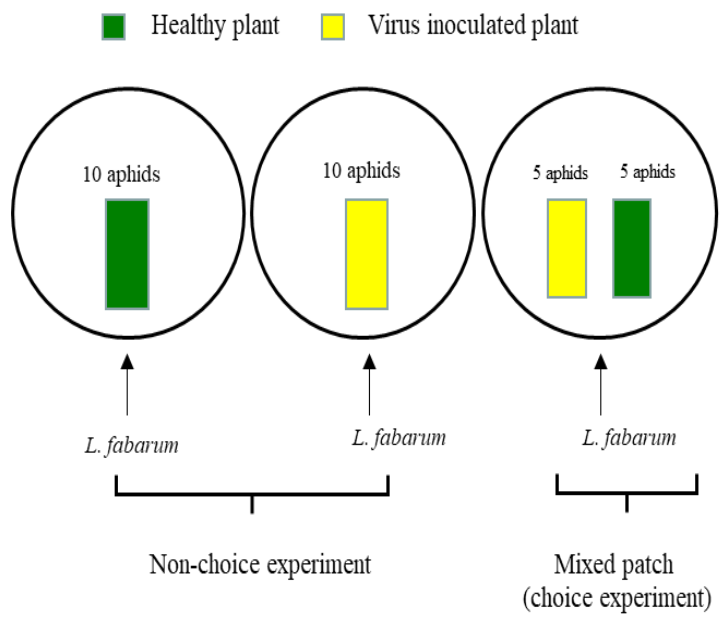


Figure 4.1. Experimental design for the parasitoids experiment laboratory.

For all experiments, the patch residence time (defined as the total time between entering and leaving the patch) was recorded. The number of antennal contacts made and the number of ovipositor insertions were also recorded using the software “JWatcher_V1.0”. After each 30 minutes of observation, all aphids were transferred on fresh leaves of bean plants placed on a piece of cotton wool soaked with water in plastic Petri dishes. To maintain the aphid rearing after the experiment we used the leaves of broad bean, because this is a suitable host for *A. fabae*, and easier to use in Petri dishes than leaves of sugar beet.

After each experiment, parasitized aphids were reared under controlled conditions ($22 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ R.H) for 12 days until mummification. We thus also recorded the number of mummies produced for each experiment. Parasitism rate was expressed as the number of mummies obtained/(number of aphids still alive + number of mummies). The emergence was expressed as the number of emerged parasitoid wasps divided by the total number of mummies. The fitness gain curves were plotted using data on the cumulative number of ovipositor insertions according to residence time (each five minutes).

Statistical analysis

Statistical analyses were done using the statistical software R version 2.15.2 (2012-10-26) (R Core Team, 2013). The results in mono and mixed experiments were analysed separately. Means of sugar and amino acid content, total sugar, total amino acids and

the ratio of total sugar to total amino acids of three samples per treatment were analysed using t-tests. Patch residence times were analysed and compared using a Cox Proportional Hazard Model (Collett, 1994; Cox, 1972) with plant treatment as a fixed factor. The number of antennal contacts, the number of ovipositor insertions, and the number of emerged wasps were analysed using GLM (General Linear Model with a Poisson distribution) with plant treatment as a fixed factor. Significant results at $P < 0.05$ were followed by the use of Tukey HSD post-hoc multiple comparison tests. Aphid and parasitoid tibia length, lipid content and emergence of parasitoid data was not normally distributed and were analysed using Kruskal Wallis tests, with plant treatment as a fixed factor and followed by Wilcoxon tests for multiple comparison when $P < 0.05$. To estimate the fitness gain during a parasitoid's visit of a patch (based on the number of aphids stung), general linear models were used with a negative binomial distribution (for overdispersion data) using `glm.nb` function in the MASS package, with time and plant treatment as fixed factors.

Results

Amino acid and carbohydrate content

The amino acid composition differed between healthy and infected plants. Only one compound was higher in healthy plants

than in inoculated plants (i.e. Histidine), other compounds were higher in inoculated plants than in healthy plants (i.e. Asparagine, valine) (Table 4.1).

All sugar concentrations (glucose, fructose and sucrose) were significantly higher in inoculated plants compared to healthy plants (Table 4.2). The ratio total sugars to total amino acids reduced significantly in virus-inoculated plants comparing with healthy plants (Table 4.2).

Table 4.1. Amino acid concentrations ($\mu\text{M} = \mu\text{mol/L}$) in healthy and inoculated plants. Data are presented as mean $\pm$ (SE). Significant effects are in bold and letters indicated the significant differences.

	Healthy	Virus	t-test
Aspartic acid	11.70 $\pm$ 2.50 a	6.90 $\pm$ 0.90 a	t = 1.81, df = 2.52, p = 0.18
Glutamic acid	6.83 $\pm$ 1.17 a	11.73 $\pm$ 1.64 a	t = -2.43, df = 3.61, p = 0.07
Asparagine	1.20 $\pm$ 0.10 b	1.83 $\pm$ 0.15 a	t = -3.59, df = 3.55, p = 0.02
Serine	2.73 $\pm$ 0.46 a	.	t = -0.50, df = 2.54, p = 0.65
Histidine	141.80 $\pm$ 2.26 a	84.60 $\pm$ 4.33 b	t = 13.68, df = 3.52, p = 0.003
Glutamine	7.57 $\pm$ 1.56 a	4.47 $\pm$ 1.37 a	t = 1.49, df = 3.93, p = 0.21
Glycine	3.73 $\pm$ 0.38 a	3.30 $\pm$ 1.40 a	t = 0.29, df = 2.29, p = 0.79
Threonine	1.00 $\pm$ 0.15 a	1.43 $\pm$ 0.43 a	t = -0.95, df = 2.51, p = 0.42
Arginine	0.10 $\pm$ 0.00 a	0.73 $\pm$ 0.13 a	t = -4.75, df = 2, p = 0.04
Alanine	1.23 $\pm$ 0.20 b	3.60 $\pm$ 0.53 a	t = -4.17, df = 2.57, p = 0.03
Tyrosine	0.40 $\pm$ 0.00	-	No test, only one value
Valine	1.00 $\pm$ 0.06 b	2.07 $\pm$ 0.09 a	t = -10.11, df = 3.44, p = 0.001
Methionine	0.13 $\pm$ 0.03 a	0.20 $\pm$ 0.00 a	t = -2.00, df = 2, p = 0.18
Tryptophan	0.27 $\pm$ 0.12 b	1.10 $\pm$ 0.23 a	t = -3.20, df = 3.01, p = 0.04
Isoleucine	0.57 $\pm$ 0.03 a	1.53 $\pm$ 0.58 a	t = -1.65, df = 2.01, p = 0.23
Phenylalanine	0.20 $\pm$ 0.00 a	1.27 $\pm$ 0.71 a	t = -7.00, df = 1, p = 0.09
Leucine	0.97 $\pm$ 0.09 b	1.53 $\pm$ 0.09 a	t = -4.54, df = 4, p = 0.01
Lysine	0.43 $\pm$ 0.03 b	0.73 $\pm$ 0.03 a	t = -6.36, df = 4, p = 0.003
Total	181.43 $\pm$ 7.42 a	131.27 $\pm$ 5.94 b	t = 5.32, df = 3.81, p = 0.006

Table 4.2. Sugar concentrations (μM = $\mu\text{mol/L}$) in healthy and inoculated plants. Data are presented as mean $\pm$ (SE). Significant effects are in bold and letters indicated the significant differences.

	Healthy	Virus	t.test
Glucose	56.83 $\pm$ 5.61 b	394.83 $\pm$ 27.75 a	t = -11.93, df = 2.16, p = 0.005
Fructose	13.27 $\pm$ 2.33 b	471.13 $\pm$ 26.18 a	t = -17.42, df = 2.03, p = 0.003
Sucrose	138.87 $\pm$ 18.33 b	234.27 $\pm$ 17.84 a	t = -3.73, df = 3.99, p = 0.02
Total	208.97 $\pm$ 21.22 b	1100 $\pm$ 39.10 b	t = -20.04, df = 3.08, p = 0.0002
Ratio total sugar/total amino acid	1.14 $\pm$ 0.07 b	8.42 $\pm$ 0.37 a	t = -19.53, df = 2.16, p = 0.001

Aphid Tibia length and lipid content

Aphids reared on healthy plants were significantly smaller (0.15 ± 0.004 mm) than individuals reared on infected plants (0.18 ± 0.005 mm) ($\chi^2 = 14.98$, $df = 1$, $p < 0.001$) (Figure 4.2). There is no significant difference in lipids content.

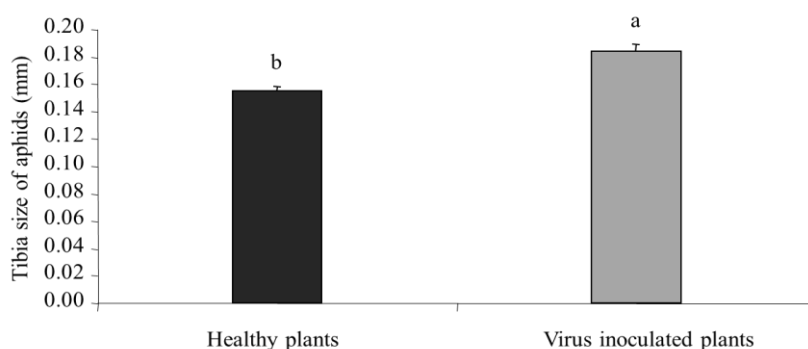


Figure 4.2. Length of hind tibia size of individuals of *A. fabae* reared on two healthy and inoculated plants. Letters indicated significant differences.

Tibia length of emerged parasitoids

For the tibia length of emerged parasitoids, no significant difference was observed between recently emerged female parasitoids that developed on aphids reared on healthy plants ($0.38 \text{ mm} \pm 0.01$) compared to those that emerged from aphids reared on infected plants ($0.38 \text{ mm} \pm 0.01$) ($\chi^2 = 0.03$, $df = 1$, $p = 0.86$).

Non-choice experiment

The number of antennal contacts made by parasitoids varied significantly between aphids reared on healthy and infected patches. More antennal contacts were recorded for females on aphids reared on inoculated plants ($\chi^2 = 1.98$, $df = 1$, $p < 0.001$) (Table 4.3). No significant differences were found in the number of ovipositor insertions ($\chi^2 = 0.06$, $df = 1$, $p = 0.80$) and the number of collected mummies ($\chi^2 = 0.35$, $df = 1$, $p = 0.55$) between the two patches (Table 4.3), nor did the emergence of *L. fabarum* from mummies vary ($\chi^2 = 3.31$, $df = 1$, $p = 0.07$) (Table 4.3). Although parasitoid females spent more time in the infected patch, and the number of females who preferred to stay in the virus patch was higher (Figure 4.3), this increase in residence time was not significantly different from the healthy patch ($\chi^2 = 1.05$, $df = 1$, $p = 0.31$) (Table 4.3).

Mixed patch

The number of antennal contacts made ($\chi^2 = 405.59$, $df = 1$, $p < 0.001$), as well as the number of ovipositor insertions increased significantly for aphids reared on inoculated plants compared to aphids reared on healthy plants ($\chi^2 = 6.21$, $df = 1$, $p = 0.01$; Table 4.4). There was further no significant difference in the number of mummies between the two patches ($\chi^2 = 0.001$, $df = 1$, $p = 0.98$), nor did the emergence differ ($\chi^2 = 1.45$, $df = 1$, $p = 0.22$) (Table 4.4). Residence time of female parasitoids also did not vary significantly between the two patches ($\chi^2 = 0.10$, $df = 1$, $p = 0.74$) (Figure 4.3, Table 4.4).

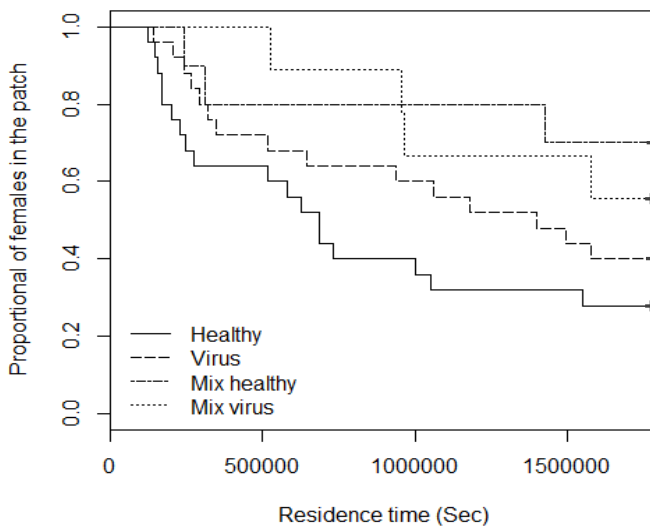


Figure 4.3. Proportion of female parasitoids remaining inside the patches of plants (healthy and virus) according to time in both experiments (no choice and mixed). In mixed experiments, females had the choice to go either to a healthy patch or a virus infected patch or to reject both.

Table 4.3. Mean $\pm$ (SE) of several behaviour indices, and fitness traits of the parasitoid *L. fabarum* in mono experiments.

	Residence time (min)	No. of Antennal contact	No. of ovipositor insertions	No. of mummies	Emergence %
Inoculated plants	19.09 $\pm$ 2.25 a	128.64 $\pm$ 33.11 a	5.16 $\pm$ 1.48 a	0.84 $\pm$ 0.28 a	95.00 $\pm$ 3.16 a
Healthy plant	14.49 $\pm$ 2.27 a	51.96 $\pm$ 23.46 b	5.32 $\pm$ 1.66 a	1.00 $\pm$ 0.39 a	79.76 $\pm$ 4.07 a

Table 4.4. Mean $\pm$ (SE) of several behaviour indices, and fitness traits of the parasitoid *L. fabarum* in mixed experiments

	Resident time (min)	No. Of Antennal contact	No. of ovipositor insertions	No. of mummies	Emergence %
Inoculated plants	24.12 $\pm$ 2.75 a	378.78 $\pm$ 92.61 a	14.89 $\pm$ 3.91 a	0.89 $\pm$ 0.42 a	75.00 $\pm$ 14.43 a
Healthy plant	24.30 $\pm$ 3.34 a	220 $\pm$ 68.60 b	10.80 $\pm$ 2.57 b	0.90 $\pm$ 0.41 a	75.00 $\pm$ 7.92 a

Fitness gain

In non-choice experiments, the curve estimated for fitness gain of female parasitoids in healthy and inoculated plants increased significantly with time ($\chi^2 = 607.32$, $P < 0.001$). There was no difference between the two types of plants ($\chi^2 = 5.35$, $P = 0.07$) (Figure 4.4A).

In mixed patches, the curve estimated for fitness gain of the female increased also with time ($\chi^2 = 1523.98$, $P < 0.001$). The number of stings of parasitoids in aphids is significantly higher in inoculated plants than healthy plants ($\chi^2 = 20.30$, $P < 0.001$) (Figure 4.4B).

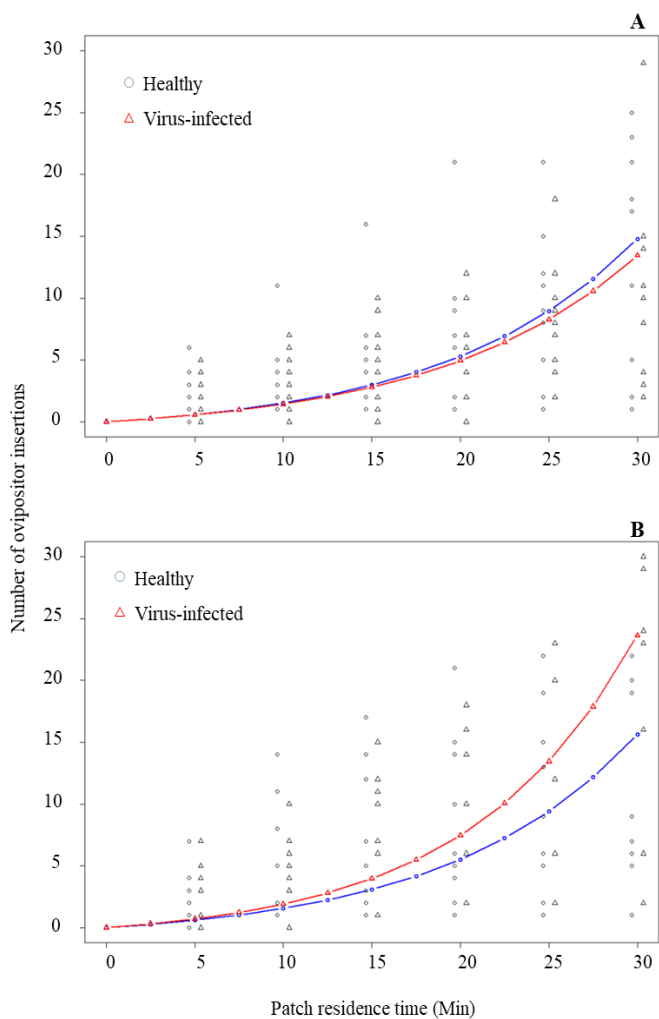


Figure 4.4. Fitness gain curves for the *L. fabarum* according to the quality of the aphid patch (healthy or virus infected) in non-choice (A) and mixed (B) experiments.

Discussion

Our aim was to test the foraging strategy of the parasitoid *L. fabarum* on aphids reared on healthy plants or plants inoculated with the BYV by comparing several behavioral traits: Patch residence times, the number of antennal contacts and the number of ovipositor insertions contacts. We also determined the consequence of virus inoculation on the development of both aphids and parasitoids. First, we showed that plant quality is influenced by the virus, as amino acid and sugar concentrations changed following virus infection. Histidine levels were higher in healthy plants compared to inoculated plants, whereas all other amino acids were higher in inoculated plants (Table 4.1). The concentration of total amino acids and the ratio of total sugar to total amino acids were, however, lower in inoculated plants. It is well known that plant viruses provoke changes in plant metabolism, including nitrogen and carbohydrate content (Blua *et al.*, 1994; Bozarth & Diener, 1963; Markkula & Laurema, 1964). In addition the disruption of the ratio of sugar to the amino acid may change the quality of plants (Mauck *et al.*, 2015) and consequently the quality of aphid. The decrease in total amino acids could be explained by the infectivity of virus (i.e. the stage or level of the disease) (Blua & Perring, 1992). Changes in amino acids levels could have resulted from the accumulation of NH_2 in inoculated plants, which might interfere with virus synthesis, and impact cyclical changes in infectivity (Selman *et al.*, 1961). In another study, which was done with tomato plants inoculated with

tomato spotted wilt virus, it was shown that the total concentration of amino acids increased in leaves by 15-180%, where glutamine, asparagine, aspartic acid, valine, glycine and leucine were increased 13 days after inoculation (Selman *et al.*, 1961). Markkula & Laurema (1964) observed a continuous change in amino acid concentration with time after inoculation of red clover *Trifolium pratense* and of pea *Pisum sativum* by bean yellow mosaic virus (BYMV). These observations may, however, be system-dependent as no decrease in the concentration of amino acid was found in red clover 39 days after inoculation with pea mosaic virus (PMV), whereas in peas inoculated with BYMV, a decrease of amino acid was found. Similarly, Blua *et al.* (1994) reported that amino acid concentrations decreased in phloem of *Cucurbita pepo* plants inoculated by Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) 2 to 9 days after inoculation, while amino acid concentrations increased 13 to 37 days after virus inoculation. The infectivity of the virus and the time of sampling may thus largely affect the concentration of amino acids.

Studies have generally reported a positive relationship between sucrose content and virus infestation (Goodman *et al.*, 1965; Park *et al.*, 2013; Tauzin & Giardina, 2014). In healthy plants, both sucrose and starch are produced during photosynthesis. Sucrose is important for plant growth and development and is considered the major transport form of carbohydrates. Moreover, after pathogen infection, sucrose is involved in plant defense by

activating immune responses against pathogens (Tauzin & Giardina, 2014) and sucrose remains present in plants (Herbers *et al.*, 2000) due to the degradation in starch content (Engelsdorf *et al.*, 2013). This increase in sugar content could help the virus to reallocate plant sugars to meet their own metabolic needs (Tauzin & Giardina, 2014), thereby increasing the concentration of the virus (Kassanis, 1953). This may explain our results that showed a higher concentration of all sugars (sucrose, glucose and fructose) on infected plants compared to healthy plant. The relationship between sucrose content and virus infestation may change from one virus to another depending on its effect on plant metabolism. For instance, Blua *et al.* (1994) reported that sugar concentrations change in phloem of *Cucurbita pepo* plants inoculated by *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), and sucrose, which accounted for an average of 35% (infected plant) and 30% (healthy) of the total sugar content. Glucose, galactose, fructose, myoinisitol, ga- lactinol, and raffinose combined to make up an average of approximately 20% of the total sugar content for infected plants and 12 % of the total for healthy one. On the other hand, Mauck *et al* (2015) reported a reduction in fructose and sucrose levels in squash (*Cucurbita pepo*) plants infected by Cucumber mosaic virus.

Physiological changes in virus infected plants could explain the bigger size of aphids reared on infected versus healthy plants. Previous work revealed that amino acids can affect aphid development and amino acids could be one of the most limiting

nutrients controlling aphid population growth (Srivastava, 1987). An increased amount of carbohydrates in infected plants, however, generally provides a more optimal diet for the growth and reproduction of insects (Carter, 1962). These results contrast with a recent study by Ren *et al.* (2015), who found a smaller adult body size of the aphid *Myzus persicae* reared on tobacco plants infected by potato virus Y, and with a study by Moiroux *et al.* (2017), who found a smaller adult body size of the aphid *Myzus persicae* reared on *Camelina sativa* plants infected by *Turnip yellow virus* (TuYV). In yet another study (de Oliveira *et al.*, 2014) no differences in body size were found between aphids reared on healthy and infected plants. The changes in plant physiology because of virus infection could affect the plant suitability and consequently may lead to changes on fitness and morphological traits in aphids such as host body size.

Insect body size is typically correlated with higher lipid levels under unstressful conditions (Eijs *et al.*, 1998; Lease & Wolf, 2011). In our study, individuals reared on infected plants were larger, but we did not find a difference in lipid levels between aphids reared on inoculated or healthy plants. This finding is consistent with studies comparing the effects of cold stress on different fitness traits of large and small individuals of the parasitoid wasp *Aphidius ervi* (Ismail *et al.*, 2012). Here, the authors showed that under stressful conditions larger individuals tend to accumulate less lipid reserves. Larger individuals have larger organs, which are energetically costly to produce, and their

body needs to spend more energy to maintain homeostasis (Ismail *et al.*, 2012). Stressful conditions can thus have a large effect on the physiology and behavior in individuals.

Changes in plant physiology and aphid size can play an important role in the foraging behavior of parasitoids. First, parasitoids may respond to changes in semiochemical cues during antennal contact and ovipositor insertions (Larocca *et al.*, 2007; Mauck *et al.*, 2014; Muratori *et al.*, 2006). In our case, we observed a significant increase in the number of antennal contacts for aphids reared on inoculated plants. This difference can be the consequence of changes in semiochemical emission of aphids but may also be linked to size. Indeed, Wu *et al.* (2014) showed that handling time (from first contact to oviposition) of *Aphidius colemani* on the aphid *M. persicae* increased with host size, which may be linked to the parasitoid's behavior. *L. fabarum* is an interesting species that has adapted to feed and reproduce on aphid colonies, for instance through honeydew solicitation of mimicking ants (the parasitoid mimics ants by stroking aphids with their antennae) (Rasekh *et al.*, 2010b). Female parasitoids spent a third of their time soliciting honeydew, and at the same time, the parasitoid is able to reduce aphid defensive reactions during ovipositor insertions (Rasekh *et al.*, 2010a). The feeding on honeydew and the decrease in aphid defence may help in biological control against *A. fabae*.

Host evaluation is particularly important as *L. fabarum* is a koinobiont parasitoid (i.e. a parasitoid that develops while the

host continues to feed and grow). Host choice may thus not reflect immediate host quality, but rather a suitable host for the developing larvae (Nicol & Mackauer, 1999). Once an egg is laid in the host, aphids reared on virus inoculated plants and healthy plants both seemed adequate for parasitoid larval development. Our results did not show any differences in parasitism, emergence or parasitoid size. The indirect impact of virus-infected plants on parasitoids varied between studies. While some studies found no impact of the virus on performance of parasitoids (Hodge & Powell, 2008), other studies reported a negative impact (low parasitism, incomplete development) (Calvo & Fereres, 2011). furthermore, the mode of virus acquisition might play an important role here (Mauck *et al.*, 2012). A study on the persistently transmitted *Pea enation mosaic virus*, however, reported no effect on parasitism rate of the parasitoid *A. ervi*, when circulating within its aphid vector, *Acyrtosiphon pisum* (Hodge & Powell, 2008). BYV is a semi-persistent, non-circulative virus that binds to the insect vector's stylet or foregut (Ng & Falk, 2006) and may be acquired very quickly by aphids (Palacios *et al.*, 2002). Therefore, it might be that BYV infected plants represent a good source for aphid nutrition and may affect positively the success of parasitism and parasitoid development. Indeed, this parasitoid species was found to be more attracted to sugar-beet leaves infected with BYV than to healthy plants (Baker, 1960).

In conclusion, our results show that parasitoid development is not affected inside the aphids reared on virus infected plant. The successful development is very important in biological control program against the agriculture pests. In no choice, *L. fabarum* showed the same level of ovipositor insertions compared to choice experiments, where the parasitoid changes its behavior in favor of aphids reared on infected plants. Future experiments could give more insight into the reason of increasing of ovipositor insertions in aphids reared on virus infected plants, as well as the consequences of BYV infected plants on aphid dispersal and population dynamics. Further studies would benefit from studying the impact of BYV on the life history traits of the *A. fabae*, and so on the consequences on virus spread. In addition, studying the time impact of late virus inoculation in the plant could whether affect the behavior choice of the parasitoids or not.

Acknowledgments

This study was supported by a PhD fellowship from the Université Catholique de Louvain in Belgium. We are grateful to Bertanne Visser for her valuable comments and suggestions to improve previous versions of this manuscript. We thank Gwennaël Bataille for his helpful comments on the statistical analyses.

Discussion générale et perspectives

En écologie des populations, l'évolution des traits d'histoire de vie associés à la survie, la reproduction et la dispersion sont souvent attribuées aux conditions climatiques, notamment la température et l'interaction avec d'autres organismes. Au sein d'une communauté écologique, les organismes interagissent les uns avec les autres, leurs relations peuvent être classées en fonction des effets ou du mécanisme de l'interaction, tels que le mutualisme, la compétition et la prédation. Les résultats de cette interaction entre les populations pourraient être positifs, négatifs ou neutres. Dans le système tritrophique virus-plante-parasitoïdes partageant un hôte commun (les pucerons), chaque niveau interagit directement ou indirectement avec les autres niveaux d'une manière influençant l'ensemble de ce système (Finke, 2012). Cette interaction est gérée par deux mécanismes qui sont les responsables de la régulation des populations de phytophages : le « Top down », où la régulation des phytophages est faite par les niveaux trophiques supérieurs (ennemis naturelles), et le « Bottom up », où la régulation est faite par la plante (Hunter & Price 1992).

Le puceron noir de la fève *A. fabae* est l'une d'espèce la plus dommageable que l'on peut trouver dans la culture de betterave. Cette culture représente une importance économique majeure et est souvent considérée comme la principale source de sucre dans les pays à climat tempéré. Ce ravageur provoque

plusieurs types de dégâts d'une manière directe en affaiblissant la plante ou d'une manière indirecte en transmettant différents virus notamment celui de la jaunisse sévère de betterave **BYV** qui provoque de fortes pertes de rendements et diminue la concentration en sucre dans les racines. Plusieurs méthodes sont utilisées pour lutter contre les pucerons essentiellement liés à l'utilisation de produits phytosanitaires spécifiques ou à large spectre. Vu l'effet négatif des pesticides sur l'environnement, la santé animale et la santé humaine (Cloyd, 2012; Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016), il est nécessaire de rechercher des alternatives. Sachant que les parasitoïdes de pucerons sont de plus en plus utilisés en lutte biologique l'objectif de cette thèse était d'établir les bases nécessaires à la mise au point d'une stratégie de lutte par l'utilisation de parasitoïdes. La mise au point d'une telle stratégie demande une connaissance approfondie du système étudié et l'interaction entre les différents niveaux trophiques. Etant donné qu'en culture de betterave, il existe peu de données disponibles sur la faisabilité de la lutte biologique notamment en raison de la transmission virale par les pucerons, ce travail de thèse peut être considéré comme une première étape vers l'acquisition de ces données et vers une meilleure connaissance du système.

Ainsi, dans une première partie expérimentale, nous avons fait l'état de lieu et analysé la phénologie d'*A. fabae* dans la région du Brabant Wallon ainsi la présence de parasitoïdes chez trois maraîchers biologiques. Nous montrons que ce puceron était

bien présent dans la région et observé sur les fèves au début de la saison, puis sur les bettes. Nous montrons aussi que le nombre de pucerons et le pourcentage de parasitisme (pic) étaient plus élevés au début de l'été. Cependant, le nombre des pucerons variait en fonction du site. Nous mettons aussi en avant six espèces de parasitoïdes associés aux *A. fabae*, parmi lesquels les deux espèces *L. fabarum* et *T. angelicae* sont les plus abondantes sur le puceron noir de la fève. Nos résultats sont en accord avec les observations de Völkl et Stechnmann (1998) qui ont montré que *L. fabarum* était l'espèce trouvée dans tous les prélèvements d'*A. fabae* des champs de féverole et de betteraves ainsi qu'une série de plantes sauvages qui se développe à proximité de ces deux cultures. Nous montrons aussi qu'une augmentation de la production des ailés était positivement liée à la densité des pucerons ainsi qu'à un haut niveau du parasitisme.

Suite à notre expérience dans le terrain concernant l'état de lieu d'*A. fabae*, il nous est apparu que cette espèce de puceron peut être présente parfois en même temps que l'espèce *M. persicae* sur les plantes de betterave ou les fèves. Cette observation pose plusieurs questions sur les préférences des parasitoïdes rencontrés en fonction de l'espèce de puceron disponible et de la plante hôte. Nous voulions donc tester au cours de la seconde étude, les préférences de *L. fabarum* et deux autres espèces de parasitoïdes *A. colemani*, *L. testaceipes* susceptibles d'être utilisés comme agents de lutte biologique en tenant compte l'influence de la plante hôte. Pour tester leurs préférences, nous

avons observé le taux d'acceptation (exprimé par le nombre du contacts antennaires), le taux d'adéquation (exprimé par le nombre du contacts ovipositeurs) et le pourcentage de parasitisme vers chacune des espèces de pucerons lorsqu'elles sont présentées séparément et lorsque les deux espèces de pucerons étaient mélangées, comme c'est le cas normalement dans la nature. Puis on a étudié si la plante hôte a un effet sur la préférence du parasitoïde. En fonction de ce qui est écrit dans la littérature, nous nous attendions à ce que *L. fabarum* se montre le meilleur candidat parmi les trois vis-à-vis d'*A. fabae* et qu'il ne s'attaque pas à *M. persicae* comme il n'est pas considéré parmi ses hôtes. Dans cette étude, nous avons montré que les meilleurs taux d'acceptation, d'adéquation et du parasitisme étaient le fait d'*A. colemani* vers les deux espèces de pucerons sur les deux plantes. Par contre, les deux espèces du genre *Lysiphlebus* montrent une nette préférence pour *A. fabae*. De façon surprenante, *L. fabarum* accepte *M. persicae* juste dans le cas où il a été mélangé avec *A. fabae*. Il semble donc qu'il existe un effet de confusion suite à la présence de l'odeur de l'hôte préféré. Cet aspect mériterait d'être analysé plus en profondeur dans le futur. De plus, nous avons mis en évidence que les plantes hôtes ont affecté le choix des trois parasitoïdes. Ces résultats ont fait l'objet d'une publication.

Au cours de la troisième étude, nous voulions analyser la plasticité comportementale de *L. fabarum* vis-à-vis de l'exploitation de patchs avec différentes densités de pucerons. Nous avons étudié l'influence d'une séquence de visite de 3

patches de qualité différente (pauvre en densité de pucerons ou riche en densité) sur le temps de résidence et la prise de décision de la femelle de rester ou quitter le patch. Nous les avons testés en quatre séries (schéma article 3). Nous montrons que la densité d'un patch influence le temps de résidence de *L. fabarum* en fonction des séries (identiques ou différentes). Nous montrons que la femelle passe plus de temps dans le patch riche que dans le patch pauvre pour toutes les séries. Par contre, ce temps est influencé par la densité de ce patch sans prendre en compte ce que s'est passé dans le patch précédent. Il semble donc que l'influence d'une séquence des patches successifs n'a pas affecté le comportement d'exploitation de la femelle mais que seule intervient la qualité du patch qu'elle est occupée à visiter. De plus, nous montrons que le nombre de contacts ovipositeurs augmente lorsque la densité du patch de visite est riche quelle que soit la densité du patch précédent. Ces résultats montrent que le parasitoïde n'adapte pas son comportement en fonction de ses expériences antérieures et qu'il ne semble donc pas se construire une image de la ressource disponible dans l'espace qu'il exploite.

Au cours de la quatrième expérience, nous avons analysé l'influence indirecte du virus de la jaunisse de betterave **BYV** sur le comportement d'exploitation d'un patch de *L. fabarum* vis-à-vis des pucerons qui se développent sur une plante virosée, par rapport à ceux qui se développent sur plante saine. Nous avons aussi quantifié la capacité d'un œuf du parasitoïde pondu dans un

puceron élevé sur une plante virosée à se développer jusqu'à émergence de l'adulte. Nous avons mesuré le temps de résidence du parasitoïde, le nombre de contacts antennaires, le nombre de contacts ovipositeurs et le taux de gain de *L. fabarum*, lorsque les pucerons étaient présents sur une plante saine, sur une plante inoculée ou sur un mélange de deux. Nous nous attendions à ce que *L. fabarum* ait tendance à rester plus du temps sur le patch inoculé et qu'il n'y ait pas d'influence du virus sur le développement des larves de parasitoïdes. Nous montrons dans cette partie, que le virus a affecté les plantes virosées en augmentant la concentration de sucres et d'acides aminés libre par rapport aux plantes saines. De plus, il a affecté la taille des pucerons qui était plus élevée sur les plantes inoculées que ceux sur plantes saines. Dans le cas où les pucerons sont présentés séparément sur une plante saine ou inoculée, le temps de résidence était plus élevé mais pas significativement sur le patch inoculé, tandis que le nombre de contacts antennaire du parasitoïde a augmenté de manière significative sur les plantes inoculées. Cependant, dans le cas où les pucerons sont présentés d'une manière mélangée en deux patchs (sain et inoculé), les nombres de contacts antennaires et ovipositeurs ont augmenté d'une manière significative sur les plantes inoculées. Or, aucune influence du virus n'a été mise en évidence sur le développement ou l'émergence du parasitoïde.

Les résultats obtenus lors de ce travail nous permettent d'analyser la possibilité de développer une stratégie de lutte

biologique contre les pucerons responsables de la transmission du virus de la jaunisse de betteraves, en montrant les avantages et les inconvénients de cette méthode proposée comme une solution alternative de la lutte chimique. Une revue qui a été écrite par Radcliffe & Ragsdale (2002), qui insistent sur l'importance de comprendre des points essentiels concernant les vecteurs et abordent certaines des complexités biologiques présentées par les virus de la pomme de terre transmis par plusieurs espèces de pucerons comme *M. persicae*. De plus, ils discutent l'importance de l'application de ces connaissances à la gestion des virus de la pomme de terre. Dans cette discussion on va montrer que l'utilisation de parasitoïdes dans le but de lutte biologique peut être une bonne solution pour plusieurs raisons :

- 1- *A. fabae* est une espèce dioceique, il hiverne sur un hôte d'hiver puis au printemps il migre vers son hôte d'été (Powell & Hardie, 2001). D'après l'expérience de terrain, on a trouvé que cette espèce a apparu tout d'abord sur les féveroles puis il aurait migré lors de l'avancement de la saison vers les betteraves. De plus la densité était faible au printemps puis elle a commencé à augmenter au début l'été (le pic était observé en juin) avec une croissance de pourcentage de parasitisme. Il est donc très important et possible d'intervenir au début de la saison surtout lorsque la pression imposée par les pucerons est encore faible afin de limiter le risque d'arriver au pic et les dégâts causés. Par d'ailleurs, on a pu remarquer qu'il y avait un parasitisme en présence de petites colonies, ce qui

soutiendrait le fait que les parasitoïdes sont efficaces même au début de la saison et justifierait leur utilisation contre les pucerons. Dans notre étude on a pu faire l'expérience pendant une seule saison de culture, pour cela, il est préférable de répéter l'expérience plusieurs saisons consécutives afin d'avoir une idée plus correcte sur la phylogénie de pucerons, de leurs parasitoïdes et de calculer les bonnes températures auxquelles la présence de pucerons sera annoncée. Par exemple, dans une étude qui a été faite sur la dynamique des pucerons des céréales *Sitobion avenae*, *Metopolophium dirhodum* et *Rhopalosiphum padi*, dans des champs de blé et de seigle en Serbie, la diversité de leurs ennemis naturels y compris les parasitoïdes, hyper parasitoïdes et le taux de momification pendant la période de 2004 à 2006 a permis de montrer que *Aphidius uzbekistanicus* Luzhetzki, *A. rhopalosiphi* De Stefani, *A. ervi* Haliday et *Praon gallicum* Starý étaient les espèces les plus abondantes comme des parasitoïdes primaires et que *Asaphes suspensus*, *Dendrocercus carpenteri*, étaient les plus abondantes comme hyper parasitoïdes (Tomanovic, 2008).

- 2- En générale, les cultures se trouvent toujours dans un environnement complexe comportant aussi bien des espaces ouverts cultivés par des plantes hôtes tels que Epinard, et Bettes que des plantes herbacées (Chénopodes), des haies, qui pourraient contenir des hôtes pour *A. fabae* comme il est considéré comme une espèce polyphage et constituer des

plantes réservoirs de virus. De plus, cet environnement comporte des plantes à fleurs qui pourraient améliorer les ressources nutritionnelles disponibles pour les ennemis naturels (Dib *et al.*, 2012), ce qui confirme ce qu'on a trouvé dans la première étude (**article 1**). Un tel environnement semble favoriser le développement des pucerons et de leurs parasitoïdes bien que les haies soient principalement utilisées comme barrière, ce qui réduit la dispersion des insectes. En effet, Jacek *et al.* (2005) a trouvé que la densité d'*A. fabae* était plus élevée dans les cultures de betterave lorsque le champ était entouré d'une terre non cultivée par opposition à ceux entouré de prairies. Donc, la manipulation de l'environnement par des aménagements adéquats pourrait donc réduire l'infection par les pucerons ainsi que leurs virus qui se trouvent dans les plantes réservoirs et favoriser la présence d'ennemis naturellement présents dans l'agroécosystème (Boivin *et al.*, 2012). L'ajout de haies et de bandes herbeuses situés à proximité des cultures pourrait permettre le développement et la dispersion des parasitoïdes dans les zones cultivées. En outre, la présence de fleurs pourrait également contribuer au développement et à la fécondité des parasitoïdes (Landis *et al.*, 2000; Langer & Hance, 2004; Tompkins *et al.*, 2010).

- 3- Les espèces de plantes hôtes présentes dans les champs ont un impact significatif sur la préférence et le choix des parasitoïdes qui attaquent *A. fabae* (Albittar *et al.*, 2016; Hopkinson *et al.*,

2013). En effet, il a été constaté que les taux de parasitisme de trois espèces de parasitoïdes, y compris *L. fabarum*, variaient entre la féverole et la betterave avec plus de parasitisme sur les féveroles par rapport aux betteraves. La présence d'un hôte comme la féverole pourrait donc influencer la dynamique d'*A.fabae* et de ses parasitoïdes surtout au début de l'infection dans les champs. En effet, Cockbain *et al* (1963) avait déjà mentionné qu'une grande densité d'*A. fabae* s'établissent en permanence sur les féveroles, avec seulement quelques individus qui s'installent sur les betteraves. Une expérience de terrain ou au laboratoire qui combindraient les deux espèces de plantes au même temps avec plusieurs espèces de parasitoïdes pourrait éclaircir la préférence des parasitoïdes en conditions naturelles, y compris les phénomènes de compétition apparente. L'association de cultures pourrait alors être envisagée comme un moyen de lutte (Langer & Hance, 2004).

- 4- On montre dans nos résultats que *L. fabarum*, le parasitoïde le plus abondant d'*A. fabae* était présent et dominant avec une autre espèce, *T. angelicae*. La souche trouvée de *L. fabarum* dans les champs était parthénogénétique thélytoque, ce qui rend les démarches d'élevage en masse plus faciles, rapides et moins coûteuses. De plus, ces deux espèces de parasitoïdes sont connues et efficaces contre la lutte contre *A.fabae* dans le monde (Alikhani *et al.*, 2013; Martinez R *et al.*, 2013; Stary *et al.*, 2014). Il serait alors très intéressant de faire une étude sur l'interaction et la compétition de ces espèces qui paraissent

complémentaires pour déterminer si l'une parmi les deux ou la combinaison de celles-ci serait plus efficace contre l'infestation de pucerons. Par exemple, Mills (2003) a expliqué que chez les lépidoptères attaqués par deux espèces parasitoïdes différentes, les deux parasitoïdes peuvent interagir de manière extrinsèque en tant qu'adultes dans leur recherche d'hôtes, ou intrinsèquement en tant que larves dans les hôtes, ou les deux. D'après lui, cinq formes différentes d'interaction peuvent se produire entre deux espèces de parasitoïdes: la compétition par exploitation, la compétition par interférence avec des effets prioritaires, le cléptoparasitisme, l'hyperparasitisme facultatif et l'hyperparasitisme obligatoire. Or, l'existence des espèces généralistes qui ont quand même une préférence d'hôte (Silva *et al.*, 2008) et des espèces spécifiques pourrait donner une efficacité au long terme dans les programmes de lutte biologique. C'est le cas d'*A. colemani*, l'une des espèces généralistes qui dans notre étude sur la préférence d'hôte (**article 2**) n'a montré, aucune différence quant à l'acceptation ou l'adéquation des deux espèces de pucerons *A. fabae* et *M. persicae* lorsqu'elles sont présentes sur la féverole ou sur la betterave. En outre, les pucerons sont distribués d'une manière aléatoire et peuvent être seuls ou mélangés avec d'autres espèces sur la même plante hôte ce qui permet parfois aux parasitoïdes de parasiter des espèces qui ne font pas partie de leurs hôtes. Par exemple, le puceron *M. persicae* ne fait pas partie des hôtes attaqués par *L. fabarum*. Ce parasitoïde ne

l'accepte pas lorsqu'il est présenté tout seul, par contre, en présence d'*A. fabae*, une acceptation de 40% a été enregistrée sur la betterave et moins de 20% sur la féverole. *L. testaceipes* a également accepté beaucoup plus *M. persicae* en présence d'*A. fabae* qu'il l'a trouvé moins adéquat sur les betteraves étant donné que la plupart des momies produites ont donné naissance à un adulte sur les féveroles et la moitié d'entre elles sur la betterave. Étonnamment, certains adultes de *L. fabarum* ont émergé des quelques momies de *M. persicae* lorsqu'un mélange des deux espèces de pucerons a été appliqué. Cela pourrait être un effet de confusion lié à la présence très proche d'un hôte adéquat. Dans ce cas, les composés chimiques de cet hôte sur la plante ont peut-être stimulé l'envie chez les parasitoïdes d'exploiter et d'accepter un hôte qui est inadéquat pour eux (Meisner *et al.*, 2007). Ces résultats sont en désaccords avec celui de Baker (1976) qui a trouvé que le parasitoïde *Aphytis mytilaspidis* a tendance à parasiter des espèces non adéquates des cochenilles lorsqu'elles étaient seules et qu'il n'y avait pas la possibilité de choisir, par contre, il les a ignorées lorsqu'elles étaient présentes avec l'hôte habituel de ce parasitoïde.

- 5- Bien qu'il est conseillé d'intervenir au début de l'infestation lorsque la densité de pucerons est faible, afin d'éviter l'augmentation et la dispersion de pucerons responsables de la transmission du virus, une intervention de lutte biologique par

les parasitoïdes plus tardive alors que certaines plantes sont déjà contaminées par le virus peut contribuer à donner des résultats positifs. Il est bien connu que les virus provoquent un changement des volatiles émis aussi bien que des changements dans le métabolisme des plantes ainsi que dans le métabolisme secondaire et modifient les teneurs en acides aminés libre et la concentration en glucides qui pourraient être parmi les nutriments les plus limitants qui contrôlent la croissance de la population de pucerons et qui rendent les plantes inoculées plus optimales pour la reproduction (Carter, 1962). En conséquent, les plantes inoculées deviennent plus attractives pour les pucerons qui les trouvent convenable pour leurs développements aussi bien que pour leurs parasitoïdes (Mauck *et al.*, 2015). Ce changement dans la qualité de la plante pourrait influencer plusieurs traits chez les pucerons comme la taille ou la croissance, en augmentant assez fortement leurs traits d'histoire de vie (Chesnais *et al.*, 2017) les rendant plus adéquats pour les parasitoïdes. Nous avons en effet montré une différence significative de la taille du tibia, plus grande sur plante infestée que sur plante saine. Dans notre étude, on n'a pas pu étudier les autres traits comme la longévité et la reproduction des pucerons sur une plante inoculée par rapport aux pucerons sur une plante saine. Donc une étude plus poussée pourrait donner plus d'indications sur la préférence des pucerons de se développer sur une plante saine ou inoculée par le virus.

6- L'attraction de parasitoïdes par une colonie de pucerons est toujours suivie par une évaluation de l'hôte afin de faire son choix de pondre dans un hôte adéquat pour le développement des larves (Nicol & Mackauer, 1999), surtout lorsque les plantes inoculées représentent une bonne source de nutrition pour les pucerons qui peuvent à leur tour affecter le succès du parasitisme et du développement des parasitoïdes (Kalule & Wright, 2005; Ode, 2006). Selon les résultats de la quatrième étude (**article 4**), tous les pucerons élevés sur les plantes inoculées et ceux élevés sur les plantes saines semblent adéquats, sans préférence pour le développement des larves de *L. fabarum*. De même, aucune différence dans le taux d'émergence ou la taille des parasitoïdes émergés n'a pu être mise en évidence. Cela pourrait être expliqué par l'impact du mode de transmission semi-persistant, du virus (Mauck *et al.*, 2012) qui reste donc au niveau du stylet et ne colonise pas le corps du puceron (Ng & Falk, 2006). Il ne devrait donc pas y avoir de différences de qualité du puceron uniquement due au virus. Cependant, une étude sur le virus de la mosaïque de pois qui est persistant n'a montré aucun effet du virus sur le taux de parasitisme d'*A. ervi* lorsqu'il parasitait son puceron *Acyrtosiphon pisum* (Hodge & Powell, 2008). Cette absence d'effet négatif du puceron porteur du virus pour le parasitoïdes fait penser que, les parasitoïdes peuvent être de bons candidats dans les champs déjà infestés par la jaunisse de betteraves. Toutefois, une étude dans les conditions de terrain pourrait

donner des résultats différents de ce que nous avons estimé dans nos expériences de choix entre les pucerons présents sur une plante inoculée et ceux sur une plante saine, et permettrait d'analyser les réels niveaux de parasitisme sur les plantes inoculées et l'impact de ces parasitoïdes sur la dynamique et la dispersion des pucerons.

Nous avons vu auparavant les points positifs en terme de potentialité de contrôle des pucerons qui ressortent de notre étude. Néanmoins, il y a des contraintes qu'on ne peut pas nier et qui pourrait entraîner l'échec de cette méthode :

- 1- Le taux naturel de parasitisme de la population de pucerons dans les champs d'étude était généralement faible (12,73%). Comme *Aphis fabae* est un puceron myrmécophile facultatif, la présence de fourmis pourrait jouer sur les taux de parasitisme. Une étude a montré que pour *L. fabarum*, le pourcentage de parasitisme sur la plante de féverole sans fourmis n'est que de 5% alors qu'il atteint 18% dans les colonies qui contiennent les fourmis, (Völkl & Stechmann, 1998). Il pourrait aussi être affecté par la présence de prédateurs, car les pucerons parasités sont plus vulnérables à la prédation, en particulier par les larves de Coccinellidae ((Xue *et al.*, 2012), ou par les champignons entomopathogènes qui sont présents dans tous les champs. D'après une revue de Lucas (2005), la présence d'autres ennemis naturels pourrait avoir un effet régulateur additionnel sur les populations de

pucerons mais certains cas documentés montrent aussi que la prédation intra-gilde peut conduire à un effet perturbateur du contrôle biologique par le risque de prédation des momies formées. Meyhöfer & Hindayana (2000) ont montré que le risque de prédation d'*A. fabae* momifiés par *Lysiphlebus fabarum* sur la betterave atteint 50% après 5 jours d'exposition aux prédateurs. Donc, une augmentation de la densité de pucerons augmenterait le taux de parasitisme, mais attirerait simultanément les prédateurs qui affectent négativement ce parasitisme (Snyder & Ives, 2008). Il serait donc intéressant d'analyser l'importance de la prédation intragilde et ses conséquences sur la régulation des populations de pucerons. La faiblesse du parasitisme pourrait également être liée à l'interaction négative entre les parasitoïdes via la compétition (Ismail & Albittar, 2016; Zaviezo & Mills, 1999), ou aux caractéristiques des plantes hôtes sur lesquelles se trouvent les pucerons (Fenoglio *et al.*, 2013).

- 2- Les plantes hôtes endommagées par les pucerons, ont un effet qui pourrait être négatif sur l'acceptation et l'adéquation des parasitoïdes. Cet argument était confirmé par des études comme celle de Grasswitz (1998) qui a étudié l'effet des plantes infestées et non infestées par *M. persicae* dans un tunnel de vol ainsi que dans une expérience de lâcher en serre, sur le comportement d'attractivité d'*A. colemani*. En effet, Les plantes endommagées produisent des produits semiochimiques qui sont détectés par les parasitoïdes, comme

les jasmonates dont l'acide jasmonique (JA) ou l'acide salicylique (SA) et le 6-méthyl-5-heptène-2-one. Ces composés sont attractifs pour la recherche de l'hôte par les parasitoïdes (Hatano *et al.*, 2008). Cependant, la féverole endommagée par *A. fabae* ne produit pas le 6-méthyl-5-heptène-2-one et, en conséquence le parasitoïde *Aphidius ervi* ne peut pas être attiré par ce puceron (Powell *et al.*, 1998, Guerrieri *et al.*, 1999). En revanche, l'effet pourrait être positif sur la réponse d'attractivité de parasitoïdes vers les plantes endommagées qui émettent des volatiles attractifs (Cortesero *et al.*, 1993; Petitt *et al.*, 1992) comme cela a été montré pour les espèces : *L. testaceipes*, *Diaeretiella rapae* et *A. ervi* (Grasswitz & Paine, 1992, 1993).

3- L'attraction du parasitoïde par l'hôte peut aussi être influencée par la couleur. Plusieurs parasitoïdes préfèrent les pucerons d'une couleur sombre, comme c'est le cas de *L. fabarum* qui préfère clairement *A. fabae* et ne parasite pas *M. persicae* (Tregubenko, 1980). Cette attirance pourrait rendre la lutte biologique d'une espèce de couleur claire plus difficile surtout lorsqu'elle est sur une plante inoculée par le virus qui montre ses symptômes de jaunisse.

4- L'effet positif du parasitoïdes sur la réduction de population de pucerons est bien connu, en revanche, l'effet négatif reste à quantifier. En effet, une forte densité de pucerons augmente la concentration de phéromones, qui jouent un rôle important

dans l'attraction des parasitoïdes (Le Ralec *et al.*, 2010). Cela peut parfois provoquer une modification dans le comportement (mouvement) et la morphologie des pucerons (apparition d'ailés) (Kunert & Weisser, 2003). Les pucerons peuvent en effet répondre à la présence de parasitoïdes par des coups de pattes, par l'éloignement, la chute de la plante et le plus important par la production des ailés qui sont responsables de la dispersion des maladies dans les champs (Roitberg *et al.*, 1979). Ce point-là est lié aussi à l'espèce de parasitoïde lui-même. Ainsi, *L. fabarum* en mimant le comportement des fourmis (léger tapotement des antennes sur les pucerons d'une manière caressante) passe plus inaperçu et provoque moins de comportement de défense et de fuite.

- 5- Le taux d'adéquation est un facteur très important pour les parasitoïdes qui doivent estimer si leurs choix d'hôte sont bien convenables pour le développement de leurs œufs. L'adéquation de l'hôte suggère que l'hôte natal (l'hôte sur lequel il a été élevé) du parasitoïde est important et peut jouer un rôle dans la sélection de l'hôte pour la descendance (Bourchier *et al.*, 1994), et que les parasitoïdes préfèrent déposer leurs œufs dans l'hôte sur lequel ils ont été élevés (Vinson, 1998). Il a été montré que *L. testaceipes* qui disposait d'une densité d'*A. fabae* élevée sur la féverole en tant qu'hôte natal a parasité beaucoup plus *A. fabae* lorsqu'il est sur féverole, alors que sa performance était variable lorsqu'il est sur la betterave. Ceci est important dans le contexte d'une lutte

biologique appliquée, car les pucerons hôtes ainsi que les plantes hôtes utilisées dans l'élevage en masse du parasitoïde sont souvent différents de ceux des pucerons ciblés sur le terrain. Une analyse plus poussée sur les changements d'hôtes de plusieurs espèces de pucerons avec plusieurs plantes aiderait à déterminer si les conditions d'élevage modifieraient les préférences des parasitoïdes.

- 6- Les parasitoïdes peuvent réagir aux changements de volatiles dus à l'inoculation de virus, par leurs contacts antennaires et leur contacts ovipositeurs (Larocca *et al.*, 2007; Muratori *et al.*, 2006). Dans notre cas, nous avons observé une augmentation significative du nombre de contacts antennaires vis-à-vis des pucerons élevés sur des plantes inoculées. Cette augmentation peut être liée aux changements des substances semiochimiques mais peut être également liée à la taille de pucerons ou au comportement qui pourrait être influencé par l'inoculation de virus. En effet, Wu *et al.* (2011) ont montré que le temps d'examen (du premier contact antennaire jusqu'à l'oviposition) de *M. persicae* par *A. colemani* augmente avec la taille de l'hôte. De plus, l'augmentation peut être liée au comportement du parasitoïde, par exemple notre parasitoïde *L. fabarum* est une espèce qui s'est adaptée pour se nourrir et se reproduire sur les colonies de pucerons grâce à la sollicitation de miellat (le parasitoïde imite les fourmis en caressant les pucerons avec leurs antennes) (Rasekh *et al.*, 2010b), et donc les parasitoïdes passent un tiers de leur temps à solliciter le

miellat avant de passer aux contacts ovipositeur. Ce comportement augmente l'efficacité de ce parasitoïde en présence des fourmis car il passe plus inaperçu que les autres espèces (Rasekh *et al.*, 2010b).

7- Selon notre expérience de terrain, on a remarqué que les parasitoïdes étaient présents au début de l'infection lorsque la densité de pucerons est faible, ce qui est bien pour le contrôle des pucerons. En revanche, d'après l'hypothèse de Charnov (1976) et ce qu'on a trouvé au cours de l'étude de plasticité (**article 3**), le parasitoïde augmente sa tendance à rester dans le patch qu'il est occupé à visiter lorsque la densité de ce patch est riche ce qui annonce un départ plus rapide une fois qu'il arrive dans un patch pauvre. Ce comportement est tout à fait influencé par la densité du patch qu'il visite sans prendre en compte de ce que s'est passé dans le patch précédent, et peut influencer aussi le comportement d'exploitation surtout le nombre de contacts ovipositeurs. Celui-ci augmente aussi lorsque la densité du patch de visite est riche quelle que soit la densité du patch précédent. En conséquent, ce comportement peut être considéré comme un point négatif pour la lutte par les parasitoïdes car le parasitoïde quitte rapidement les colonies à faible densité sans les exploiter totalement et donc le virus peut être transmis même pour une faible densité. De plus, l'utilisation de notre modèle d'étude *L. fabarum* qui est connu comme le parasitoïde le plus abandonnant sur *A. fabae* dans un programme de lutte biologique pourrait se montrer

inefficace, car c'est un parasitoïde lent qui prend son temps à examiner son hôte. il est capable de rencontrer en moyenne 47.4 ± 6.4 pucerons pendant une heure, mais il pond juste 1.2 œuf par heure, l'insertion d'ovipositeur peut prendre de 2 secondes jusqu'à 1 minute, et la majorité des insertions ne donne pas lieu au dépôt d'un œuf (Rasekh *et al.*, 2010b). Nos résultats sont contrastés par rapport aux observations de ce dernier auteur, ils ont montré plus d'efficacité de ponte pour un maximum moyen de 8.8 œufs par 50 minutes.

En conclusion de cette synthèse et d'un point de vue personnel, une stratégie de lutte biologique contre *A. fabae* par *L. fabarum* seul ou avec une autre espèce pourrait être prometteuse dans le futur mais nécessite encore l'acquisition d'un grand nombre d'information sur l'efficacité sur le terrain et les conséquences de la prédation intragilde. En Iraq, la réussite de *L. fabarum* a été enregistrée sur *A. gossypii* sur les melons et le coton (Al-zawi, 1966). En Italie, *L. fabarum* et *L. testaceipes* ont présenté un pourcentage de parasitisme de 90 -100% sur les deux pucerons *A. gossypii* et *A. craccivora* en culture de Citrus (Tremblay, 1980). En Australie, des souches de *L. fabarum* originaires de France, de Grèce, d'Italie et de Turquie avec l'espèce de *L. testaceipes* de USA, ont été utilisées contre la population d' *A. craccivora* sur les légumes dans une expérience de lâchers réalisée en 1982 et 1983 (Waterhouse, 1998). Nos résultats de l'expérience sur le terrain et au laboratoire ont permis d'avoir une idée générale de comment fonctionne le système

plante-pucerons-parasitoïde avec une implication du virus de la betterave et comment un hôte non adéquat pour le parasitoïde pourrait devenir un hôte adéquat lorsqu'il est mélangé avec une autre espèce préférée. Une étude du comportement et de la fitness de la deuxième génération de parasitoïdes émergés de pucerons élevés sur pucerons provenant une plante virosées permettrait de vérifier l'influence à plus long terme de l'infection virale sur le troisième niveau trophique. Les résultats que nous avons obtenu indiquent également que l'intervention par un lâcher de parasitoïde au début d'infestation par les pucerons pourrait aider à réduire et à réguler la population de ravageur avec possiblement une diminution du risque de dispersion du virus. De plus, les résultats ont apporté la réponse à une question importante concernant la capacité de parasitoïde à distinguer entre pucerons sur une plante virosée ou non virosée et à leur adéquation pour obtenir une deuxième génération. Bien sûr avant de pouvoir concrètement mettre en place un schéma de lutte biologique, il sera nécessaire d'acquérir plus d'informations sur ce système et des expériences appliquées sur le terrain à plus grande échelle et sur plusieurs années. L'aspect lié à l'influence du parasitoïde sur la dispersion des pucerons dans les champs et donc la dispersion du virus devrait aussi être analysé en détail et quantifié par rapport aux bénéfices apportés. Par contre, Il serait intéressant d'étudier également des systèmes plus complexes d'aménagement des cultures avec la présence de plantes alternatives pour développer des techniques de lutte. Enfin, les conséquences d'un mélange des deux espèces de parasitoïdes spécifiques ou généralistes devraient

être analysées pour déterminer l'existence d'un effet synergique ou antagoniste sur le développement des populations de pucerons. Il existe encore peu de littérature sur la possibilité de mettre en place une lutte biologique contre les pucerons en culture de betteraves. Cette thèse permet d'amener une série d'éléments nouveaux dans ce domaine et d'envisager ainsi des techniques plus durables de contrôle des ravageurs dans une culture de grande importance économique et qui fait encore appel à l'application de beaucoup de pesticides.

References

- Acebes, A.L. & Messing, R. (2013) Host range of a newly introduced parasitoid, *Binodoxys communis* among common aphid species in Hawaii. *BioControl*, **58**, 635–644.
- Albittar, L., Abo-kaf, N. & Chikh-Khamis, Z. (2008) The Coccinellidae and Syrphidae predators associated with black bean Aphid *Aphis fabae* Scopoli (Homoptera: Aphididae) in Damascus countryside. *Tischreen University Journal for Studies and Scientific Research*, **30**, 109-119.
- Albittar, L., Ismail, M., Bragard, C. & Hance, T. (2016) Host plants and aphid hosts influence the selection behaviour of three aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *European Journal of Entomology*, **113**, 516-522.
- Alikhani, M., Rezwani, A., Stary, P., Kavallieratos, N.G. & Rakhshani, E. (2013) Aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) in cultivated and non-cultivated areas of Markazi Province, Iran. *Biologia*, **68**, 966-973.
- Al-zawi, A.F. 1966. Efficiency of aphidophagous insects in Iraq. In: *Ecology of Aphidophagous Insects*. Proceedings of a Symposium, 1965, Prague. Academia, 277–278.
- Askary, H. & Brodeur, J. (1999) Susceptibility of larval stages of the aphid parasitoid *Aphidius nigripes* to the

- entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. *Journal of Invertebrate Pathology*, **73**, 129-132.
- Azzouz, H., Giordanengo, P., Wäckers, F.L. & Kaiser, L. (2004) Effects of feeding frequency and sugar concentration on behavior and longevity of the adult aphid parasitoid: *Aphidius ervi* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, **31**, 445-452.
- Baker, J.L. (1976) Determinants of host selection for species of *Aphytis* (Hymenoptera: Aphelinidae), parasites of diaspine scales *Hilgardia*, **44**, 1-25.
- Baker, P.F. (1960) Aphid behaviour on healthy and on yellow virus infected sugar beet. *Annals of Applied Biology*, **48**, 384-391.
- Balachandran, S., Hurry, V.M., Kelley, S.E., Osmond, C.B., Robinson, S.A., Rohozinski, J. & Seaton, G.G.R. (1997) Concepts of plant biotic stress. Some insights into stress physiology of virus-infected plants, from the perspective of photosynthesis. *Physiologia Plantarum* **100**, 203–213.
- Barbosa, P., Gross, P. & Kemper, J. (1991) Influence of plant allelochemicals on the Tobacco hornworm and its parasitoid, *Cotesia Congregata*. *Ecology* **72**, 1567-1575
- Bell, W.J. (1990) Searching behavior patterns in insects. *Annual Review of Entomology*, **35**, 447-467.
- Bilu, E., Hopper, K.R. & Coll, M. (2006) Host choice by *Aphidius colemani*: effects of plants, plant-aphid combinations and the presence of intra-guild predators. *Ecological Entomology*, **31**, 331-336.

- Blackman, R.L. & Eastop, V.F. (2000) *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide*, Second edn. John Wiley and Sons Ltd, Chichester.
- Blua, M.J. & Perring, T.M. (1992) Effects of zucchini yellow mosaic virus on colonization and feeding behavior of *Aphis gossypii* (Homoptea: Aphididae) alatae. *Environmental Entomology*, **21**, 578-585.
- Blua, M.J., Perring, T.M. & Madore, M.A. (1994) Plant virus-induced changes in aphid population development and temporal fluctuations in plant nutrients. *Journal of Chemical Ecology*, **20**, 691-707.
- Boivin, G. (2001) Parasitoïdes et lutte biologique : paradigme ou panacée ? VertigO - La revue en sciences de l'environnement. <http://vertigo.revues.org/4096>.
- Boivin, G., Fauvergue, X. & Wajnberg, E. (2004) Optimal patch residence time in egg parasitoids: innate versus learned estimate of patch quality. *Oecologia*, **138**, 640-647.
- Boivin, G., Hance, T. & Brodeur, J. (2012) Aphid parasitoids in biological control. *Canadian Journal of Plant Science*, **92**, 1-12.
- Bonnemain, J.L. (2010) Aphids as biological models and agricultural pests. *Comptes Rendus Biologies*, **333**, 461-463.
- Bosemark, N. O. (2011) La betterave à sucre. Rapport OECD, perspective d'avenir pour la biotechnologie industrielle 133-147.dike

- Bosque-Perez, N.A. & Eigenbrode, S.D. (2011) The influence of virus-induced changes in plants on aphid vectors: Insights from luteovirus pathosystems. *Virus Research*, **159**, 201-205.
- Bourchier, R.S., Smith, S.M., Corrigan, J.E. & Laing, J.E. (1994) Effect of host switching on performance of mass reared *Trichogramma minutum*. *Biocontrol Science and Technology*, **4**, 353-362.
- Bozarth, R.F. & Diener, T.O. (1963) Changes in concentration of free amino acids and amides induced to tobacco plants by potato virus X and potato virus Y. *Virology*, **21**, 188-193.
- Bragard, C., Caciagli, P., Lemaire, O., Lopez-Moya, J.J., MacFarlane, S., Peters, D., Susi, P. & Torrance, L. (2013) Status and prospects of plant virus control through interference with vector transmission. *Annual Review of Phytopathology*, **51**, 177-201.
- Brimah, H. & Vanemden, H.F. (1994) The role of the plant in host acceptance by the parasitoid *Aphidius rhopalosiphii* (Hymenoptera, Braconidae). *Bulletin of Entomological Research*, **84**, 303-306.
- Brisson, J.A. (2010) Aphid wing dimorphisms: linking environmental and genetic control of trait variation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, **365**, 605-616.
- Budenberg, W.J. (1990) Honeydew as a contact kairomone for aphid parasitoids. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **55**, 139-147.

- Bélair, G. (2005) Les nématodes, ces anguillules qui font suer les plantes... par la racine. *Phytoprotection*, **861**, 65–69.
- Calvo, D. & Fereres, A. (2011) The performance of an aphid parasitoid is negatively affected by the presence of a circulative plant virus. *Biocontrol*, **56**, 747-757.
- Caneill, J. & Bodet, J.M. (1994) Reduced tillage systems and crop yields. *Reduced-Tillage Systems*, **65**, 63-82.
- Carter, W. (1962) *Insects in relation to plant disease*. John Wiley & Sons, New York.
- Carver, M. (1989) Biological control of aphids. *World Crop Pests. Aphids. Their Biology, Natural Enemies and Control* (eds A.K. Minks & P. Harrewijn), pp. 141–165 Elsevier, Amsterdam
- Carver, M. & Franzmann, B. (2001) *Lysiphlebus Forster* (Hymenoptera : Braconidae : Aphidiinae) in Australia. *Australian Journal of Entomology*, **40**, 198-201.
- Castle, S.J. & Berger, P.H. (1993) Rates of growth and increase of *Myzus persicae* on virus-infected potatoes according to type of virus–vector relationship. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **69**, 51-60.
- Castle, S.J., Mowry, T.M. & Berger, P.H. (1998) Differential settling by *Myzus persicae* (Homoptera : Aphididae) on various virus infected host plants. *Annals of the Entomological Society of America*, **91**, 661-667.
- Chacon, J.M., Landis, D.A. & Heimpel, G.E. (2008) Potential for biotic interference of a classical biological control agent of the soybean aphid. *Biological Control*, **46**, 216-225.

- Charnov, E.L. (1976) Optimal foraging, marginal value theorem. *Theoretical Population Biology*, **9**, 129-136.
- Chau, A. & Mackauer, M. (2001) Preference of the aphid parasitoid *Monoctonus paulensis* (Hymenoptera : Braconidae, Aphidiinae) for different aphid species: Female choice and offspring survival. *Biological Control*, **20**, 30-38.
- Chaubet, B. (2010) Encyclop'Aphid. Écologie et génétique des insectes. INRA. <https://www4.inra.fr/encyclopedie-pucerons/Pucerons-et-leur/Antagonistes/Parasitoides/Cycle-biologique>.
- Chesnais, Q. (2016) Intégration de la cameline au sein des agro-écosystèmes: des relations multi-trophiques complexes. PhD, Université e Picardie Jules Verne.
- Chesnais, Q., Couty, A., Uzest, M., Brault, V. & Ameline, A. (2017) Plant infection by two different viruses induce contrasting changes of vectors fitness and behavior. *Insect science*.
- Chinery, M. (1993) *Insects of Britain and Northern Europe*. Harper Collins Publishers Ltd, London
- Christiansen-Weniger, P., Powell, C. & Hardie, J. (1998) Plant virus and parasitoid interactions in a shared insect vector/host. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **86**, 205-213.
- Chuche, J., Auricau-Bouvery, N., Danet, J.-L. & Thiéry, D. (2017) Use the insiders: could insect facultative

- symbionts control vector-borne plant diseases? *Journal of Pest Science*, **90**, 51-68.
- Clover, G.R.G., Azam-Ali, S.N., Jaggard, K.W. & Smith, H.G. (1999) The effects of beet yellows virus on the growth and physiology of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Plant Pathology*, **48**, 129-138.
- Cloyd, R. (2012) Indirect effects of pesticides on natural enemies. *Pesticides - Advances in Chemical and Botanical Pesticides* (ed. R.P. Soundararajan), pp. 127-150. Intech, Rijeka, Croatia. Available from: <https://www.intechopen.com/books/pesticides-advances-in-chemical-and-botanical-pesticides/indirect-effects-of-pesticides-on-natural-enemies>.
- Cockbain, A.J., Gibbs, A.J. & Heathcote, G.D. (1963) Some factors affecting the transmission of sugar beet mosaic and pea mosaic by *Aphis fabae* and *Myzus persicae*. *Annals of Applied Biology*, **52**, 133-&.
- Collett, D. (1994) *Modelling survival data in medical research*. Chapman and Hall, London.
- Constance Agbogba, B. & Powell, W. (2008) Effect of the Presence of a Nonhost Herbivore on the Response of the Aphid Parasitoid *Diaeretiella rapae* to Host-infested Cabbage Plants. *Journal of Chemical Ecology*, **33**, 2229-2235.
- Cooke , D.A. & Scott , J.E. (1993) *The Sugar Beet Crop*. Chapman & Hall. Springer Netherlands.

- Cortesero, A.M., Monge, J.P. & Huignard, J. (1993) Response of the parasitoid *Eupelmus vuilleti* to the odours of the phytophagous host and its host plant in an olfactometer. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **69**, 109–116. doi:10.1111/j.1570-7458.1993.tb01734.x
- Cox, D.R. (1972) Regression models and life tables. *Biometrics*, **38**, 67–77.
- Crawley, M.J. (1993) *GLIM for Ecologists*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Culver, J.N. & Padmanabhan, M.S. (2007) Virus-induced disease: altering host physiology one interaction at a time. *Annual Review of Phytopathology*, **45**, 221–243
- Dader, B., Moreno, A., Vinuela, E. & Fereres, A. (2012) Spatio-Temporal dynamics of viruses are differentially affected by parasitoids depending on the mode of transmission. *Viruses-Basel*, **4**, 3069–3089.
- de Oliveira, C.F., Long, E.Y. & Finke, D.L. (2014) A negative effect of a pathogen on its vector? A plant pathogen increases the vulnerability of its vector to attack by natural enemies. *Oecologia*, **174**, 1169–1177.
- Dedryver, C.A., Le Ralec, A. & Fabre, F. (2010) The conflicting relationships between aphids and men: A review of aphid damage and control strategies. *Comptes Rendus Biologies*, **333**, 539–553.
- Desneux, N., Barta, R.J., Hoelmer, K.A., Hopper, K.R. & Heimpel, G.E. (2009) Multifaceted determinants of host

- specificity in an aphid parasitoid. *Oecologia*, **160**, 387-398.
- Dewar, A.M., Haylock, L.A. & Ecclestone, P.M.J. (1996) Strategies for controlling aphids and virus yellows in sugar beet. *Brighton Crop Protection*, pp. 185-190. Brighton, England.
- Dib, H., Libourel, G. & Warlop, F. (2012) Entomological and functional role of floral strips in an organic apple orchard: Hymenopteran parasitoids as a case study. *Journal of Insect Conservation*, **16**, 315-318.
- Dicke, M., de Boer, J.G., Hofte, M. & Rocha-Granados, M.C. (2003) Mixed blends of herbivore-induced plant volatiles and foraging success of carnivorous arthropods. *Oikos*, **101**, 38-48.
- Dicke, M. & Hilker, M. (2003) Induced plant defences: From molecular biology to evolutionary ecology. *Basic and Applied Ecology*, **4**, 3-14
- Dolja, V.V. (2003) Beet yellows virus: the importance of being different. *Molecular Plant Pathology*, **4**, 91-98.
- Donaldson, J.R. & Gratton, C. (2007) Antagonistic effects of soybean viruses on soybean aphid performance. *Environmental Entomology*, **36**, 918-925.
- Donohue, M.J., Costa, D.P., Goebel, E., Antonelis, G.A. & Baker, J.D. (2002) Milk intake and energy expenditure of free-ranging northern fur seal, *Callorhinus ursinus*, pups. *Physiological and Biochemical Zoology*, **75**, 3-18.

- Dorn, S., Schumacher, P., Abivardi, C. & Meyhofer, R. (1999) Global and regional pest insects and their antagonists in orchards: spatial dynamics. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **73**, 111-118.
- Driessen, G. & Bernstein, C. (1999) Patch departure mechanisms and optimal host exploitation in an insect parasitoid. *Journal of Animal Ecology*, **68**, 445-459.
- Driessen, G., Bernstein, C., Van Alphen, J.J.M. & Kacelnik, A. (1995) A count-down mechanism for host search in the parasitoid *Venturia canescens*. *Journal of Animal Ecology*, **64**, 117-125.
- Du, Y.J., Poppy, G.M. & Powell, W. (1996) Relative importance of semiochemicals from first and second trophic levels in host foraging behavior of *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*, **22**, 1591-1605.
- Du, Y.J., Poppy, G.M., Powell, W., Pickett, J.A., Wadham, L.J. & Woodcock, C.M. (1998) Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract parasitoid *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*, **24**, 1355-1368.
- Duffus, J.E. (1971) Role of weeds in incidence of virus diseases. *Annual Review of Phytopathology*, **9**, 319-340.
- Duffus, J.E. (1973) The yellowing virus diseases. *Advances in Virus Research*, **18**, 347-382.
- Eggleton, P. & Gaston, K.J. (1990) Parasitoid species and assemblages – convenient definitions or misleading compromises. *Oikos*, **59**, 417-421.

- Eigenbrode, S.D., Ding, H., Shiel, P. & Berger, P.H. (2002) Volatiles from potato plants infected with potato leafroll virus attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (Homoptera : Aphididae). *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **269**, 2603-2603.
- Eijs, I.E.M., Ellers, J. & van Duinen, G.J. (1998) Feeding strategies in drosophilid parasitoids: the impact of natural food resources on energy reserves in females. *Ecological Entomology*, **23**, 133-138.
- Eilenberg, J., Hajek, A. & Lomer, C. (2001) Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol*, **46**, 387-400.
- Engelsdorf, T., Horst, R.J., Prols, R., Proschel, M., Dietz, F., Huckelhoven, R. & Voll, L.M. (2013) Reduced carbohydrate availability enhances the susceptibility of *Arabidopsis* toward *Colletotrichum higginsianum*. *Plant Physiology*, **162**, 225-238.
- Fadamiro, H.Y. & Heimpel, G.E. (2001) Effects of partial sugar deprivation on lifespan and carbohydrate mobilization in the parasitoid *Macrocentrus grandii* (Hymenoptera: Braconidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **94**, 909-916.
- Fenoglio, M.S., Videla, M., Salvo, A. & Valladares, G. (2013) Beneficial insects in urban environments: Parasitism rates increase in large and less isolated plant patches via

- enhanced parasitoid species richness. *Biological Conservation*, **164**, 82-89.
- Fereres, A., Araya, J.E., Housley, T.L. & Foster, J.E. (1990) Carbohydrate composition of wheat infected with barley yellow dwarf virus. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection*, **97**, 600-608.
- Fereres, A. & Moreno, A. (2009) Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. *Virus Research*, **141**, 158-168
- Fernandes, O.A., Wright, R.J. & Mayo, Z.B. (1998) Parasitism of greenbugs (Homoptera : Aphididae) by *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera : Braconidae) in grain sorghum: Implications for augmentative biological control. *Journal of Economic Entomology*, **91**, 1315-1319.
- Fernandez-Quintanilla, C., Fereres, A., Godfrey, L. & Norris, R.F. (2002) Development and reproduction of *Myzus persicae* and *Aphis fabae* (Hom., Aphididae) on selected weed species surrounding sugar beet fields. *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, **126**, 198-202.
- Finke, D.L. (2012) Contrasting the consumptive and non-consumptive cascading effects of natural enemies on vector-borne pathogens. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **144**, 45-55.

- Firlej, A., Lucas, E., Coderre, D. & Boivin, G. (2010) Impact of host behavioral defenses on parasitization efficacy of a larval and adult parasitoid. *Biocontrol*, **55**, 339-348.
- Fitzhugh & Habu (2002) *Beyond Foraging and collecting: Evolutionary change in Hunter-Gatherer Settlement Systems* Kluwer Academic plenum, New York.
- Foray, V., Pelisson, P.-F., Bel-Venner, M.-C., Desouhant, E., Venner, S., Menu, F., Giron, D. & Rey, B. (2012) A handbook for uncovering the complete energetic budget in insects: the van Handel's method (1985) revisited. *Physiological Entomology*, **37**, 295-302.
- Froissart, L., Bernstein, C., Humblot, L., Amat, I. & Desouhant, E. (2012) Facing multiple information sources while foraging on successive patches: How does a parasitoid deal with experience? *Animal Behaviour*, **83**, 189-199.
- Fytoweb (2013) Liste officielle des pesticides à usage agricole autorisés en Belgique. Service Pesticides et Engrais. In: <http://www.fytoweb.fgov.be/indexfr.htm>, accès : 09/05/2013.
- Giron, D., Pincebourde, S. & Casas, J. (2004) Lifetime gains of host-feeding in a synovigenic parasitic wasp. *Physiological Entomology*, **29**, 436-442.
- Godfray, H.C.J. (1994) *Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology*. Princeton University Press, Princeton.
- Goodman, P.J., Watson, M.A. & Hill, A.R.C. (1965) Sugar and fructosan accumulation in virus-infected plants: rapid

- testing by circular-paper chromatography. *Annals of Applied Biology*, **56**, 65-&.
- Gosme, M., Suffert, F. & Jeuffroy, M.-H. (2010) Intensive versus low-input cropping systems: What is the optimal partitioning of agricultural area in order to reduce pesticide use while maintaining productivity? *Agricultural Systems*, **103**, 110-116.
- Grasswitz, T.R. (1998) Effect of adult experience on the host-location behavior of the aphid parasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera : Aphidiidae). *Biological Control*, **12**, 177-181.
- Grasswitz, T.R. & Paine, T.D. (1992) Kairomonal effect of an aphid cornicle secretion on *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hymenoptera, aphidiidae). *Journal of Insect Behavior*, **5**, 447-457.
- Grasswitz, T.R. & Paine, T.D. (1993) Effect of experience on in-flight orientation to host-associated cues in the generalist parasitoid *Lysiphlebus testaceipes*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **68**, 219-229.
- Greathead, D.J. (1986) Parasitoids in classical biological control. *Insect parasitoids* (eds J.K. Waage & D.J. Greathead), pp. 289-318. Academic Press, London,.
- Grundler, F.M.W., Sobczak, M. & Lange, S. (1997) Defence responses of *Arabidopsis thaliana* during invasion and feeding site induction by the plant-parasitic nematode *Heterodera glycines*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, **50**, 419-430.

- Guerrieri, E., Poppy, G.M., Powell, W., Rao, R. & Pennacchio, F. (2002) Plant-to-plant communication mediating in flight orientation of *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*, **28**, 1703-1715.
- Guerrieri, E., Poppy, G.M., Powell, W., Tremblay, E. & Pennacchio, F. (1999) Induction and systemic release of herbivore-induced plant volatiles mediating in flight orientation of *Aphidius ervi*. *Journal of Chemical Ecology*, **25**, 1247-1261.
- Haeckel, E. (1866) *Generelle Morphologie der Organismen*. Berlin, Reimer.
- Hairton, N.G., Smith, F.E. & Slobodkin, L.B. (1960) Community Structure, Population Control, and Competition. *The American Naturalist*, **94**, 421-425.
- Hall, A.E. & Loomis, R.S. (1972a) An explanation for difference in photosynthetic capabilities of healthy and beet yellows virus-infected sugar beets (*Beta vulgaris* L.). *Plant Physiology*, **50**, 576-580.
- Hall, A.E. & Loomis, R.S. (1972b) Photosynthesis and respiration by healthy and beet yellows virus-infected sugar beets (*Beta vulgaris* L.). *Crop Science*, **12**, 566-572.
- Hance, T. (1995) Relationships between aphid phenology and predator and parasitoid abundances in maize fields. *Arthropod Natural Enemies in Arable Land I: Density, Spatial Heterogeneity and Dispersal*, **70**, 113-123.
- Hance, T., Kohandani-Trafresh, F., Munaut & F. (2017) Biological control *Aphids as Crop Pests* (eds H.F. van

- Emden & R. Harrington), pp. 448-493. CABI, Wallingford, .
- Hance, T., Vanimpe, G., Lebrun, P., Nihoul, P., Benoit, F. & Ceusterman, N. (1991) Comparison of biological and chemical control methods for tomato crop protection against the 2 spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Agronomie*, **11**, 799-806.
- Hardie, J. (1981) The effect of juvenile hormone on host plant preference in the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Physiological Entomology*, **6**, 369-374.
- Harris, K.F., Pesic-Van Esbroeck, Z. & Duffus, J.E. (1996) Morphology of the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera, Aleyrodidae) relative to virus transmission. *Zoomorphology*, **116**, 143-156.
- Hatano, E., Kunert, G., Michaud, J.P. & Weisser, W.W. (2008) Chemical cues mediating aphid location by natural enemies. *European Journal of Entomology*, **105**, 797-806.
- Hawkins, B.A. & Mills, N.J. (1996) Variability in parasitoid community structure. *Journal of Animal Ecology*, **65**, 501-516.
- Heathcote, G.d. & Cockbain, A.J. (1966) Aphids from mangold clamps and their importance as vectors of beet viruses. *Annals of Applied Biology*, **57**, 321-336.
- Heimpel, G.E. & Rosenheim, J.A. (1998) Egg Limitation in Parasitoids: A Review of the Evidence and a Case Study. *Biological Control*, **11**, 160-168.

- Herbers, K., Takahata, Y., Melzer, M., Mock, H.P., Hajirezaei, M. & Sonnewald, U. (2000) Regulation of carbohydrate partitioning during the interaction of potato virus Y with tobacco. *Molecular Plant Pathology*, **1**, 51-59.
- Hills, O.A., Bennett, C.W., Brubaker, R.W., Coudriet, D.L. & Jewell, H.K. (1963) Effect of 3 insect-borne virus diseases on sugar beet seed production. *Journal of Economic Entomology*, **56**, 690-&.
- Hills, O.A., Bennett, C.W., Jewell, H.K., Coudriet, D.L. & Brubaker, R.W. (1960) Effect of virus yellows on yield and quality of sugar beet seed. *Journal of Economic Entomology*, **53**, 162-164.
- Hodek, I.H., K.S. van & Emden, H.F. (1972) Methods for studying effectiveness of natural enemies. *Aphid technology* (ed. H.F. van Emden), pp. 147-188. Academic Press, London.
- Hodge, S., Hardie, J. & Powell, G. (2011) Parasitoids aid dispersal of a nonpersistently transmitted plant virus by disturbing the aphid vector. *Agricultural and Forest Entomology*, **13**, 83-88.
- Hodge, S. & Powell, G. (2008) Complex interactions between a plant pathogen and insect parasitoid via the shared vector-host: consequences for host plant infection. *Oecologia*, **157**, 387-397.
- Hoedjes, K., Kruidhof, M., Huigens, T., Dicke, M., Vet, L. & Smid, H. (2011) Natural variation in learning rate and

- memory dynamics in parasitoid wasps: opportunities for converging ecology and neuroscience. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **278**, 889-897.
- Holopainen, J.K. & Gershenzon, J. (2010) Multiple stress factors and the emission of plant VOCs. *Trends in Plant Science*, **15**, 176-184.
- Hooks, C.R.R. & Fereres, A. (2006) Protecting crops from non-persistently aphid-transmitted viruses: A review on the use of barrier plants as a management tool. *Virus Research*, **120**, 1-16.
- Hopkinson, J.E., Zalucki, M.P. & Murray, D.A.H. (2013) Host selection and parasitism behavior of *Lysiphlebus testaceipes*: Role of plant, aphid species and instar. *Biological Control*, **64**, 283-290.
- Hopper, K.R., Prager, S.M. & Heimpel, G.E. (2013) Is parasitoid acceptance of different host species dynamic? *Functional Ecology*, **27**, 1201-1211.
- Hosken, D.J. & Pitnick, S. (2003) Do queens select sperm? *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 107-107.
- Houston, A., Clark, C., McNamara, J. & Mangel, M. (1988) Dynamic models in behavioral and evolutionary ecology. *Nature*, **332**, 29-34.
- Houston, A.I. & McNamara, J.M. (1986) The influence of mortality on the behavior that maximizes reproductive success in a patchy environment. *Oikos*, **47**, 267-274.
- Hunter, M.D. & Price, P.W. (1992) Playing chutes and ladders: heterogeneity and the relative roles of bottom-up and top

down forces in natural communities. *Ecology*, **73** 24-732.

Hull, R. (2009) *Comparative Plant Virology*, 2 edn. Elsevier, Amsterdam.

Hulle, M., Chaubet, B. & Dedryver, C. A. (2011) Les pucerons des grandes cultures: Cycles biologiques et activités de vol. In: p. 136. Paris: ACTA, le réseau des instituts des filières animales et végétales. Editions Quae.

Hurej, M. & Vanderwerf, W. (1993) The influence of black bean aphid, *Aphis fabae* Scop, and its honeydew on leaf growth and dry matter production of sugar beet. *Annals of Applied Biology*, **122**, 201-214.

Ismail, M. & Albittar, L. (2016) Mortality factors affecting immature stages of codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae), and the impact of parasitoid complex. *Biocontrol Science and Technology*, **26**, 72-85.

Ismail, M., Vernon, P., Hance, T., Pierre, J.S. & van Baaren, J. (2012) What are the possible benefits of small size for energy-constrained ectotherms in cold stress conditions? *Oikos*, **121**, 2072-2080.

Iversen, T. & Harding, S. (2007) Life table parameters affecting the population development of the woolly beech aphid, *Phyllaphis fagi*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **123**, 109-117.

- Iwasa, Y., Higashi, M. & Yamamura, N. (1981) Prey distribution as a factor determining the choice of optimal foraging strategy. *The American Naturalist*, **117**, 710-723.
- Iwasa, Y., Suzuki, Y. & Matsuda, H. (1984) Theory of oviposition strategy of parasitoids .1. Effect of mortality and limited egg number. *Theoretical Population Biology*, **26**, 205-227.
- Jacek, P., Twardowski, J.P., Hurej, M. & Klukowski, Z. (2005) The effect of Strip Management on reduction of *Aphis fabae* (Homoptera: *Aphididae*) populations by predators on sugar beet crops. *Journal of Plant Protection Research*, **45**.
- Jang, E.B., Messing, R.H., Klungness, L.M. & Carvalho, L.A. (2000) Flight tunnel responses of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera : Braconidae) to olfactory and visual stimuli. *Journal of Insect Behavior*, **13**, 525-538.
- Jansen, J.P. (1996) Side effects of insecticides on *Aphidius rhopalosiphii* (Hym: Aphidiidae) in laboratory. *Entomophaga*, **41**, 37-43.
- Jeger, M.J., Chen, Z., Powell, G., Hodge, S. & van den Bosch, F. (2011) Interactions in a host plant-virus-vector-parasitoid system: Modelling the consequences for virus transmission and disease dynamics. *Virus Research*, **159**, 183-193.

- Jensen, S.G. (1972) Metabolism and carbohydrate composition in barley yellow dwarf virus-infected wheat. *Phytopathology*, **62**, 587-&.
- Jimenez-Martinez, E.S. & Bosque-Perez, N.A. (2004) Variation in barley yellow dwarf virus transmission efficiency by *Rhopalosiphum padi* (Homoptera : Aphididae) after acquisition from transgenic and nontransformed wheat genotypes. *Journal of Economic Entomology*, **97**, 1790-1796.
- Jimenez-Martinez, E.S. & Bosque-Perez, N.A. (2009) Life history of the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi*, on transgenic and non-transformed wheat challenged with Wheat streak mosaic virus. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **133**, 19-26.
- Kalule, T. & Wright, D.J. (2004) The influence of cultivar and cultivar-aphid odours on the olfactory response of the parasitoid *Aphidius colemani*. *Journal of Applied Entomology*, **128**, 120-125.
- Kalule, T. & Wright, D.J. (2005) Effect of cultivars with varying levels of resistance to aphids on development time, sex ratio, size and longevity of the parasitoid *Aphidius colemani*. *Biocontrol*, **50**, 235-246.
- Kassanis, B. (1953) Some effects of sucrose and phosphorus in increasing the multiplication of tobacco mosaic virus in detached tobacco leaves. *Journal of General Microbiology*, **9**, 467-474.

- Kennedy, J.S., Day, M.F. & Eastop, V.F. (1962) A conspectus of aphids as vectors of plant viruses. *Commonwealth Institute of Entomology*, pp. 114. London.
- Khan, J.A. & Dijkstra, J. (2001) *Plant Viruses as Molecular Pathogens*. CRC Press, Oxford, London.
- Knight, P. (1944) Insects associated with the Palay rubber vine in Haiti. *Journal of Economic Entomology*, **37**, 100-102.
- Knight, T., McCoy, M.W., Chase, J., McCoy, K. & Holt, R.D. (2005) *Trophic cascades across systems*.
- Kunert, G. & Weisser, W.W. (2003) The interplay between density- and trait-mediated effects in predator-prey interactions: a case study in aphid wing polymorphism. *Oecologia*, **135**, 304-312.
- Lampert, E. & Bowers, M. (2010) Host plant species affects the quality of the generalist *Trichoplusia ni* as a host for the polyembryonic parasitoid *Copidosoma floridanum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **134**, 287-295.
- Landis, D.A. & Van der Werf, W. (1997) Early-season predation impacts the establishment of aphids and spread of beet yellows virus in sugar beet. *Entomophaga*, **42**, 499-516.
- Landis, D.A., Wratten, S.D. & Gurr, G.M. (2000) Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture. *Annual Review of Entomology*, **45**, 175-201.
- Langer, A. & Hance, T. (2004) Enhancing parasitism of wheat aphids through apparent competition: a tool for biological

- control. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **102**, 205-212.
- Langer, A., Stilmant, D., Verbois, D. & Hance, T. (1997) Seasonal activity and distribution of cereal aphid parasitoids in Belgium. *Entomophaga*, **42**, 185-191.
- Larocca, A., Fanti, P., Romano, V.A., Marsicovetere, E., Isidoro, N., Romani, R., Ruschioni, S., Pennacchio, F. & Battaglia, D. (2007) Functional bases of host-acceptance behaviour in the aphid parasitoid *Aphidius ervi*. *Physiological Entomology*, **32**, 305-312.
- Lease, H.M. & Wolf, B.O. (2011) Lipid content of terrestrial arthropods in relation to body size, phylogeny, ontogeny and sex. *Physiological Entomology*, **36**, 29-38.
- Ledent, J. F. & Bertin, P. (2001) Ecophysiologie et phytotechnie des plantes de grandes cultures. pp. 69-130. UCL, syllabus, Faculté d'Ingénierie biologique, agronomique et environnementale.
- Legrand, G. (2013) Techniques culturales betteravière. asbl IRBAB, Institut Royal Belge pour l'Amélioration de la Betterave. - *Le Betteravier*, 9-13.
- Le Guigo, P. (2010) Interactions tritrophiques entre des Brassicacées, des pucerons et un parasitoïde : Importance des plantes hôtes et des plantes voisines. Université d'Angers.
- Le Ralec, A., Anselme, C., Outreman, Y., Poirie, M., van Baaren, J., Le Lann, C. & van Alphen, J.J.M. (2010) Evolutionary

- ecology of the interactions between aphids and their parasitoids. *Comptes Rendus Biologies*, **333**, 554-565.
- Lei, W., Li, P., Han, Y., Gong, S., Yang, L. & Hou, M. (2016) EPG Recordings Reveal Differential Feeding Behaviors in *Sogatella furcifera* in Response to Plant Virus Infection and Transmission Success. *Scientific Reports*, **6**, 30240.
- Levie, A., Dogot, P. & Hance, T. (2000) Release of *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Aphidiinae) for cereal aphid control: field cage experiments. *European Journal of Entomology*, **97**, 527-531.
- Levie, A., Legrand, M.A., Dogot, P., Pels, C., Baret, P.V. & Hance, T. (2005) Mass releases of *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Aphidiinae), and strip management to control of wheat aphids. *Agriculture Ecosystems & Environment*, **105**, 17-21.
- Li, S., Falabella, P., Giannantonio, S., Fanti, P., Battaglia, D., Digilio, M.C., Volkl, W., Sloggett, J.J., Weisser, W. & Pennacchio, F. (2002) Pea aphid clonal resistance to the endophagous parasitoid *Aphidius ervi*. *Journal of Insect Physiology*, **48**, 971-980.
- Lohaus, G. & Schwerdtfeger, M. (2014) Comparison of Sugars, Iridoid Glycosides and Amino Acids in Nectar and Phloem Sap of *Maurandya barclayana*, *Lophospermum erubescens*, and *Brassica napus*. *Plos One*, **9**.
- Lohaus, G., Winter, H., Riens, B. & Heldt, H.W. (1995) Further studies of the phloem loading process in leaves of barley

- and spinach: the comparison of metabolite concentrations in the apoplastic compartment with those in the cytosolic compartment and in the sieve tubes. *Botanica Acta*, **108**, 270-275.
- Lucas, E. (2005) Intraguild predation among aphidophagous predators. *European Journal of Entomology*, **102**, 351-363.
- Luczynski, A., Nyrop, J.P. & Shi, A. (2007) Influence of cold storage on pupal development and mortality during storage and on post-storage performance of *Encarsia formosa* and *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Biological Control*, **40**, 107-117.
- MacArthur, R.H. & Pianka, E.R. (1966) On Optimal Use of a Patchy Environment. *The American Naturalist*, **100**, 603-609.
- Mackauer, M., Michaud, J.P. & Volkl, W. (1996) Host choice by aphidiid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae): Host recognition, host quality, and host value. *Canadian Entomologist*, **128**, 959-980.
- Mackauer, M. & Sary, P. (1967) Ichneumonoidea, world Aphidiidae. *Index of Entomophagous Insects* (eds V. Delucchi & G. Rémaudière), pp. 1-167. Le François, Paris.
- Markkula, M. & Laurema, S. (1964) Changes in concentration of free amino acids in plants induced by virus diseases and the reproduction of aphids. *Annales Botanici Fennici* **3**, 265-271.

- Martinez R, M.d.l.A., Ceballos V, M., Suris C, M., Duarte M, L. & Banos D, H. (2013) Aphids and parasitoids in urban systems of vegetables production in Cuba. *Revista Colombiana De Entomologia*, **39**, 13-17.
- Matin, S.B., Sahragard, A. & Rasoolian, G. (2009) Some biological parameters of *Lysiphlebus fabarum* (Hymenoptera: Aphidiidae) a parasitoid of *Aphis fabae* (Homoptera: Aphidiidae) under laboratory conditions. *Munis Entomology and Zoology* **4**, 193-200.
- Mattiacci, L., Dicke, M. & Posthumus, M.A. (1994) Induction of parasitoid attracting synomone in brussels sprouts plants by feeding of *Pieris brassicae* larvae : role of mechanical damage and herbivore elicitor. *Journal of Chemical Ecology*, **20**, 2229-2247.
- McNamara, J. & Houston, A. (1985) A simple model of information use in the exploitation of patchily distributed food. *Animal Behaviour*, **33**, 553-560.
- Mauck, K., Bosque-Perez, N.A., Eigenbrode, S.D., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2012) Transmission mechanisms shape pathogen effects on host-vector interactions: evidence from plant viruses. *Functional Ecology*, **26**, 1162-1175.
- Mauck, K., De Moraes, C. & Mescher, M. (2014) Cucumber mosaic virus-induced changes in volatile production and plant quality: Implications for disease transmission and multitrophic interactions. *Phytopathology*, **104**, 151-151.

- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2010) Deceptive chemical signals induced by a plant virus attract insect vectors to inferior hosts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 3600-3605.
- Mauck, K.E., De Moraes, C.M. & Mescher, M.C. (2015) Infection of host plants by Cucumber mosaic virus increases the susceptibility of *Myzus persicae* aphids to the parasitoid *Aphidius colemani*. *Scientific Reports*, **5**.
- McCormick, A.C., Unsicker, S.B. & Gershenson, J. (2012) The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends in Plant Science*, **17**, 303-310.
- Medeiros, L. & Moreira, G. (2005) Larval feeding behavior of *Gratiana spadicea* (Klug) (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae) on its host plant, *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae): Interaction with trichomes. *Coleopterists Bulletin*, **59**, 339-350
- Meisner, M., Harmon, J.P. & Ives, A.R. (2007) Presence of an unsuitable host diminishes the competitive superiority of an insect parasitoid: a distraction effect. *Population Ecology*, **49**, 347-355.
- Mendiburu, F. (2015) Agricolae - statistical procedures for agricultural research.
<http://tarwi.lamolina.edu.pe/~fmendiburu>.
- Messing, R.H. & Rabasse, J.M. (1995) Oviposition behavior of the polyphagous aphid parasitoid *Aphidius colemani*

- viereck (Hymenoptera, Aphidiidae). *Agriculture Ecosystems & Environment*, **52**, 13-17.
- Meyhöfer, R. & Hindayana, D. (2000) Effects of intraguild predation on aphid parasitoid survival. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **97**, 115-122.
- Michaud, J.P. & Mackauer, M. (1994) The use of visual cues in host evaluation by Aphidiid wasps .1. Comparison between 3 *Aphidius* parasitoids of the pea aphid. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **70**, 273-283.
- Miles, P.W. (1987) The responses of plants to the feeding Aphidoidea: principles. *World crop pests Aphids. Their biology, natural enemies and control* (eds A.K. Minks & P. Harrewijn), pp. 1-22. Elsevier, Amsterdam
- Mills, N.J. (1993) Species richness and structure in the parasitoid complexes of tortricoid hosts. *Journal of Animal Ecology*, **62**, 45-58.
- Mills, N.J. (2003) Parasitoid interactions and biological control. *1st International Symposium on the Biological Control of Arthropods* (ed. R. van Driesche), pp. 108–113. FHTET-03-05. USDA Forest Service, Honolulu, HI.
- Milne, W.M. (1986) The release and establishment of *Aphidius ervi* haliday (hymenoptera, ichneumonoidea) in lucerne aphids in eastern Australia. *Journal of the Australian Entomological Society*, **25**, 123-130.
- Minks, A.K. & Harrewijn, P. (1989) *World crop pests. Aphids. Their Biology, Natural Enemies and Control*. Elsevier Science, Amsterdam.

- Moiroux, J., Quentin, C., Fabien, S., Elise, V., Arnaud, A. & Aude, C. (2017) Plant virus infection influences bottom-up regulation of a plant-aphid-parasitoid system. *Journal of Pest Science*. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0911-7>
- .Muller, C.B., Volkl, W. & Godfray, H.C.J. (1997) Are behavioural changes in parasitised aphids a protection against hyperparasitism? *European Journal of Entomology*, **94**, 221-234.
- Muller, C.B., Williams, I.S. & Hardie, J. (2001) The role of nutrition, crowding and interspecific interactions in the development of winged aphids. *Ecological Entomology*, **26**, 330-340.
- Muratori, F., boivin, G. & Hance, T. (2008) The impact of patch encounter rate on patch residence time of female parasitoids increases with patch quality. *Ecological Entomology*, **33**, 422-427.
- Muratori, F., Lannic, J.L., Nenon, J.P. & Hance, T. (2004) Larval morphology and development of *Aphidius rhopalosiphi* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *Canadian Entomologist*, **136**, 169-180.
- Muratori, F., Le Ralec, A., Lognay, G. & Hance, T. (2006) Epicuticular factors involved in host recognition for the aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphi*. *Journal of Chemical Ecology*, **32**, 579-593.

- Muratori, F.B., Damiens, D., Hance, T. & Boivin, G. (2008) Bad housekeeping: why do aphids leave their exuviae inside the colony? *Bmc Evolutionary Biology*, **8**.
- Nault, L.R. & El-Desouky, A. (1989) *Leafhopper and planthopper transmission of plant viruses*.
- Nemec, V. & Stary, P. (1985) Population diversity in deuterotokous *Lysiphlebus* species, parasitoids of aphids (Hymenoptera, aphidiidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, **82**, 170-174.
- Ng, J.C.K. & Falk, B.W. (2006) Virus-vector interactions mediating nonpersistent and semipersistent transmission of plant viruses. *Annual Review of Phytopathology*, **44**, 183-212.
- Nicol, C.M.Y. & Mackauer, M. (1999) The scaling of body size and mass in a host parasitoid association: influence of host species and stage. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **90**, 83-92.
- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P. & Hens, L. (2016) Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. *Frontiers in public health*, **4**, 148-148.
- Nottingham, S.F. & Hardie, J. (1989) Migratory and targeted flight in seasonal forms of the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Physiological Entomology*, **14**, 451-458.
- Nuessly, G.S., Hentz, M.G., Beiriger, R. & Scully, B.T. (2004) Insects associated with faba bean, *Vicia faba* (Fabales :

- Fabaceae), in southern Florida. *Florida Entomologist*, **87**, 204-211.
- Ode, P.J. (2006) Plant chemistry and natural enemy fitness: Effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annual Review of Entomology*, **51**, 163-185.
- Olson, D.M., Fadamiro, H., Lundgren, J.G. & Heimpel, G.E. (2000) Effects of sugar feeding on carbohydrate and lipid metabolism in a parasitoid wasp. *Physiological Entomology*, **25**, 17-26.
- Onillon, J.C. (1982) L'aleurode des serres *Trialeurodes vaporariorum* Westw. et son contrôle biologique. *Def Veg*, **36**, 59-63.
- Outreman, Y., Le Ralec, A., Wajnberg, E. & Pierre, J.S. (2005) Effects of within- and among-patch experiences on the patch-leaving decision rules in an insect parasitoid. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **58**, 208-217.
- Palacios, I., Drucker, M., Blanc, S., Leite, S., Moreno, A. & Fereres, A. (2002) Cauliflower mosaic virus is preferentially acquired from the phloem by its aphid vectors. *Journal of General Virology*, **83**, 3163-3171.
- Park, J., Kim, S., Choi, E., Auh, C.K., Park, J.B., Kim, D.G., Chung, Y.J., Lee, T.K. & Lee, S. (2013) Altered invertase activities of symptomatic tissues on Beet severe curly top virus (BSCTV) infected *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Research*, **126**, 743-752.
- Perring, T.M., Gruenhagen, N.M. & Farrar, C.A. (1999) Management of plant viral diseases through chemical

- control of insect vectors. *Annual Review of Entomology*, **44**, 457-481.
- Petermann, J., B Müller, C., Roscher, C., Weigelt, A., W Weisser, W. & Schmid, B. (2010) Plant Species Loss Affects Life-History Traits of Aphids and Their Parasitoids. *Plos One*, **5**, 1-9.
- Pettitt, F.L., Turlings, T.C.J. & Wolf, S.P. (1992) Adult experience modifies attraction of the leafminer parasitoid *Opius dissitus* (Hymenoptera: Braconidae) to volatile semiochemicals. *Journal of Insect Behavior*, **5**, 623-634.
- Pierre, J.-S., Masson, J.-P. & Wajnberg, E. (2012) Patch leaving rules: A stochastic version of a well-known deterministic motivational model. *Journal of Theoretical Biology*, **313**, 1-11.
- Pike, K.S., Stary, P., Miller, T., Graf, G., Allison, D., Boydston, L. & Miller, R. (2000) Aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) of Northwest USA. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, **102**, 688-740.
- Powell, G. & Hardie, J. (2001) A potent, morph-specific parturition stimulant in the overwintering host plant of the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Physiological Entomology*, **26**, 194-201.
- Powell, W., Pennacchio, F., Poppy, G.M. & Tremblay, E. (1998) Strategies involved in the location of hosts by the parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera :

Braconidae : Aphidiinae). *Biological Control*, **11**, 104-112.

Powell, W. & Zhang, Z.L. (1983) The reactions of 2 cereal aphid parasitoids, *Aphidius uzbekistanicus* and *Aphidius ervi* to host aphids and their food plants. *Physiological Entomology*, **8**, 439-443.

R Core Team (2013) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

Rabasse, J.M. & Robert, Y. (1975) Facteurs de limitation des populations d'*Aphis fabae* dans l'ouest de la France. II. Incidence des Mycoses *Entomophthora* sur les populations des hôtes primaires de la féverole de printemps. *Entomophaga*, **18**, 61-75.

Rabasse, J.-M. & van Steenis, M.J. (1999) Biological control of aphids. *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops* (eds E. Albajes, M. Lodovica-Gullino, J.C. van Lenteren & Y. Elad), pp. 235–243. Kluwer, Dordrecht, The Netherlands.

Radcliffe, E.B. & Ragsdale, D.W. (2002) *Aphid-transmitted potato viruses: The importance of understanding vector biology*.

Rasekh, A., Michaud, J.P., Allahyari, H. & Sabahi, Q. (2010a) The Foraging Behavior of *Lysiphlebus fabarum* (Marshall), a Thelytokous Parasitoid of the Black Bean Aphid in Iran. *Journal of Insect Behavior*, **23**, 165-179.

- Rasekh, A., Michaud, J.P., Kharazi-Pakdel, A. & Allahyari, H. (2010b) Ant mimicry by an aphid parasitoid, *Lysiphlebus fabarum*. *Journal of Insect Science*, **10**.
- Ren, G.-w., Wang, X.-f., Chen, D., Wang, X.-w., Fan, X.-j. & Liu, X.-d. (2015) Potato virus Y-infected tobacco affects the growth, reproduction, and feeding behavior of a vector aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Applied Entomology and Zoology*, **50**, 239-243.
- Regnault – Roger, C., Fabre, G. & Philogène, J. R. (2005) Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. *Lavoisier*, Paris.
- Riens, B., Lohaus, G., Heineke, D. & Heldt, H.W. (1991) Amino acid and sucrose content determined in the cytosolic, chloroplastic, and vacuolar compartments and in the phloem sap of spinach leaves. *Plant Physiology*, **97**, 227-233.
- Roitberg, B.D., Myers, J.H. & Frazer, B.D. (1979) Influence of predators on the movement of apterous pea aphids between plants. *Journal of Animal Ecology*, **48**, 111-122.
- Roosien, B.K., Gomulkiewicz, R., Ingwell, L.L., Bosque-Pérez, N.A., Rajabaskar, D. & Eigenbrode, S.D. (2013) Conditional Vector Preference Aids the Spread of Plant Pathogens: Results from a Model. *Environmental Entomology*, **42**, 1299-1308.
- Roseboom, P.H.M. & Peters, D. (1984) Detection of beet yellows virus in sugar beet plants by enzyme linked immunosorbent-assay (ELISA). *Netherlands Journal of Plant Pathology*, **90**, 133-141.

- Rosenheim, J.A. & Mangel, M. (1994) Patch leaving rules for parasitoids with imperfect host discrimination. *Ecological Entomology*, **19**, 374-380.
- Rouchaud, J., Gustin, F. & Wauters, A. (1994) Soil biodegradation and leaf transfer of insecticide imidacloprid applied in seed dressing in sugar beet crops. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **53**, 344-350.
- Russell, G.E. (1958) Sugar beet yellows: a preliminary study of the distribution and interrelationships of viruses and virus strains found in East Anglia, 1955-57. *Annals of Applied Biology*, **46**, 393-398.
- Russell, G.E. (1965) Host range of some English isolates of beet yellowing viruses. *Annals of Applied Biology*, **55**, 245-&.
- Sabri, A., Hance, T., Leroy, P.D., Frere, I., Haubruge, E., Destain, J., Compere, P. & Thonart, P. (2011) Placenta-like structure of the aphid endoparasitic wasp *Aphidius ervi*: a strategy of optimal resources acquisition Placenta-like structure of the aphid endoparasitic wasp *Aphidius ervi*: a strategy of optimal resources acquisition. *Plos One*, **6**.
- Sandrock, C., Razmjou, J. & Vorburger, C. (2011) Climate effects on life cycle variation and population genetic architecture of the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Molecular Ecology*, **20**, 4165-4181.
- Sauge, M.-H., Poëssel, J.-L., Guillemaud, T. & Lapchin, L. (2011) Resistance induction and herbivore virulence in the interaction between *Myzus persicae* (Sulzer) and a

- major aphid resistance gene (Rm2) from peach. *Arthropod - Plant Interactions*, **5**, 369-377
- Sekhar, P.S. (1960a) Host relationships of *Aphidius testaceipes* (Cresson) and *Praon aguti* (Smith), primary parasites of aphids. *Canadian Journal of Zoology*, **38**, 593-603.
- Sekhar, P.S. (1960b) Host relationships of *Aphidius testaceipes* (Cresson) and *Praon aguti* (Smith), primary parasites of aphids. *Canadian Journal of Zoology*, **38**, 593-603.
- Selman, I.W., Hill, T.A., Pegg, G.F. & Brierley, M.R. (1961) Changes in free amino acids and amides in tomato plants inoculated with tomato spotted wilt virus. *Annals of Applied Biology*, **49**, 601-615.
- Shaw, M.J.P. (1970) Effects of population density on aliencolae of *Aphis fabae* Scop. I. Effect of crowding on production of alatae in laboratory. *Annals of Applied Biology*, **65**, 191-202.
- Shaw, M.J.P. (1973) Effects of population density on aliencolae of *Aphis fabae* Scop. IV. The expression of migratory urge among alatae in the field. *Annals of Applied Biology*, **74**, 1-7.
- Sigsgaard, L. (2000) The temperature-dependent duration of development and parasitism of three cereal aphid parasitoids, *Aphidius ervi*, *A. rhopalosiphi*, and *Praon volucre*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **95**, 173-184.
- Silva, R.J., Bueno, V.H.P. & Sampaio, M.V. (2008) Quality of different aphids as hosts of the parasitoid *Lysiphlebus*

- lestaceipes* (Cresson) (Hymenoptera : Braconidae, Aphidiinae). *Neotropical Entomology*, **37**, 173-179.
- Simpson, K.L.S., Jackson, G.E. & Grace, J. (2012) The response of aphids to plant water stress - the case of *Myzus persicae* and *Brassica oleracea* var. *capitata*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **142**, 191-202.
- Sirot, E. & Bernstein, C. (1997) Food searching and superparasitism in solitary parasitoids. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*, **18**, 63-72.
- Sloggett, J.J. & Weisser, W.W. (2002) Parasitoids induce production of the dispersal morph of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Oikos*, **98**, 323-333.
- Smith, G.A. (1987) Sugar beet. *Principles of Cultivar Development* (ed. W.R. Fehr). MacMillan Publishing Company, New York.
- Smith, H.G. & Hallsworth, P.B. (1990) The effects of yellowing viruses on yield of sugar beet in field trials, 1985 and 1987. *Annals of Applied Biology*, **116**, 503-511.
- Smith, H.G. & Hinckes, J.A. (1985) Studies on beet western yellows virus in oilseed rape (*Brassica napus* ssp *oleifera*) and sugar beet (*Beta vulgaris*). *Annals of Applied Biology*, **107**, 473-484.
- Smith, H.G., Stevens, M. & Hallsworth, P.B. (1991) The use of monoclonal-antibodies to detect beet mild yellowing virus and beet western yellows virus in aphids. *Annals of Applied Biology*, **119**, 295-302.

- Smith, H.S. (1919) On some phases of insect control by the biological method. *Journal of Economic Entomology*, **12**, 288-292.
- Snyder, W.E. & Ives, A.R. (2008) Behavior influences whether intra-guild predation disrupts herbivore suppression by parasitoids. *Behavioural Ecology of Insect Parasitoids: From theoretical approaches to field applications* (eds E. Wajnberg, C. Bernstein & J.J. Van Alphen), pp. 71–91. Blackwell Pub, Malden, MA, USA
- Soglia, N.C.M., Bueno, V.H.P., Sampaio, M.V., Rodrigues, S.M.M. & Ledo, C.A.S. (2006) Development and parasitism of *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) and *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera : Braconidae) on *Aphis gossypii* Glover (Homoptera : Aphididae) on two *Chrysanthemum* cultivars. *Neotropical Entomology*, **35**, 364-370.
- Srinivasan, R., Alvarez, J.M., Bosque-Perez, N.A., Eigenbrode, S.D. & Novy, R.G. (2008) Effect of an alternate weed host, hairy nightshade, *Solanum sarrachoides*, on the biology of the two most important Potato leafroll virus (Luteoviridae : Polerovirus) vectors, *Myzus persicae* and *Macrosiphum euphorbiae* (Aphididae : Homoptera). *Environmental Entomology*, **37**, 592-600.
- Srivastava, P.N. (1987) Nutritional physiology. *Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control* (eds A.K. Minks & P. Harrewijn), pp. 99-121. Elsevier, New York.

- Sary, P. (1986) Specificity of parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae) to the black bean aphid *Aphis fabae* complex in agrosystems. *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, **83**, 24-29.
- Sary, P. & Havelka, J. (2008) Fauna and associations of aphid parasitoids in an up-dated farmland area (Czech Republic). *Bulletin of Insectology*, **61**, 251-276.
- Sary, P., Rakhshani, E., Tomanovic, Z., Kavallieratos, N.G., Petrovic, A., Zikic, V. & Havelka, J. (2014) Aphid-parasitoid Associations on the Impatiens Plants in Central Europe (Hemiptera, Aphididae; Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae). *Journal of the Entomological Research Society*, **16**, 33-43.
- Starý, P. (1970) *Biology of aphid parasites (Hymenoptera: Aphidiidae) with respect to integrated control*. Series Entomologicae. Dr.W. Junk Publishers. The Hague.
- Starý, P. (1988) Aphidiidae. *Aphids. Their Biology, Natural Enemies and Control. World Crop Pests* (eds A.K. Minks & P. Harrewijn), pp. 171-184. Elsevier, Amsterdam.
- Stevens, M., Hull, R. & Smith, H.G. (1997) Comparison of ELISA and RT-PCR for the detection of beet yellows closterovirus in plants and aphids. *Journal of Virological Methods*, **68**, 9-16.
- Stevens, M., McGrann, G. & Clark, B. (2008) Turnip yellows virus (syn Beet western yellows virus): an emerging threat to European oilseed rape production? *Research Review*, **96**, HGCA.

- Stilmant, D., van Bellinghen, C., Hance, T. & Boivin, G. (2008) Host specialization in habitat specialists and generalists. *Oecologia*, **156**, 905-912.
- Strickler, K. (1979) Specialization and Foraging Efficiency of Solitary Bees. *Ecology*, **60**, 998–1009.
- Summers, E.G., Newton Jr, A.S., Kirk, M. & Temple, S.R. (1990) Transmission of Beet Yellows and Beet Mosaic Viruses by Noncolonizing Aphid Vectors. *Journal of Economic Entomology*, **83**, 2448-2451.
- Tahriri, S., Talebi, A.A., Fathipour, Y. & Zamani, A.A. (2007) Host stage preference, functional response and mutual interference of *Aphidius matricariae* (Hym.: Braconidae : Aphidiinae) on *Aphis fabae* (Hom.: Aphididae). *Entomological Science*, **10**, 323-331.
- Tauzin, A.S. & Giardina, T. (2014) Sucrose and invertases, a part of the plant defense response to the biotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, **5**.
- Tentelier, C., Lacroix, M.-N. & Fauvergue, X. (2009) Inflexible wasps: the aphid parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* does not track multiple changes in habitat profitability. *Animal Behaviour*, **77**, 59-100.
- Thacker, J.I., Thieme, T. & Dixon, A.F.G. (1997) Forecasting of periodic fluctuations in annual abundance of the bean aphid: The role of density dependence and weather.

Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie, **121**, 137-145.

Thiel, A. & Hoffmeister, T.S. (2006a) Selective information use in parasitoid wasps. *Animal Biology*, **56**, 233-245.

Thiel, A. & Hoffmeister, T.S. (2006b) Selective information use in parasitoid wasps. *Animal Biology*, **56**, 233-245.

Thies, C., Roschewitz, I. & Tscharnkte, T. (2005) The landscape context of cereal aphid-parasitoid interactions. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **272**, 203-210.

Tilman, D., Cassman, K.G., Matson, P.A., Naylor, R. & Polasky, S. (2002) Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* **418** 671-677.

Tits, M. & Laanen, A. (2005) Identification des principaux pucerons de la betterave. In Belgique - Pays Bas: asbl IRBAB, Institut Royal Belge pour l'Amélioration de la Betterave en association avec l'IRS. - *Le Betteravier*, 1-2

Tits, M. & Misonne, J. F. (2002) Betterave sucrière et environnement. - *Le Betteravier* 1-5, pages techniques, La sucrerie Belge.

Tollrian, R. & Harvell, C.D. (1999a) The evolution of inducible defenses: current ideas. *The ecology and evolution of inducible defenses* (eds R. Tollrian & C.D. Harvell), pp. 06-321. Princeton University Press, Princeton New Jersey, USA.

- Tollrian, R. & Harvell, D.D. (1999b) *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, USA.
- Tompkins, J.M.L., Wratten, S.D. & Waeckers, F.L. (2010) Nectar to improve parasitoid fitness in biological control: Does the sucrose:hexose ratio matter? *Basic and Applied Ecology*, **11**, 264-271.
- Tregubenko, E.S. (1980) On the ethology of aphids and aphidophagous insects. *Zashchita Rastenii*, **4**, 38-39.
- Tremblay, E. 1980. Composizione dell'entomofauna parassitica vivente a carico degli Afidi degli Agrumi in Italia (Hymenoptera Ichneumonoidea, Homoptera Aphidoidea). Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silvestri, Portici, **37**, 209–216.
- Turlings, T.C.J., Tumlinson, J.H. & Lewis, W.J. (1990) Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science*, **250**, 1251-1253.
- Turpeau, E., Hulle, M. & Chaubet, B. (2013) Encyclop'Aphid. INRA
- van Alphen, J.J.M., Bernstein, C. & Driessen, G. (2003) Information acquisition and time allocation in insect parasitoids. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 81-87.
- van Alphen, J.J.M. & Vet, L.E.M. (1986) An evolutionary approach to host finding and selection. *Insect Parasitoids* (eds J. Waage & D. Greathead), pp. 23–61. Academic Press, New York.

- van der Werf, W. (1988) Yellowing Viruses in Sugar Beet; Epidemiology and Damage. Wageningen Agricultural University.
- Van Driesche, R.G. & Bellows, T.S. (1996) *Biological Control*. Chapman and Hall, New York.
- van Emden, H.F., Storeck, A.P., Douloupaka, S., Eleftherianos, I., Poppy, G.M. & Powell, W. (2008) Plant chemistry and aphid parasitoids (Hymenoptera : Braconidae): Imprinting and memory. *European Journal of Entomology*, **105**, 477-483.
- Van handel, E. (1985) Rapid determination of total lipids in mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, **1**, 302-304.
- Van Lenteren, J.C. & Bueno, V.H.P. (2003) Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *Biocontrol*, **48**, 123-139.
- van Lenteren, J.C., Roskam, M.M. & Timmer, R. (1997) Commercial mass production and pricing of organisms for biological control of pests in Europe. *Biological Control*, **10**, 143-149.
- van Lenteren, J.C. & Tommasini, M.G. (2003) Mass production, storage, shipment and release of natural enemies. *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures* (ed. J.C. van Lenteren), pp. 181-189. CABI Publishing, Wallingford, UK.

- van Lenteren, J.C. & Woets, J. (1988) Biological and integrated pest control in greenhouses. *Annual Review of Entomology*, **33**, 239-269.
- van Steenis, M.J., ElKhawass, K., Hemerik, L. & vanLenteren, J.C. (1996) Time allocation of the parasitoid *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiidae) foraging for *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphidae) on cucumber leaves. *Journal of Insect Behavior*, **9**, 283-295.
- Vet, L.E.M. & Dicke, M. (1992) Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. *Annual Review of Entomology*, **37**, 141-172.
- Vinson, S.B. (1976) Host selection by insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, **21**, 109-133.
- Vinson, S.B. (1984) Parasitoid-host relationships. *The Chemical Ecology of Insects* (eds W.J. Bell & R. Carde), pp. 205-233. Chapman and Hall, New York, 524.
- Vinson, S.B. (1998) The general host selection behavior of parasitoid hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. *Biological Control*, **11**, 79-96.
- Visser, J.H., Piron, P.G.M. & Hardie, J. (1996) The aphids' peripheral perception of plant volatiles. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **80**, 35-38.
- Volkl, W. (1992) Aphids or their parasitoids - who actually benefits from ant-attendance. *Journal of Animal Ecology*, **61**, 273-281.

- Volkl, W. & Mackauer, M. (2000) Oviposition behaviour of aphidiine wasps (Hymenoptera : Braconidae, Aphidiinae): Morphological adaptations and evolutionary trends. *Canadian Entomologist*, **132**, 197-212.
- Volkl, W. & Stechmann, D.H. (1998) Parasitism of the black bean aphid (*Aphis fabae*) by *Lysiphlebus fabarum* (Hym., Aphidiidae): the influence of host plant and habitat. *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie*, **122**, 201-206.
- Waage, J.K. (1979) Foraging for patchily distributed hosts by the parasitoid, *Nemeritis canescens*. *Journal of Animal Ecology*, **48**, 353-371.
- Wackers, F.L. (2004) Assessing the suitability of flowering herbs as parasitoid food sources: flower attractiveness and nectar accessibility. *Biological Control*, **29**, 307-314.
- Wajnberg, E. (2012) Multi-objective behavioural mechanisms are adopted by foraging animals to achieve several optimality goals simultaneously. *Journal of Animal Ecology*, **81**, 503-511.
- Wajnberg, E., Fauvergue, X. & Pons, O. (2000) Patch leaving decision rules and the Marginal Value Theorem: an experimental analysis and a simulation model. *Behavioral Ecology*, **11**, 577-586.
- Wang, X.G. & Keller, M.A. (2004) Patch time allocation by the parasitoid *Diadegma semiclausum* (Hymenoptera : Ichneumonidae). III. Effects of kairomone sources and

- previous parasitism. *Journal of Insect Behavior*, **17**, 761-776.
- Waterhouse, D.F. (1998) *Biological Control of Insect Pests: Southeast Asian Prospects*. ACIAR Monograph. No. 51. Brown Prior Anderson, Melbourne.
- Watson, M.A. & Watson, D.J. (1951) The effect of infection with beet yellows and beet mosaic viruses on the carbohydrate content of sugar beet leaves, and on translocation. *Annals of Applied Biology*, **38**, 276-&.
- Way, M.J. & Banks, C.J. (1968) Population studies on the active stages of the black bean aphid, *Aphis fabae* Scop., on its winter host *Euonymus europaeus* L. *Annual of applied Biology*, **62**.
- Way, M.J. & van Emden, H.F. (2000) Integrated pest management in practice - pathways towards successful application. *Crop Protection*, **19**, 81-103.
- Weber, C.A., Godfrey, L.D. & Mauk, P.A. (1996) Effects of parasitism by *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphididae) on transmission of beet yellows closterovirus by bean aphid (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, **89**, 1431-1437.
- Weisser, W.W., Jansen, V.A.A. & Hassell, M.P. (1997) The effects of a pool of dispersers on host-parasitoid systems. *Journal of Theoretical Biology*, **189**, 413-425.
- Wellings, P.W., Hart, P.J., Kami, V. & Morneau, D.C. (1994) The introduction and establishment of *Aphidius colemani*

- Viereck (Hym, aphidiinae) in Tonga. *Journal of Applied Entomology*, **118**, 419-428.
- Wellings, P.W., Ward, S.A., Dixon, A.F.G. & Rabbinge, R. (1989) Crop loss assessment. *Aphids, their biology, natural enemies and control* (eds A.K. Minks & P. Harrewijn), pp. 49–69. Elsevier Sci. Publ. BV, Amsterdam.
- Williams, C.M., Thomas, R.H., MacMillan, H.A., Marshall, K.E. & Sinclair, B.J. (2011) Triacylglyceride measurement in small quantities of homogenised insect tissue: Comparisons and caveats. *Journal of Insect Physiology*, **57**, 1602-1613.
- Williams, I.S. (1999) Slow growth, high mortality - a general hypothesis, or is it? *Ecological Entomology*, **24**, 490-495.
- Williams, I.S., Dewar, A.M., Dixon, A.F.G. & Thornhill, W.A. (2000) Alate production by aphids on sugar beet: how likely is the evolution of sugar beet-specific biotypes? *Journal of Applied Ecology*, **37**, 40-51.
- Winter, T.R. & Rostás, M. (2010) Nitrogen Deficiency Affects Bottom-Up Cascade Without Disrupting Indirect Plant Defense. *Journal of Chemical Ecology*, **36**, 642-651.
- Wu, G.M., Barrette, M., Boivin, G., Brodeur, J., Giraldeau, L.A. & Hance, T. (2011) Temperature Influences the Handling Efficiency of an Aphid Parasitoid Through Body Size-Mediated Effects. *Environmental Entomology*, **40**, 737-742.

- Wu, Y., Davis, T.S. & Eigenbrode, S.D. (2014) Aphid behavioral responses to virus-infected plants are similar despite divergent fitness effects. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, **153**, 246-255.
- Xue, Y., Bahlai, C.A., Frewin, A., McCreary, C.M., Des Marteaux, L.E., Schaafsma, A.W. & Hallett, R.H. (2012) Intraguild predation of the aphid parasitoid *Aphelinus certus* by *Coccinella septempunctata* and *Harmonia axyridis*. *Biocontrol*, **57**, 627-634.
- Zaitlin, M. & Hull, R. (1987) Plant Virus-Host Interactions. *Annual Review of Plant Physiology*, **38**, 291-315.
- Zaviezo, T. & Mills, N. (1999) Aspects of the biology of *Hyssopus pallidus* (Hymenoptera : Eulophidae), a parasitoid of the codling moth (Lepidoptera : Olethreutidae). *Environmental Entomology*, **28**, 748-754.