UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN



Faculté des bioingénieurs

Earth and Life Institute

Écologie chimique et perspective de gestion intégrée dans le pathosystème Bananier (*Musa* Spp) - *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (*Hemiptera* : *Aphididae*) - *Banana bunchy top virus* (BBTV)

Ignace MURHUBUBA SAFARI

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

Louvain-la-Neuve, Mars 2023

Composition du Jury

Pr. Fréderic GASPART, UCLouvain (Belgique), Président

Pr. Anne LEGREVE, UCLouvain (Belgique), Secrétaire

Pr. Marie-Laure FAUCONNIER, ULg/Gembloux AgroBio Tech (Belgique), Examinatrice

Pr. Espoir BISIMWA BASENGERE, UCB (RD Congo), Examinateur

Pr. Lyna MUKWA FAMA TONGO, UPN (RD Congo), Examinatrice

Pr. Thiery HANCE, UCLouvain (Belgique), Promoteur

Pr. Claude BRAGARD, UCLouvain (Belgique), Promoteur

Dédicace

A mon regretté père MURHUBUBA BANDEKE Fabien ;

A ma chère mère BUSHAMUKA Anne ;

A mes frères et sœurs, beaux-frères et belles-sœurs ;

A toute ma famille et tous mes amis ;

A l'amour de ma vie.

Remerciements

Après ce parcours doctoral de quatre ans, je rends grâce à Dieu éternel qui m'a donné la force de transcender tous les moments d'épreuve et de dur labeur. L'aboutissement de ce travail est sans aucun doute l'œuvre de nombreux bâtisseurs qui méritent ma gratitude.

En premier, mes deux Directeurs de thèse, Professeurs Thierry HANCE et Claude BRAGARD pour m'avoir fait confiance et soutenir ce projet. Cette aventure m'a été très enrichissante et c'est en grande partie dû à la qualité de votre encadrement et à votre disponibilité. Je tiens à vous remercier vivement pour vos orientations scientifiques et votre soutien tout au long de ces années, qui m'ont permis de m'épanouir scientifiquement et personnellement.

Mes remerciements s'adressent également à la professeure Marie-Laure FAUCONNIER, qui a accepté de nous rejoindre dans ce processus de thèse et qui m'a accueilli dans son laboratoire à Gembloux Agro-Bio Tech/ Université de Liège pour les analyses chromatographiques ; ainsi qu'aux professeurs Jean WALANGULULU MASAMBA et Espoir BISIMWA BASENGERE pour leur encadrement sur terrain. Leurs conseils riches et constructifs, leurs rigueurs scientifiques m'ont été d'une très grande utilité, et cela depuis mon cycle d'ingénieur à l'Université Catholique de Bukavu (UCB) jusqu'à ce jour.

Je remercie les autorités, et tous les enseignants de l'Université Catholique de Bukavu (UCB), ainsi que ceux de l'Institut Supérieur d'Etudes Agronomiques et Vétérinaire de Walungu (ISEAV/Walungu) pour leurs soutiens.

Je n'oublie pas de remercier Franck MICHELS (Gembloux Agro-Bio Tech) et Matthieu LECLERCQ (UCLouvain) pour m'avoir initié aux analyses chromatographiques. Je remercie également les autorités de l'Institut International d'Agriculture Tropicale-IITA/Kalambo (Bukavu, République Démocratique du Congo) pour leur soutien dans la collecte des échantillons de bananiers sur terrain, ainsi que la Directrice de la Clinique des Plantes de Kinshasa (CPK), Professeure Lyna MUKWA FAMA TONGO, pour son soutien et ses conseils depuis ma formation de master à l'UCLouvain. Je n'oublie pas les ingénieurs Jonas CITO CAGANE et Benjamin MURHUBUBA BANDEKE pour leur assistance dans la collecte des plants de bananiers en République Démocratique du Congo.

Je tiens à remercier également Marc MIGON, responsable de la serre tropicale de l'Université catholique de Louvain (UCLouvain), Linda DHONDT responsable du laboratoire de Biomol, pour son assistance dans les analyses moléculaires, ainsi que tous mes collègues membres de l'équipe « Écologie des interactions et lutte biologique » de UCLouvain durant ma thèse. Merci pour votre énergie, pour votre enthousiasme, pour m'avoir tendu l'oreille attentive, pour avoir participé de près ou de loin à mon projet, pour avoir répondu à mes questionnements. Merci donc à Louise, Sébastien, Guillaume, Maurielle, Mey, Christophe, Pauline, Inès, Florence, Loulou, Benoit, Corentin, Alisa, Jean-Claude, Michel, Brigitte, Dominique.

Un merci particulier aux Docteurs Kèvin TOUGERON et François RENOZ pour leurs conseils et collaborations dans la recherche.

A vous membres du jury, j'adresse toute ma reconnaissance. Malgré vos multiples occupations, vous avez bien accepté d'évaluer la qualité de mon travail. Je vous remercie pour votre disponibilité.

Je remercie mon regretté père Fabien MURHUBUBA BANDEKE qui nous a été arraché très tôt, ainsi que toute ma famille MURHUBUBA : ma mère Anne BUSHAMUKA, Pascal, Jean-Claude, Daniel & Edith, Dr Faustin & Innocente, Bijou & Jean-Marc, Nicole & Emmanuel, Serge, Nadine & Yves, Fabrice & Christiance, Fiston et Benjamin : merci pour l'amour que vous portez à mon endroit, pour vos encouragements, vos prières et tous vos sacrifices !

Que tous ceux que je n'ai pas cités et qui m'ont apporté leurs aides ne me tiennent pas rigueur. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

MURHUBUBA SAFARI Ignace

Cette thèse a été financée par le Conseil d'Action Internationale (CAI) de l'UCLouvain, et l'Académie de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur (ARES-CCD) à qui, nous adressons toute notre reconnaissance.

Résumé

Les phytopathogènes transmis par les insectes, y compris les virus, dépendent de l'abondance et du comportement de leurs vecteurs pour leur propagation. Des processus de sélection ont influencé leurs vecteurs de telle sorte à améliorer la transmission des pathogènes, soit indirectement, par l'intermédiaire de la plante-hôte infectée, soit directement, après acquisition de l'agent pathogène par le vecteur. Le puceron du bananier, *Pentalonia nigronervosa* Coquerel, est le vecteur du *Banana bunchy top virus*-BBTV (*Nanoviridae*, Babuvirus), l'agent causal de la maladie du Banana Bunchy Top, actuellement reconnue comme l'affection virale la plus dévastatrice des bananiers au monde. Cependant, la relation hôte-parasite-vecteur appliquée à la transmission du BBTV aux bananiers reste encore loin d'être élucidée. L'objectif global de cette thèse est de clarifier les mécanismes de la reconnaissance des bananiers par *P. nigronervosa*, dans l'optique d'éviter la transmission du BBTV aux bananiers. Des études comportementales ont été menés afin d'évaluer la préférence de *P. nigronervosa* vis-à-vis des bananiers sains et infectés (Plantains et dessert). Parallèlement, les composés organiques volatils (COV) de ces bananiers ont été identifiés à l'aide d'un système dynamique d'extraction et leur analyse par chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse (CG-SM). Ensuite, les paramètres de traits d'histoire de vie et de la dynamique de la population de *P. nigronervosa*, ayant un effet sur la propagation du virus d'une plante à l'autre, ont été déterminés, afin de comprendre l'effet du BBTV sur la performance de

P. nigronervosa. Aussi, des tests comparatifs de choix entre les pucerons non-virulifères et virulifères, ainsi que des mesures morphométriques de leurs organes liés au vol (ailes) et à la détection des COV (antennes), ont été réalisés afin d'évaluer l'effet de l'acquisition du BBTV respectivement sur le comportement de sélection du bananier et la physiologie de *P. nigronervosa*. Par ailleurs, des tests PCR sur des échantillons de *P. nigronervosa* en provenance de l'est de la RD Congo et du Burundi, ainsi que des analyses FISH sur des pucerons élevés en laboratoire, ont été effectués afin de déterminer respectivement la prévalence de *Wolbachia* chez *P. nigronervosa* dans ces régions, ainsi que le tropisme tissulaire de *Wolbachia* chez *P. nigronervosa.*

Les résultats obtenus révèlent une plus forte attraction des pucerons non-virulifères vers les bananiers infectés (quel que soit le génotype), et vers le bananier plantain (quel que soit le statut infectieux). Les analyses GC-MS ont révélé que les bananiers infectés produisaient des bouquets de COV de même composition que les bananiers sains (indépendamment du génotype), mais en quantités beaucoup plus importantes. En outre, les COV produits par les bananiers dessert et plantains étaient de composition différente, et les bananiers plantains produisaient des quantités plus élevées que les bananiers dessert. Il a été ensuite constaté que la fécondité quotidienne de *P. nigronervosa* était plus élevée sur les bananiers infectés que sur les bananiers sains (plantain et dessert), et sur les bananiers plantains que sur les bananiers dessert (sains et infectées). La survie et la longévité des pucerons étaient plus faibles sur les bananiers dessert infectés que sur les autres types de

bananiers. La table de survie et de fécondité construite a révélé un taux de reproduction net (Ro) plus élevé sur les bananiers plantains (en particulier sur le plantain infecté), et un taux intrinsèque de croissance de la population (r) plus élevé sur les bananiers infectés que sur les bananiers sains. L'augmentation du nombre de pucerons et la production des alates ont été les plus rapides sur le plantain infecté, puis sur le plantain sain, et plus faibles sur les bananiers dessert (sains et infectés). De façon intéressante, la préférence de *P. nigronervosa* pour les bananiers infectés a été inversée par l'acquisition du BBTV. En outre, l'infection virale a entraîné une diminution de la longueur du tibia postérieur des pucerons sur les deux génotypes, indicatrice d'une diminution globale de taille. Les pucerons élevés sur les bananiers infectés avaient des surfaces d'ailes antérieures et des longueurs de tibias postérieurs plus petites que ceux élevés sur des bananiers sains, tandis que le nombre de rhinaries secondaires sur les antennes était plus faible sur les pucerons élevés sur les bananiers dessert que sur ceux élevés sur les bananiers plantains, indépendamment du statut d'infection. Dans les quatre traitements, il y avait une forte corrélation linéaire entre la taille du tibia postérieur et la surface des ailes, et une faible corrélation linéaire entre la taille du tibia postérieur et le nombre total des rhinaries secondaires. D'un autre côté, tous les pucerons collectés sur terrain contenaient *B. aphidicola*, mais tous ne contenaient pas *Wolbachia*. Pendant l'embryogenèse, *Wolbachia* envahit l'hémolymphe de manière disparate et n'est pas internalisée dans les bactériocytes qui hébergent *B. aphidicola*. Cette thèse ouvre des perspectives intéressantes pour le contrôle biologique de *P.*

nigronervosa, par exemple en attirant le puceron du bananier par la manipulation des signaux olfactifs.

Mots-clés : *Musa* spp., Puceron du bananier, Attractivité, Composé Organique Volatil, Traits d'histoire de vie, Acquisition du virus, Manipulation, *Wolbachia*, transmission du virus.

Abstract

Insect-transmitted plant pathogens, including viruses, depend on the abundance and behaviour of their vectors to enhance their spread. These pathogens have been selected to influence their vectors to improve their transmission, either indirectly, through the infected host plant, or directly, after acquisition of the pathogen by the vector. The banana aphid, *Pentalonia nigronervosa* Coquerel, is the vector of *Banana bunchy top virus* (*Nanoviridae*, Babuvirus), the causal agent of Banana Bunchy Top Disease (BBTD), currently known as the most devastating viral disease of banana plant in the world. However, the host-parasite-vector relationship applied to the transmission of BBTV to banana plants is still far from being elucidated. The overall objective of this thesis is to clarify the mechanisms of banana plant recognition by *P. nigronervosa*, with a view to avoiding transmission of BBTV to banana plants. Behavioural studies were conducted to assess the preference of *P. nigronervosa* towards healthy and infected banana plants (plantain and dessert). In parallel, volatile organic compounds (VOC) of these banana plants were identified using a dynamic extraction system and analysed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Next, the parameters of life history traits and population dynamics of *P. nigronervosa*, which affect the spread of the virus from one plant to another, were determined, with the aim to understand the effect of BBTV on the performance of *P. nigronervosa*. Finally, comparative choice tests between no-viruliferous and viruliferous aphids, as well as morphometric measurements of their flight (wings) and VOC-detection (antennae) organs, were carried out to assess the effect of BBTV

acquisition respectively on banana plant selection behaviour, and *P. nigronervosa* physiology. On the other hand, PCR analyses on *P. nigronervosa* samples from South Kivu (DR Congo) and Burundi, as well as FISH analyses on aphids reared in the laboratory, were carried out to determine respectively the prevalence of *Wolbachia* in *P. nigronervosa* in these regions, and the tissue tropism of *Wolbachia* in *P. nigronervosa*.

The results obtained showed that there was a stronger attraction of non-viruliferous aphids to infected banana plants (regardless of genotype), and to plantain (regardless of infection status). GC-MS analyses revealed that infected banana plants produced VOC bouquets of the same composition as healthy banana plants (irrespective of genotype), but in much higher quantities. In addition, the VOC produced by dessert and plantain banana plants were of different composition, and plantain bananas produced higher amounts than dessert banana plants. We then found that the daily fecundity of aphids was higher on infected banana than on healthy banana plants (plantain and dessert), and on plantains than on dessert banana plants (healthy and infected). Aphid survival and longevity were lower on infected dessert banana than on other types of banana plats. The constructed survival and fecundity table revealed a higher net reproductive rate (Ro) on plantain bananas (especially on infected plantains), and a higher intrinsic population growth rate (r) on infected banana than on healthy banana plants. The increase in the aphid population and alate production was fastest on infected plantain, then on healthy plantain, and lowest on dessert banana plants (plantain and dessert). Interestingly, the preference of *P. nigronervosa* for infected

banana plants was reversed by the acquisition of BBTV. In addition, the virus infection resulted in a decrease in the length of the aphid hind tibia on both genotypes indicating a global diminution in size. Aphids reared on infected bananas had smaller forewing surfaces and hind tibia lengths than those reared on healthy banana plants, while the number of secondary rhinaria on the antennae was lower on aphids from dessert bananas than on those from plantain banana plants, irrespective of infection status. On the other hand, all aphids collected in the field contained *B. aphidicola*, but not all *Wolbachia*. Furthermore, during embryogenesis, *Wolbachia* invades the haemolymph in a patchy manner and is not internalised in the bacteriocytes harbouring *B. aphidicola*. This thesis opens interesting perspectives for the biological control of *P. nigronervosa*, for example by attracting the banana aphid through the manipulation of olfactory signals.

Keywords: *Musa* spp., banana aphids, Attractiveness, Volatile organic compounds, Life history traits, Virus acquisition, Manipulation, *Wolbachia*, Virus transmission.

Table des matières

Dédicace iii

Remerciements v

Résumé ix

Abstract xiii

Table des matières xviii

Abréviations xxi

Cadre institutionnel de la recherche 25

Contexte 27

Partie I : ETAT DE L'ART 39

Chapitre 1. Le bananier (*Musa* spp.) 41

1.1. Origine et diffusion du bananier 41

1.2. Description et Taxonomie 42

1.5. Ecologie et culture du bananier 47

1.6. Maladies et ravageurs du bananier 51

Chapitre 2. Maladie du Bunchy Top du Bananier 59

2.1. Interaction plante-virus-vecteur 59

2. 2. Le « Bunchy top du Bananier » 68

Chapitre 3. Agent vecteur du BBTV : *Pentalonia nigronervosa* Coquerel 79

3.1. Aperçu général sur les pucerons 79

3.2. Modèle biologique : *Pentalonia nigronervosa* Coquerel 83

Chapitre 4. Écologie chimique des relations plantes - insectes (cas des pucerons) 95

4.1. Introduction 95

4.2. Localisation et choix de la plante hôte par le puceron 96
4.3. Rôle des COV dans la localisation et l'acceptation de la plante hôte 97
4.4. Structure et spécificité du système olfactif des pucerons 98
4.5. Nature et diversité des composés volatils dans les végétaux 101
4.6. Rôle des COV sur le comportement alimentaire du puceron 104
4.7. L'écologie chimique un moyen de lutte contre les ravageurs 108
PARTIE II : RÉSULTATS 115
Chapitre 5. Évaluation de l'effet du BBTV sur l'attractivité de *Pentalonia nigronervosa* Coquerel, ainsi que sur l'émission des composés organiques volatils (COV) impliqués dans cette attractivité. 117
Préambule.....117
Article n°1: Banana Plant Infected with *Banana Bunchy Top Virus* Attracts *Pentalonia nigronervosa* Aphids Through Increased Volatile Organic Compounds Emission 119
Abstract 119
Introduction.....121
Material and Methods 125
Results.....134
Discussion 143
Conclusion 149
Chapitre 6. Évaluation de l'effet du *Banana bunchy top virus* (BBTV) sur la performance et la croissance démographique de *Pentalonia nigronervosa* Coquerel 155
Préambule.....155
Article n°2: The aphid *Pentalonia nigronervosa* takes advantage from the quality change in banana plant associated with *Banana bunchy top virus* infection 157
Abstract 158

Introduction 159
Material and methods 164
Results 171
Discussion 177
Conclusion 183
Chapitre 7. Évaluation de l'effet de l'acquisition du *Banana bunchy top virus* (BBTV) sur le comportement de *Pentalonia nigronervosa* Coquerel 185
Préambule 185
Article n°3: Preference of *Pentalonia nigronervosa* for infected banana plants tends to reverse after *Banana buchy top virus* acquisition. 187
Abstract 187
Introduction 188
Materials and methods 192
Results 197
Discussion 204
Conclusion 209
Chapitre 8. Détermination de la prévalence de la bactérie *Wolbachia* en conditions naturelles et de son développement au sein du puceron *P. nigronervosa* 211
Préambule 211
Article n°4: Prevalence and localization of *Wolbachia* in the banana aphid *Pentalonia nigronervosa* in east Democratic Republic of Congo and Burundi. 213
Abstract 213
Introduction 214
Methods 216
Preliminary results 219
Discussion 223
Conclusion 224

PARTIE III : DISCUSSION GÉNÉRALE, CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....225

Chapitre 9. Discussion Générale.....227

9.1. Principaux résultats.....228

9.2. Manipulation indirecte du *P. nigronervosa* par BBTV via la modification du bananier 232

9.3. Manipulation directe du *P. nigronervosa* par BBTV.....235

9.4. Dynamique des effets du BBTV et des réponses de *P. nigronervosa* 237

9.5. Interaction entre infection du BBTV et Génotype des bananiers 240

9.6. Perspectives pour l'utilisation des COV contre *P. nigronervosa* 244

Chapitre 10. Conclusion et perspectives 251

10.1. Identification des COV individuels ou des mélanges spécifiques influençant le comportement de *P. nigronervosa* ..253

10.2. Effets du BBTV sur les parasitoïdes de *P. nigronervosa* 256

10.3. Lutte contre *Banana bunchy top virus* et *Pentalonia nigronervosa* 257

PARTIE IV : RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....261

Abréviations

% : Pourcent

°C : Degré Celsius

A : Génome de l'espèce *Musa acuminata*

AA : Bananiers diploïdes à deux allèles *Musa acuminata*

AAA : Bananiers triploïdes à trois allèles *Musa acuminata*

AAB : Bananiers triploïdes à deux allèles *Musa acuminata* et un allèle *Musa*

AB : Bananiers diploïdes, hybrides interspécifiques à allèles *Musa acuminata et Musa balbisiana*

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARES-CCD : Académie de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur - la commission de la coopération au développement

ARN : Acide ribonucléique

B : Génome de l'espèce *Musa balbisiana*

BanMMV : *Banana Mild Mosaic virus*

BB : Bananiers diploïdes à deux allèles *Musa balbisiana*

BBrMV : *Banana bract mosaic virus*

BBTD : Banana bunchy top disease

BBTV : *Banana Bunchy top virus*

Bp : Paire de base

BSV : *Banana Streak Virus*

BVX : *Banana virus* X

BYDV : *Barley Yellow Darf Virus*

CABI : Centre for Agricultural Bioscience International

CIA : Conseil d'Action Internationale

CMV : *Cucumber Mosaic Virus*

COV : Composé Organique Volatil

CPK : Clinique des Plantes de Kinshasa

dNTP : Desoxyribonucléotides-5'-Triphosphate

DPR : Rhinaries primaires distales (Distal primary rhinaria)

DR Congo : Democratic Republic of Congo "Republique Demovratique du Congo"

DT : Temps de doublement "doubling time"

EDYSAN : Écologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés

ELI : Earth and Life Institute

ELISA : Enzyme linked immunosorbent essay

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture "Food and Agriculture Organization of the United Nations"

FAOSTAT : Base de données statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture "Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database"

GPS : Global positionning system

gr : Gramme

GSA : glande salivaire accessoire

HC : Helper Component

HDB : Banane Dessert Sain "Healthy Dessert Banana"

HPB : Banane Plantain Sain "Healthy Plantain Banana"

HR : Humidité relative

IDB : Banane Dessert infecté "Infected Dessert Banana"

IITA : Institut international d'agriculture tropicale "International Institute of Tropical Agriculture"

IPB : Banana Plantain Infecté "Infected Plantain Banana"

ISEAV/Walungu: Institut Supérieur d'Etudes Agronomiques et Vétérinaire de Walungu

Kbp: Kilo paire de base

L : Litre

MANOVA : Analyse de variance multivariée "Multivariate analysis of variance"

Mg : Milligramme

NS : Non significative

ORF : Open Reading Frame

PCR : Polymerase chain reaction

PIF : Plante issue de fragment de tige

PLRV : *Potato leaf roll virus*

PPR : Rhinaries primaires proximales (Proximal primary rhinaria)

PSG : glande salivaire principal

r : Taux d'accroissement intrinsèque "intrinsic growth rate"

Ro : Taux de reproduction net "Net reproduction rate"

Rp : Proportion relative "Relative proportion"

SNSA : Service Nationale des Statistiques Agricoles

Sp : Espèce

Spp : Plusieurs espèces

SR : Rhinaries Secondaires (Secondary Rhinaria)

ss : Single strand ou simple brin

T : Temps de régénération "regeneration time"

UCB : Université Catholique de Bukavu

UCLouvain : Université catholique de Louvain

ULg : Université de Liège

UPN : Université Pédagogique Nationale

VOC : Volatils Organic compounds « Composés organiques volatiles »

µL : Microlitre

µM : Micromolaire

i. Cadre institutionnel de la recherche

Cette thèse s'inscrit dans le cadre du programme de collaboration internationale entre l'Université catholique de Louvain (UCLouvain) en Belgique et les universités, instituts d'enseignement supérieur et instituts de recherche scientifique partenaires de la République démocratique du Congo (RDC). Les travaux de recherche ont été financés par le Conseil d'Action Internationale (CAI) de l'UCLouvain, et l'Académie de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur (ARES-CCD). La majeure partie des travaux a été menée dans le pôle "Ecologie et Biogéographie - ELIV" de l'Earth and Life Institute de l'UCLouvain. Il s'agit notamment des tests d'attractivité des pucerons vis-à-vis des bananiers, d'extraction (ou l'isolement) des COV émis par les bananiers, d'évaluation des traits d'histoire de vie des pucerons, de mesures morphométriques des pucerons, ainsi que d'identification des symbiontes et leur rôle dans la transmission du BBTV. Le génotypage et la confirmation du statut des bananiers ont été réalisés dans le pôle " Microbiologie appliquée " de l'Earth and Life Institute de l'UCLouvain. La multiplication et la conservation des bananiers ont été réalisées dans la serre tropicale de l'UCLouvain ; et l'identification des COV par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) a été réalisée dans le laboratoire de Chimie des molécules naturelles de Gembloux Agro-Bio Tech/ULg. Des bananiers symptomatiques et asymptomatiques ont été collectés dans des exploitations paysannes des d'agriculteurs dans la province du Sud-Kivu en République démocratique du Congo (RDC), sous la supervision locale de l'Université catholique de Bukavu (UCB), et sous les conseils de

l'Institut international d'agriculture tropicale (IITA-Kalambo), en se référant à l'étude de Dowiya *et al*. (2009). Les souches de *P. nigronervosa* ont été collectées en RDC sous les conseils de la clinique des plantes de Kinshasa.

ii. Contexte

Les agents pathogènes et leurs vecteurs peuvent interagir avec leurs hôtes à différents niveaux cellulaires et organiques qui peuvent entraîner des changements dans le comportement de l'hôte, conduisant à une transmission accrue (Koella *et al*., 1998 ; Vyas *et al*., 2007 ; Lefèvre & Thomas, 2008 ; Eigenbrode *et al*. 2018). Jadis, ce domaine était principalement axé sur les pathosystèmes animaux (Moore, 1990 ; Koella *et al*., 1998 ; Hurd, 2003), bien qu'aujourd'hui il prenne de plus en plus d'importance chez les végétaux (Ingwell *et al*., 2012 ; Rajabaskar *et al*., 2014). À la différence des agents pathogènes d'animaux, certains pathogènes de plantes ne se répliquent pas dans leur vecteur, de sorte que ces vecteurs ne peuvent pas être considérés comme des hôtes de ces pathogènes (Lefèvre & Thomas, 2008 ; Gray *et al*., 2014). Par ailleurs, alors que les agents pathogènes d'animaux peuvent modifier le comportement des hôtes et des vecteurs, et ainsi conduire à une augmentation de la fréquence des rencontres hôte définitif-hôte intermédiaire ou hôte définitif-vecteur (Hurd, 2003 ; Lefèvre & Thomas, 2008), dans les pathosystèmes végétaux, la plante-hôte est sessile, de sorte que le potentiel de manipulation comportementale est limité au vecteur, seul élément mobile du système (Ingwell *et al*., 2012 ; Rajabaskar *et al*., 2014). Dans ces derniers (pathosystèmes végétaux), la transmission vectorielle d'agents pathogènes semble donner de nombreuses opportunités à la manipulation, non seulement par le biais d'effets directs (manipulation directe) sur le comportement et la physiologie des vecteurs, mais aussi par des effets indirects (manipulation indirecte) sur les caractéristiques de la plante-hôte qui

influencent indirectement l'attraction et la dispersion du vecteur, ainsi que la probabilité d'acquisition du pathogène par le vecteur (Lefèvre *et al*., 2006 ; Stafford *et al*., 2011; Mauck *et al*., 2012 ; Ingwell *et al*., 2012 ; Eigenbrode *et al*., 2018). Ceci a conduit à l'émergence de « L'hypothèse de Manipulation du vecteur » (« Vector Manipulation Hypothesis – VMH ») (Holmes & Bethel, 1972 ; Poulin, 1994), mieux appliquée dans l'interaction Plante-puceron-phytovirus, postulant que la sélection naturelle sur l'agent pathogène favorise la capacité à induire un comportement du vecteur qui favorise la transmission et l'épidémiologie du pathogène (Thomas *et al*., 2005). L'interaction entre les pucerons, leurs plantes-hôtes et les virus illustre ce processus, à travers l'écologie comportementale du vecteur, qui, dictée par la pression exercée par le pathogène conduit à la sélection de comportements particuliers favorisant sa transmission (principe de sélection naturelle de Darwin, 1859).

S'agissant des **effets indirects des virus sur leurs vecteurs** (via la modification de la plante-hôte), il est établi que l'infection d'une plante par les phytovirus peut altérer sa qualité pour les vecteurs (cas des pucerons). Certaines études antérieures ont mis en évidence des capacités reproductrices des pucerons variant en fonction du statut d'infection de la plante, et du type de virus (*Potato leafroll virus* - PLRV, *Potato virus Y* - PVY ou *Potato virus X* - PVX). D'autres ont rapporté l'effet du virus sur la variation des émissions de la plante, ainsi que sur l'augmentation de l'attractivité des pucerons, ce qui améliore la propagation du virus (Chaudhry *et al*., 1998 ; Eigenbrode *et al*., 2002 ; Bosque-Pérez & Eigenbrode, 2011). Ainsi, la majorité d'études sur la

relation hôte - vecteur - parasite indiquent que les plantes infectées par le virus sont des hôtes de qualité supérieure pour les vecteurs par rapport aux plantes indemnes de virus, en ce qui concerne la préférence (attractivité), ainsi que la performance (fécondité, survie, croissance). Dans ce sens, *Myzus persicae* est préférentiellement attirés des plants atteints de *Potato leafroll virus* (PLRV), en comparaison aux plants indemnes ou infectées par d'autres virus (Eigenbrode *et al*., 2002 ; Bosque-Perez & Eigenbrode, 2011). La même situation s'est produite avec *Rhopalosiphum padi*, vecteur du *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) (virus de la jaunisse nanisante de l'orge) sur le blé (Jimenez-Martinez *et al*., 2004). Il est également démontré que les deux pucerons passent un temps maximal sur les plantes infectées par les virus après une exposition à des signaux tactiles et gustatifs (Jimenez-Martinez *et al*., 2004 ; Srinivasan *et al*., 2006). On pense donc que le virus induirait des changements dans les caractéristiques phénotypiques de la plante hôte, et lui pousse à produire des Composés Organiques Volatils (COV) plus attractifs aux vecteurs. En revanche, certains autres pucerons évitent les plantes infectées, qui sont des hôtes de qualité inférieure. C'est le cas par exemple chez *Cucurbita pepo*, où les plantes infectées par *Cucumber mosaic virus* (CMV) sont relativement de faible qualité pour les pucerons vecteurs, spécialement *My. persicae* et *Aphis gossypii*, comparées aux plantes saines. On pense dans ce cas que le CMV manipule la plante en la poussant à produire des composés volatils organiques (COV) qui attirent faussement les vecteurs sur les plantes infectées et puis ils se dispersent rapidement (Mauck *et al*., 2010b). Il apparait donc que les vecteurs peuvent exploiter les changements de la qualité de la plante hôte associée à l'infection virale

(Bosque-Perez & Eigenbrode, 2011). Les agents pathogènes présentant des modes de transmission similaires, donc qui bénéficient vraisemblablement de modèles similaires d'interaction hôte-vecteur, semblent également présenter une convergence significative de leurs effets sur les phénotypes de plante-hôte (Mauck *et al*., 2012). Selon Eigenbrode *et al*. (2018), les virus à transmission persistante attirent plus fréquemment leurs vecteurs et améliorent leurs performances sur les plantes infectées par rapport aux virus à transmission non-persistante. En effet, pour une transmission persistante, le vecteur viral est susceptible de développer une forte affinité avec la plante hôte. Son acquisition nécessite une alimentation soutenue dans le phloème de la plante infectée, le temps que le virus circule à l'intérieur de l'insecte jusqu'aux glandes salivaires où résident les virions. Le puceron reste infectieux pendant longtemps, souvent même jusqu'à sa mort (Lepoivre, 2003 ; Raccah & Fereres, 2009 ; Gray *et al*., 2014 ; Fereres & Raccah, 2015). Ce n'est pas le cas pour les virus non (ou semi-) persistants, comme le CMV, où le vecteur semble être faussement attiré par la plante infectée, puis se disperse rapidement (Mauck *et al*., 2010b ; Tungadi *et al*., 2017). Le vecteur transmet immédiatement le virus après un temps d'acquisition très court, de quelques secondes à quelques minutes (Harris, 1977). Pour optimiser sa transmission et sa propagation, le virus non persistant induit une stratégie pull-push de son vecteur vers sa plante hôte (Carmo-Sousa *et al*., 2014). Cela montre que les traits de manipulation des vecteurs correspondent au mécanisme de transmission du virus (Mauck *et al*., 2012, 2018 ; Mauck & Chesnais, 2020 ; Shi *et al*., 2021).

Parmi les virus des plantes transmis de manière persistante, les *Luteoviridae* induisent presque universellement une attraction, un arrêt ou une installation préférentielle des vecteurs sur les plantes infectées par rapport aux plantes saines (Eigenbrode *et al*., 2002 ; Jiménez-Martínez *et al*., 2004b ; Srinivasan *et al*., 2006 ; Werner *et al*., 2009 ; Medina-Ortega *et al*., 2009 ; Wu *et al*., 2014). L'installation préférentielle des pucerons vecteurs s'est également produite chez les *Closteroviridae*, avec comme agent modèle, le virus de la jaunisse de la betterave (*Sugarbeet yellows virus* - BYV) (Baker, 1960 ; Macias & Mink, 1969), et chez les *Nanoviridae*, avec le virus de la cardamome naine et buissonnante (*Cardamom bushy dwarf virus* - CdBDV), infectant la Cardamome (Ghosh *et al*., 2016).

En ce qui concerne les **effet directs des virus sur leurs vecteurs,** cela nécessite une co-évolution étroite au sein de la relation tripartite hôte-virus-vecteur, et serait donc efficace uniquement pour des associations très spécifiques d'espèces de plantes-virus-vecteurs (Mauck *et al*., 2014b, Blanc *et al*., 2016). Dans le cas particulier des virus persistants, les phytovirus doivent circuler dans l'insecte-vecteur avant de pouvoir compléter leur transmission à la plante hôte, voir même se multiplier (souvent dans plusieurs organes tels que l'intestin et les glandes salivaires) particulièrement chez les phytovirus persistant propagatifs. Par conséquent, ces phytovirus sont plus susceptibles d'affecter directement la physiologie ou le comportement de l'insecte vecteur (Gray *et al*., 2014). Si les individus non-virulifères (avant l'acquisition du virus) préfèrent parfois les plantes infectées, les individus virulifères (après l'acquisition du virus) ont tendance à préférer les hôtes non

infectés favorisant la transmission, et la propagation globale (Ingwel *et al*., 2012 ; Rajabaskar *et al*., 2014 ; Carmo-Sousa *et al*., 2014, 2016, Eigenbrode *et al*., 2018). C'est le cas dans l'étude de Rajabaskar *et al*., 2014, où *My. persicae* non- virulifère avait préféré s'installer sur les plants de pomme de terre infectés par le *Potato leaf roll virus* (PLRV) par rapport aux plants non infectés, tandis que *My. persicae* virulifère (portant PLRV) s'est préférentiellement installé sur les plants de pomme de terre non infectées par rapport aux plants infectés. De la même manière, dans l'étude (in vitro) de Ingwell *et al*., 2012, le puceron *Rhopalosiphum padi*, après avoir acquis le *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) avait préféré les plants de blé non infectés, tandis que le puceron non infectieux avait préféré les plantes infectées par le BYDV. Cet effet a également été observé chez des pucerons qui ont acquis le virus sans contact avec des plantes infectées mais en se nourrissant sur un milieu contenant des particules virales, éliminant de ce fait l'effet indirect potentiel de la plante, certifiant ainsi un effet direct d'un phytovirus sur le puceron vecteur (Ingwell *et al*., 2012). Cette préférence dynamique des vecteurs pour une plante infectée quand ils sont non virulifères, s'inversant après l'acquisition, en induisant une préférence du vecteur pour une plante saine, est favorable à la propagation du virus dans une population végétale (Roosien *et al*., 2013) ; puisque la préférence des vecteur non infectieux pour les plantes infectées favorisera l'acquisition, tandis que la préférence des vecteurs virulifères pour les hôtes non infectés favorisera la transmission et la dispersion du virus.

Dans cette thèse, nous vérifions la Vector Manipulation Hypothesis (VMH) (Holmes & Bethel, 1972 ; Poulin, 1994) sur le comportement du puceron du bananier, *Pentalonia nigronervosa* Coquerel *(Hemiptera, Aphididae)*, lié à la transmission du *Banana bunchy top virus* (BBTV), l'agent étiologique de la maladie du Bunchy top du bananier (Banana Bunchy Top Disease : BBTD), reconnue comme l'affection virale la plus dévastatrice des bananiers au monde (Hooks *et al*., 2008 ; Kumar *et al*., 2015). La maladie constitue une véritable contrainte à la production des fruits de banane et du plantain, mais aussi à l'amélioration et à l'échange des germoplasmes. Dans la plupart des cas, une perte de 90% à 95% a été observée pour la variété Cavendish par exemple. La maladie du sommet touffu du bananier (BBTD) peut à elle seule provoquer des pertes de rendement allant jusqu'à 100 % (Iskra-Caruana, 2003), membre de la famille des *Nanoviridae*, genre Babuvirus, le BBTV est un virus persistant, circulatif et non-propagatif, transmis aux bananiers par *Pentalonia nigronervosa* Coquerl à partir des foyers d'infection créés après déplacement, par l'homme, de matériels de plantation infectés (rejets, vitroplants, souches, etc) (Thomas *et al*., 1994 ; Iskra-Caruana, 2003). La relation hôte-vecteur-parasite reste encore loin d'être élucidée.

Par ailleurs, la relation tripartite plante-puceron-virus est supposée impliquer un quatrième partenaire : les symbiotes bactériens hébergés dans le corps du vecteur (Gray *et al*., 2014 ; Pinheiro *et al*., 2015). En effet, *P. nigronervosa* est bien connu pour abriter des symbiotes *Wolbachia* en plus du symbiote nutritionnel obligatoire *Buchnera aphidicola* (De Clerck *et al*. 2014, 2015). Il est établi que les symbiotes

Wolbachia peuvent également être associés à d'autres phénotypes, et notamment influencer la capacité vectorielle de l'insecte hôte à transmettre des virus (Hedges *et al*., 2008 ; Kaur *et al*., 2021). Si les interactions entre les virus et *Wolbachia* ont été étudiées principalement chez certains insectes se nourrissant de sang (Bian *et al*., 2010 ; Dutra *et al*., 2016), on sait peu de choses sur ces interactions chez les insectes se nourrissant de phloème, tel que les pucerons. Comme *Wolbachia* a été détecté de façon récurrente chez *P. nigronervosa*, ce dernier représente une espèce intéressante pour étudier les interactions entre *Wolbachia* et BBTV.

Sur base des précédents éléments, l'objectif global de cette thèse est de clarifier le mécanisme de la reconnaissance des bananiers par *P. nigronervosa*, et d'en identifier les éléments impliqués dans ce processus, tels que l'influence des COV émis par les bananiers sains et infectés qui influencent potentiellement l'attractivité des pucerons aux bananiers, la performance du vecteur sur des bananiers sains et infectés, ainsi que l'effet de l'acquisition du virus sur le comportement et la physiologie liés à la sélection des bananiers par le vecteur. Nous soutenons qu'avant l'acquisition du virus, le BBTV manipule *P. nigronervosa* indirectement en modifiant les caractéristiques phénotypiques du bananier ; tandis qu'après l'acquisition, le BBTV manipule directement le vecteur en modifiant son comportement et sa physiologie. Par ailleurs, il serait nécessaire de clarifier l'interaction BBTV-*Wolbachia*.

De manière spécifique, il s'agit de :

- ➔ Évaluer l'effet du BBTV sur l'attractivité de *P. nigronervosa*, ainsi que sur les COV impliqués dans cette attractivité. Nous estimons ici que le bananier infecté émettrait une gamme de COV plus attractifs pour *P. nigronervosa* que le bananier sain, ce qui influencerait le comportement du vecteur. Nous nous attendons à ce que l'infection du virus modifie la composition et accroisse la quantité de ces émissions, ce qui améliorerait l'attractivité du vecteur.

- ➔ Évaluer l'effet du BBTV sur la performance (fécondité, survie, longévité et croissance de la population) de *P. nigronervosa*. Nous pensons que les modifications induites chez le bananier infecté affecteraient les traits d'histoire de vie du puceron qui s'en nourrit. Nous nous attendons à ce que le BBTV améliore la qualité nutritive du bananier pour *P. nigronervosa*, au point d'améliorer les performances du vecteur

- ➔ Vérifier l'effet direct de l'acquisition du BBTV sur le comportement de sélection du bananier par *P. nigronervosa*, ainsi que sur la physiologie des alates (formes ailées de l'espèce). Nous pensons que lorsque le BBTV est acquis par le vecteur, le bananier virosé deviendrait moins attractif que le bananier sain, ce qui provoquerait une migration vers le bananier sain et la transmission du virus. Nous nous attendons à ce que la préférence de *P. nigronervosa* pour les bananiers infectés s'inverse après l'acquisition du BBTV.

➔ Déterminer la prévalence de la bactérie *Wolbachia* en conditions naturelles et son développement au sein du puceron *P. nigronervosa*. Cet aspect correspond à l'acquisition de données préliminaires à une étude plus poussée sur les relations entre *Wolbachia* et la capacité de transmission virale chez *P. nigronervosa*.

L'ensemble d'éléments présentés ci-haut sont à la base de cette étude sur l'écologie chimique de *P. nigronervosa* Coquerel dans l'optique de développer des stratégies permettant d'orienter le comportement de sélection de *P. nigronervosa* vers le rejet de la plante hôte (bananier), soit d'empêcher l'atterrissage des formes ailées de *P. nigronervosa*, au moyen des répulsifs, et en combinaison avec d'autres méthodes de lutte, de pouvoir freiner la colonisation des bananiers cultivés et maintenir les populations de pucerons en deçà du seuil de tolérance.

Ainsi, des jeunes plants sains et infectés au BBTV, de deux cultivars les plus représentatifs de bananier au monde : Bananier dessert de groupe Cavendish (génome AAA) et Bananier plantain du groupe Pacific (génome AAB) (Simmonds, 1962 ; Lorenzen *et al*., 2010), en provenance de la province du Sud-Kivu (RD Congo), ont été utilisés comme matériel végétal, tandis qu'un clone de *P. nigronevosa*, également en provenance de la province du Sud-Kivu, a été utilisé comme matériel biologique.

Cette thèse se subdivise en quatre parties (I, II, III) :

- Une introduction générale présentant le contexte dans lequel cette étude est réalisée ;
- La première partie (Partie I) intitulée état de l'art, passe en revue la littérature existante sur le sujet traité ;
- La seconde partie (Partie II) présente les résultats obtenus ;
- La quatrième partie (Partie III) constitue la discussion générale et les perspectives de cette thèse.

Partie I : ETAT DE L'ART

Chapitre 1 :
Le bananier (*Musa* spp.)

1.1. Origine et diffusion du bananier

L'origine géographique du bananier se situe en Asie du Sud-Est, où existent les espèces sauvages *Musa acuminata* Colla et *Musa balbisiana* Colla, qui sont séminifères et à fruits non comestibles. Les multiples mouvements migratoires qui ont eu lieu au cours des millénaires ont entraîné la diffusion du bananier vers les régions intertropicales humides, notamment à travers les îles du Pacifique, la Papouasie-Nouvelle-Guinée, l'Indonésie, vers la péninsule indienne et l'Afrique de l'Est (Montcel, 1987 ; Bouman, 2001 ; Blomme *et al*., 2012). Au cours de cette diffusion, le bananier s'est adapté à différentes conditions agro-environnementales, telles que les centres de diversification secondaire en Afrique de l'Ouest et Centrale dont le bassin du Congo pour le plantain et dans le haut plateau d'Afrique de l'Est, pour la banane à cuire et la banane à bière.

En République démocratique du Congo, le bananier était connu avant le 16ème siècle, époque à laquelle les premiers explorateurs le trouvèrent chez les populations riveraines du fleuve Congo (Vandenput, 1981). Sur le continent Américain, il a été introduit à travers la République Dominicaine vers 1516 grâce à des plants en provenance des îles Canaries, et s'est répandu jusqu'en Amérique Centrale et du Sud (Vandenput, 1981).

1.2. Description et Taxonomie

1.2.1. Description

Le bananier est une herbe monocotylédone de grande taille (1,5 à 8 m selon le génotype), dépourvu de tige végétative aérienne, mais plutôt d'un organe souterrain (tige souterraine) appelé rhizome, à partir duquel sont émis des racines et les rejets servant à la multiplication de la plante. La partie visible aérienne portant les feuilles n'est qu'un emboîtement des gaines foliaires les unes dans les autres, portant l'appellation de pseudo tronc (Figure 1). Le nombre de feuilles varie selon le cultivar de bananier et les conditions agro-environnementales. Sous des conditions optimales, une nouvelle feuille est formée tous les 7 à 10 jours. Une plante porte entre 10 et 15 feuilles fonctionnelles au moment de la sortie de l'inflorescence. Du milieu du pseudo-tronc naît une inflorescence portant de nombreuses bractées membraneuses, de couleur violette ou rouge, à l'aisselle desquelles se développe une fleur sessile. Depuis l'extrémité de l'inflorescence jusqu'à sa base, on rencontre de manière successive des fleurs mâles, mixtes et femelles, à ces dernières succèdent des fruits ou bananes (Figure 1) (Wardlaw, 1961 ; Vandenput, 1981 ; Montcel, 1987). Les racines et les rejets servent à la multiplication de la plante. La partie visible aérienne portant les feuilles n'est qu'un emboîtement des gaines foliaires les unes dans les autres, portant l'appellation de pseudo tronc.

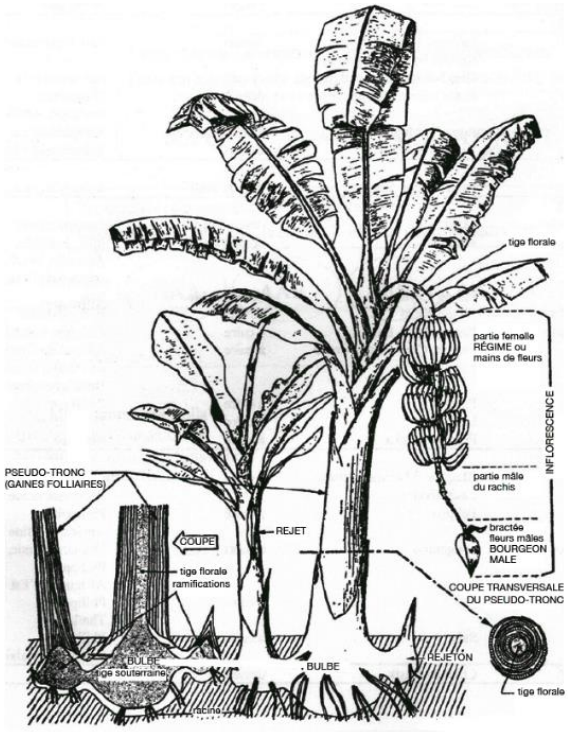


Figure 1. Structure et morphologie du bananier au stade de fructification. Source : adaptée de (Champion, 1963 ; D'Hont, 2012).

1.2.2. Taxonomie

La classe monocotylédone regroupe plusieurs ordres dont, les Zingibérales (ou Scitaminales) où se range le bananier et le plantain. Ce dernier ordre rassemble six familles botaniques parmi lesquelles la famille *Musaceae* avec le genre *Musa*, *Musella* et *Ensete* (Lassoudière, 2007). Sur base du nombre de chromosomes et de caractéristiques morphologiques, le genre *Musa* est divisé en quatre sections : les *Australimusa* (n = 10) ; les *Callimusa* (n = 10) ; les *Rhodochlamys* (n = 11) et enfin les *Eumusa* (n = 11). Ce dernier compte 10 à 12 espèces et

constitue la section la plus diversifiée avec plus de 1.000 variétés dont les plantains (Lassoudière, 2007). C'est aussi la seule section qui regroupe des espèces parthénocarpiques dont les deux principales notamment : *Musa acuminata* (génome A, AA, AAA) et *Musa balbisiana* (génome B, BB) (Lassoudière, 2007 ; Dhed'a Djailo *et al*., 2011). Le bananier comprend plusieurs espèces dont les unes sont alimentaires, certaines ornementales (*Musa ensete*) et d'autres à fibres (*Musa textilis*) (Wardlaw, 1961). Les espèces alimentaires présentent une très grande variabilité génétique et sont pour la plupart polyploïdes, provenant du croisement de deux principales espèces ancestrales : *Musa acuminata* (génome A) et *Musa balbisiana* (génome B) distribuées à partir de l'Asie du Sud-Est. *Musa acuminata* donne des fruits sucrés, elle constitue ainsi un des fruits les plus appréciés des régions productrices. *Musa balbisiana,* consommé cuit, donne des fruits farineux et acides, qui constituent l'un des produits essentiels de l'alimentation de base des populations de la zone tropicale humide, en raison de sa teneur en glucides équivalente à celle de la pomme de terre dans les pays tempérés (Montcel, 1987 ; Lescot, 2004). (Montcel, 1987 ; Lescot, 2004).

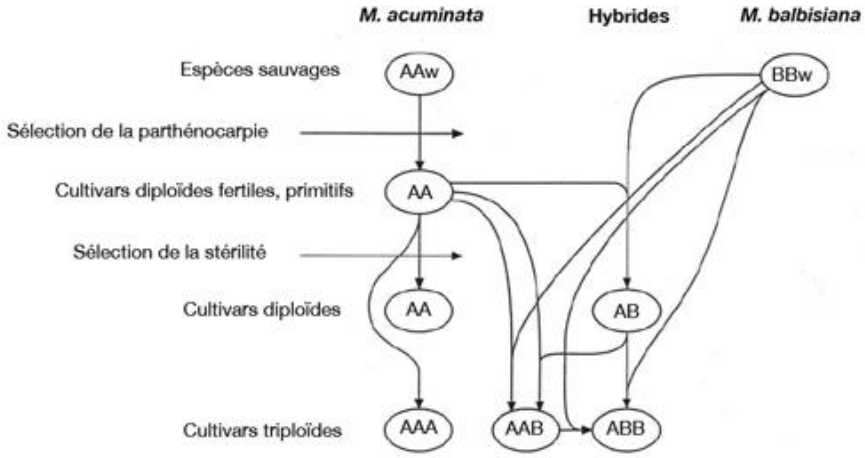


Figure 2. Évolution des principaux groupes génomiques de la série *Eumusa* (Sources : Jones, 2000 ; Gret, 2002). Les hybrides interspécifiques ainsi obtenus sont codés AB, AAB, ABB. Le nombre de lettres traduit le niveau de ploïdie du génome.

1.3. Importance socio-économique et alimentaire du bananier

La banane et le plantain constituent la quatrième denrée agricole la plus produite au monde après le riz, le blé et le maïs, avec une production annuelle de 155 millions de tonnes métriques en 2018 (FAOSTAT, 2020). Leurs cultures constituent une importante source de revenus dans les pays en développement, spécialement en Amérique latine et en Afrique subsaharienne (Tollens, 2004 ; Lassoudière, 2012), de sorte que plus de 400 millions de personnes dans les pays tropicaux et subtropicaux dépendent de ces espèces, aussi bien sur le plan alimentaire que commercial (Arias *et al*., 2003 ; Panis, 2009). Ils constituent le fruit le plus commercialisé et le plus consommé à l'échelle mondiale, actuellement cultivées dans toutes les régions (sub-)

tropicales. Si, en Europe et en Amérique du Nord sa consommation sous forme de fruit est bien connue, d'autres usages liés à la diversité génétique des cultivars sont appliqués dans d'autres région du monde : cuisson des bananes vertes (banane à cuire), le gout sucré et délicieux des bananes desserts, le brassage de la bière à partir des bananes dites à bières, emballages, fibres pour l'habillement et l'artisanat, palettes de transport, aliments pour animaux, matériaux de chaume, matériel de paillage, médicaments traditionnels, production des produits tels que : le bioéthanol, la cellulase, l'acide citrique, l'acide lactique, l'amylase, les cosmétiques, les fibres, les bio-films, le papier, le bioplastique, le bioélectricité dans l'agro-industrie, les produits pharmaceutiques, de la biomédecine et la bio-ingénierie, etc. (Nyine *et al*., 2017 ; Rana *et al*., 2018 ; Kema *et al*., 2021). Tel est le cas par exemple en République démocratique du Congo (RDC) où les bananes douces (les bananes desserts) représentent les fruits les plus importants du pays, soit 1/3 de la production fruitière totale ; tandis que les plantains y occupent la deuxième place parmi les produits vivriers cultivés, après le manioc (SNSA, 1995). Les statistiques des dernières années montrent que la production nationale annuelle de la banane en RDC est passée de 3,12 millions de tonnes en 2000 à 3,22 millions de tonnes en 2012, celle de la banane plantain est passée de 1,17 million de tonnes en 2000 à 5,10 millions de tonnes en 2012 (FAOSTAT, 2016). En comparaison avec d'autres cultures vivrières telles que le manioc, la production de la banane reste très faible (FAOSTAT, 2016).

1.4. Valeurs nutritionnelles du bananier

Le bananier est avant tout une plante alimentaire cultivée pour ses fruits consommables frais (bananes dessert) ou cuits (bananes plantains) qui constituent un aliment riche et relativement complet. En outre, la banane est aisément digestible et constitue souvent la première nourriture solide donnée aux enfants dans les tropiques (Schoofs, 1997). Les bananes et les plantains sont une source riche en sucre : 22% de la portion comestible dans la banane dessert et 31% dans le plantain. Ils sont de plus, riches en minéraux comme potassium, calcium et phosphore, vitamine C (banane) et vitamine A (plantain). De tous les fruits connus, la banane est celui qui contient le plus de protéines. Elle contient en plus du magnésium, du sodium et du sélénium. Elle ne contient pas de chlorure de sodium, c'est pourquoi on la trouve dans tous les régimes sans sel (Krishnamoorthy, 2002). En outre, elle ne contient pas de cholestérol.

1.5. Ecologie et culture du bananier

1.5.1. Ecologie

1.5.1.1. Les facteurs climatiques

Les bananiers et les plantains sont cultivés dans les zones agroécologiques situées entre 30° latitudes Nord et Sud (Dhed'a Djailo *et al*., 2011). Ils peuvent aussi être cultivés, en dehors de cette zone, dans les régions subtropicales libres de gels comme en Israël, en Afrique du Sud ou aux Iles Canaries.

L'eau

Le bananier est une plante exigeante en eau : ses racines n'absorbent aisément que le tiers de la tranche dite habituellement utile, le sol doit donc être suffisamment pourvu en eau. En climat chaud et humide (climat axérique ou tropical avec une courte saison sèche), on considère généralement que les besoins sont couverts avec 35 mm de précipitations par semaine, soit environ 1820 mm de pluies réparties sur toute l'année. Dans toutes les situations, un minimum de 1250 mm de pluie par an est nécessaire (Lassoudière, 2007 ; Dhed'a *et al*., 2011).

La température

Le bananier est sensible aux basses températures. La vitesse de croissance foliaire diminue dès que la température descend sous 24°C. En deçà de 12°C, les feuilles deviennent déformées, se nécrosent et les échanges gazeux deviennent ralentis. Les feuilles jaunissent à des températures de 4 à 6°C (Gret, 2002). Le refroidissement endommage les fruits qui périssent lorsqu'ils sont exposés à moins de 0°C (Swennen & Vuylsteke, 2001).

La lumière

Le manque de lumière agit sur la hauteur des plants et peut faire « filer » les rejets (Lassoudière, 2007). La nébulosité ralentit la végétation et augmente la taille des rejets. Par conséquent, la densité de plantation doit être adaptée de façon à limiter la compétition pour la lumière et les risques de verse (Lassoudière, 2007 ; Dhed'a Djailo *et al*., 2011).

Le vent

Le vent est un facteur climatique de grande importance, son moindre effet est de provoquer une transpiration limitée par fermeture des stomates. Le dommage le plus généralisé est la lacération des limbes. Les vents violents amènent toujours des dommages considérables, soit en brisant les feuilles aux pétioles causant la verse de la plante, soit en cassant les pseudos troncs ou encore en déracinant complètement la plante (Brun, 1963 ; Dhed'a Djailo *et al*., 2011).

1.5.1.2. Les facteurs édaphiques

Le sol

Le système racinaire du bananier exige un sol de structure meuble, bien aéré et bien drainé, avec une disponibilité en eau suffisante mais pas excessive puisque le bananier est très sensible à l'excès d'eau. Les nappes perchées sont d'ailleurs un facteur limitant à la culture de la banane. Normalement, celles-ci doivent se trouver à au moins 80 cm de profondeur. Le pH doit être neutre à légèrement acide : pH 4,5 à 8,5 (Delvaux, 1995).

La nutrition minérale

Le bananier est exigeant en minéraux surtout en azote et en potassium, avec un taux en matière organique élevé. La quantité moyenne d'azote nécessaire à une culture produisant 30t/ha est de 265 kg/ha. Elle est de 1188 kg/ha pour le potassium. L'apport d'azote doit être fractionné car la plante ne peut pas le stocker. Le potassium peut s'accumuler au niveau du système foliaire mais il faut veiller à respecter un équilibre

entre l’absorption de l’azote et celle du potassium. En revanche, les besoins en phosphore, calcium et en magnésium sont relativement faibles (64kg/ha). Le bananier peut aussi supporter une certaine salinité du sol (jusqu’à 300 mg/l de NaCl), mais demeure sensible à la toxicité aluminique (Lassoudiere, 2007).

1.5.2. Système cultural du bananier

La culture du bananier pour l'exportation est presque exclusivement basée sur des variétés du sous-groupe Cavendish (bananier dessert). Cette production se fait en monoculture intensive et nécessite des intrants et des investissements importants : irrigation, traitements aériens, station de conditionnement. Les productions pour les marchés locaux, notamment en conditions d'agriculture paysanne en Afrique, s'inscrivent dans une très large gamme de systèmes de culture, allant de la culture extensive sur brûlis à des associations complexes avec des cultures pérennes (cacao, café, palmier, etc.), des cultures vivrières (macabo, manioc, arachide, maïs) et des cultures fruitières (Gret, 2002). En zone forestière, le bananier est cultivé en association avec des espèces utilisées pour la production de bois, ou avec d'autres cultures, notamment des céréales, des plantes tubéreuses et des légumineuses qui assurent une bonne couverture du sol. Ce système permet d'économiser des intrants, mais peut demander beaucoup de travail en termes de gestion de la diversité variétale (Mukwa, 2020).

1.6. Maladies et ravageurs du bananier

Les maladies et les ravageurs constituent une menace grandissante pour les producteurs et peuvent provoquer des pertes importantes (Jones, 2000 ; Lassoudière, 2007 ; Lifake *et al*., 2018).

1.6.1. Les maladies fongiques

Les bananiers sont soumis à de nombreuses contraintes parasitaires parmi lesquelles les maladies fongiques, très répandues et destructives, attaquant le système racinaire, le pseudo tronc, les feuilles et les fruits.

1.6.1.1. Les maladies fongiques foliaires

Les principales maladies foliaires de bananiers sont généralement causées par les *Mycosphaerella* sp., qui provoquent des dommages modérés à sévères, et qui,sont destructifs partout où les pluies sont abondantes (Jacome *et al*., 2002). La maladie la plus dévastatrice est celle des raies noires (Cercosporiose noire du bananier ou maladie de Sigatoka) causée par *Mycosphaerella fijiensis*, et qui est présente dans toutes les régions de basses altitudes et humides sous les tropiques. Par ailleurs, dans certaines autres régions, on trouve la maladie des taches foliaires d'*Eumusae* causées par *Mycosphaerella eumusae*, la cercosporiose jaune du bananier, causée par *Mycosphaerella musicola*, et la maladie du "banana leaf speckle" causée par *Mycosphaerella musae*.

1.6.1.2. Maladies fongiques du système racinaire, de la corme et du pseudotronc

La fusariose du bananier (également connue sous le nom de maladie de Panama) est causée par *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* (EF Sm.) Snyder et Hansen, un champignon vivant dans le sol. C'est l'une des maladies les plus destructrices du bananier au monde (Stover, 1962 ; Lassoudière, 2007). Le pathogène colonise le xylème du bananier, provoquant un jaunissement progressif des feuilles et un flétrissement vasculaire de la plante. Les feuilles deviennent pendantes autour du pseudotronc. Ceci est souvent accompagné d'éclatements longitudinaux (des fentes) à la base du pseudotronc (Kangire, 1998 ; Lassoudière, 2007 ; Thangavelu & Mustaffa, 2010). Les cultivars de desserts (Gros Michel, Cavendish, etc.) sont plus sensibles que les plantains (Kangire 1998 ; Thangavelu & Mustaffa, 2010 ; Pant *et al*., 2023). La maladie conduit inexorablement à la mort du bananier et a entraîné la disparition du cultivar Gros Michel entre 1935 et 1965 en Amérique latine et dans les Caraïbes (Stover, 1962 ; Lassoudière, 2007). L'éradication du champignon n'est pas possible car il peut survivre dans le sol jusqu'à 30 ans (Lassoudière, 2007). Les méthodes de contrôle efficaces comprennent l'utilisation de cultivars résistants et la prévention de l'entrée de l'agent pathogène dans une zone encore indemne (Ghag *et al*., 2015).

1.6.1.3. Autres maladies fongiques sérieuses mais moins inquiétantes

On peut signaler ici la maladie foliaire causée par *Cladosporium musae* (*Cladosporium speckle*) et le freckle causé par *Guignardia musae.* Il y a également les maladies de post-récolte comme l'anthracnose et le pourrissement de la couronne causées surtout par *Glomerella musae*, et la pourriture des racines causée par *Cylindrocladium* (*Calonectria* spp.) (Jones, 2000 ; Jones, 2000 ; Muirhead et Jones, 2000 ; Ploetz et *al*., 2003a).

1.6.2. Les maladies bactériennes

Les plus importantes maladies bactériennes du bananier causent les flétrissements vasculaires.

1.6.2.1. Flétrissement bactérien du bananier

La maladie est causée par *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum* (Banana *Xanthomonas* wilt - BXW). Lorsque la plante est infectée, il apparait un jaunissement progressif et un noircissement des feuilles (Karamura *et al*., 2006). A un stade avancé de la maladie, le bananier présente un flétrissement généralisé, des stries vasculaires jaunes ou brunes apparaissent tout au long de la plante et le pseudo tronc secrète un exsudat bactérien jaune. On constate ainsi une maturation prématurée des fruits qui deviennent décolorées et un flétrissement de l'inflorescence mâle (Karamura *et al*., 2006). Les moyens de lutte

restent les mesures préventives (la quarantaine, l'inspection phytosanitaire, l'utilisation des variétés résistantes, etc.), les bonnes pratiques culturales, l'éradication, le diagnostic précoces (Tripathi *et al*., 2009).

1.6.2.2. La maladie de Moko

Causée par *Ralstonia solanacearum (synonymes : Pseudomonas solanacearum, Burkholderia solanacearum),* la maladie présente plusieurs ressemblances avec le flétrissement bactérien dû au *Xanthomonas campestris* pv. *musacearum,* du point de vue développement et propagation (Dhed'a Djailo *et al*., 2011). La distinction entre ces deux maladies se fait quand les fruits sont atteints. Ainsi, lorsque l'on observe une pourriture brune et subsèche sur les fruits, il s'agit de la maladie de Moko. Sur les plantes jeunes et à croissance rapide les feuilles les plus jeunes virent au vert pâle ou au jaune et s'affaissent. En l'espace d'une semaine toutes les feuilles peuvent ainsi s'affaisser. Les jeunes repousses peuvent noircir, se rabougrir ou se tordre (Hayward, 1983). La transmission de la maladie est facilitée par des insectes (Eden-Green, 1994).

1.6.2.3. La maladie du sang du bananier

La maladie du sang du bananier est causée par *Pseudomonas celebensis* (bactérie Gram négatif). Elle a été nommée ainsi parce que les tiges des bananiers ont l'air de saigner lorsqu'on les coupe. Les symptômes sont similaires à ceux de la maladie de Moko, mais varient selon le stade de

croissance de la plante et selon le mode d'infection. On observe sur les feuilles entièrement déployées des plants de tous âges un jaunissement transitoire très apparent, une perte de turgescence, une dessiccation et une nécrose. Chez les plants matures, la base du pétiole s'affaisse, et les feuilles flétries pendent autour du pseudo-tronc. Les feuilles les plus jeunes cessent d'émerger et des plaques blanchâtres, puis nécrotiques, apparaissent sur leur limbe (Eden-Green, 1994).

1.6.3. Les maladies virales

Les maladies virales du bananier et du plantain représentent une contrainte majeure à l'amélioration et la production du bananier, par conséquent une menace pour la sécurité alimentaire des nombreuses populations des régions tropicales et subtropicales. Des pertes de rendement dues aux maladies virales dépendent largement du cultivar, des conditions agro-environnementales et de l'espèce virale associée. Des réductions de rendement allant de 15 à 100% peuvent être enregistrées en cas d'infection sévère sur des cultivars sensibles. A ce jour, six principaux virus (*Banana bunchy top virus* (BBTV), *Banana streak viruses* (BSV), *Cucumber mosaic virus* (CMV), *Banana bract mosaic virus* (BBrMV), *Banana mild mosaic virus* (BanMMV) et *Banana virus* X (BVX)) ont été répertoriés sur la culture de bananier à travers le monde, dont quatre (BBTV, BSV, CMV et BBrMV) ont une influence significative sur le rendement (Kumar *et al*., 2015 ; Mukwa, 2020). Le BBrMV est plus souvent associé à d'autres virus et est rarement décrit avec ses propres symptômes (Iskra-Caruana, 2003).

Certains de ces virus, comme le BBTV, sont mondialement distribués, et d'autres, comme le BBrMV, sont limités à certaines zones géographiques. Le Chapitre suivant (2) se concentrera au BBTV, qui est le pathogène modèle de cette thèse, et l'agent étiologique de la Banana Bunchy Top Disease (BBTD), l'affection virale la plus dévastatrice du bananier au monde (Thomas et al., 1994 ; Qazi, 2016).

1.6.4. Les ravageurs du bananier

Les ravageurs les plus importants du bananier sont essentiellement les nématodes et les charançons.

1.6.4.1. Les nématodes

Vivants seuls ou en association avec les champignons tels que *Cylindrocladium* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia sp.*, les nématodes causent des dégâts majeurs sur le système racinaire des bananiers. Ces vers microscopiques réduisent considérablement l'absorption d'éléments minéraux et de l'eau par la plante, ce qui entraîne un ralentissement de la croissance et une perte de rendement de 20 à 80 %. Les plus dévastatrices sont les nématodes endoparasites migratoires tels que le nématode fouisseur *Radopholus similis* (Cobb) Thome, les nématodes à lésions *Pratylenchus coffeae* (Zimm) et *P. goodeyi*, le nématode spiralé *Heliocotylenchus multicinctus* (Cobb) et les nématodes à gales *Meloidogyne incognita* et *M. javanica.* Ces nématodes se propagent par le matériel végétal infesté et par l'homme, et se manifestent par des lésions foncées, brunes et rouges. Les plantes

infestées sont caractérisées par des petits régimes et de feuilles plus petites. Les méthodes de lutte consistent à l'amélioration de la résistance variétale, l'utilisation des matériels de multiplication sains, la thermothérapie, le nettoyage des racines, etc (Sarah *et al.*, 1996; Bridge *et al*., 1997; De Waele & David, 1998; Dhed's a Djailo *et al*., 2011; De Luca *et al*., 2012).

1.6.4.2. Les charançons

Parmi les charançons du bananier, l'espèce dite « foreur des tiges », *Cosmopolites sordidus* (*Curculionidae* : *coleoptera*) reste la plus économiquement dommageable. Les larves de cet insecte envahissent la plante entière en creusant des galeries à intérieures. L'attaque de ce ravageur perturbe l'émission racinaire, tuent les racines, réduit l'absorption des nutriments et la vigueur de la plante, retarde sa floraison et rend la plante sensible aux maladies et autres ravageurs (Dhed's a Djailo *et al*., 2011). Les symptômes d'attaque s'extériorisent les plus souvent dans les parties aériennes : les feuilles s'étiolent et celles situées à la périphérie se dessèchent en premier lieu. Le bananier paraît souffrir de la sécheresse et les régimes sont de très petites tailles. Une bonne partie du système radiculaire se dessèche et les bananiers atteints sont souvent déracinés par les tornades (Buyckx, 1962). Les méthodes employées pour lutter contre le charançon du bananier varient souvent d'un système à un autre, selon la densité de population et les dégâts de ce ravageur. La lutte chimique est la méthode la plus courante dans les plantations commerciales. La lutte culturale, très efficace pour empêcher l'établissement du charançon, est aussi le seul moyen dont

les petits producteurs dépourvus de ressources disposent actuellement pour réduire les populations déjà établies. Elle consiste à désinfecter le rejet à l'eau bouillante ou à nettoyer le bulbe à l'aide d'une machette avant la plantation. Une autre méthode consiste en une multiplication rapide des bananiers (la macro-propagation du bananier) par la technique PIF (Plants issus des fragments des tiges) (Voir Annexe 1). Les agents de lutte biologique (notamment les arthropodes et les champignons entomopathogènes) pourraient également jouer un rôle important dans le développement de stratégies de lutte intégrée (Gold & Messiaen, 2000).

En plus du charançon « foreur des tiges », le charançon du bananier « foreur du pseudotronc », *Odoiporus longicollis* Oliver (*Coleoptrea* : *Curculionidae*) constitue aussi l'un des principaux ravageurs des bananiers et des bananiers plantains. Les larves de ce charançon se nourrissent des tissus succulents des gaines, dans lesquelles elles creusent une multitude de galeries qui peuvent atteindre la tige proprement dite. Si les larves émergent juste avant le stade de floraison, il arrive qu'elles dévorent le pseudotronc, bloquant l'émergence du bourgeon (Padmanaban & Sathiamoorthy, 2001).

Chapitre 2 :
Maladie du Bunchy Top du Bananier

2.1. Interaction plante-virus-vecteur

2.1.1. Aperçu général

Les virus dominent le biote sur notre planète, infectant ainsi les animaux, les plantes et même d'autres microbes. Les études récentes tendent à démontrer que les relations entretenues par les virus avec d'autres organismes sont très variées : de préjudiciables à mutualistes. La nature de ces relations est particulièrement importante pour les virus qui dépendent d'autres organismes pour leur propagation dans l'environnement, comme cela est le cas pour la plupart des virus infectant les plantes (Casteel & Falk, 2016).

Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires constituant un groupe bien particulier d'agents phytopathogènes. Ne pouvant pas se multiplier de façon autonome, ils se développent grâce au détournement des fonctions et ressources disponibles d'une cellule hôte (Lwoff, 1957), et ne peuvent accomplir leur cycle de réplication qu'à l'intérieur de cellules vivantes. Les plantes infectées peuvent parfois développer des symptômes (par exemple, des lésions nécrotiques, des altérations de la croissance et du développement…). De plus, la compétition pour les ressources présentes dans l'hôte peut induire des dérèglements physiologiques à cause du virus qui est susceptible de modifier l'expression de gènes impliqués dans des processus cellulaires (par

exemple des régulations hormonales, des divisions cellulaires, des transports de molécules, etc.) (Pallas & Garci, 2011).

La plupart des phytovirus sont constitués d'ARN de polarité positive (ARN+), même s'il existe aussi d'autres types de virus dont l'ARN génomique est de polarité négative (ARN-) ou ambisens, ainsi que des génomes à ARN double brin (ARNds), ou encore à ADN simple brin (ADNss) ou double brin (ADNds). Les acides nucléiques (ARN ou ADN) des virus sont associés à des protéines formant une capside protectrice et l'ensemble composé par la capside et les acides nucléiques constitue la nucléocapside (Kummert & Lepoivre, 2003). En raison de la nature sessile des plantes, les phytovirus sont confrontés à des difficultés de transmission et ont dû s'adapter en développant différentes stratégies de dissémination. Un virus qui ne peut pas s'échapper de la plante infectée disparaitra avec la mort de son hôte. La transmission d'une plante infectée à une plante saine est donc une étape capitale pour la survie du virus, permettant, de plus, une dispersion géographique. Plusieurs stratégies de transmission coexistent pour les phytovirus ; le mode de transmission utilisé dépend de plusieurs facteurs, comme l'espèce virale, l'espèce-hôte à infecter mais aussi l'hôte source. La transmission verticale d'une plante mère infectée à une plante fille s'effectue par la présence du virus dans le pollen (Mink, 1993) ou les graines (Hogenhout *et al*., 2008) mais aussi lors de la multiplication végétative (i.e. bouturage ou marcottage). Il existe un autre moyen de transmission dite horizontale qui concerne 80% des virus. Cette transmission fait intervenir soit un vecteur permettant aux virus d'être véhiculés d'une plante à une autre, ou bien s'effectue par la

voie mécanique, c'est-à-dire une inoculation par contact après blessure. Les vecteurs sont des organismes aux origines très variées : des arthropodes comme les acariens et les insectes, des nématodes, ou d'autres pathogènes végétaux comme les champignons et les plasmodiophorales. Parmi ces vecteurs, la dissémination la plus efficace semble réalisée par les insectes piqueurs-suceurs, grâce à l'adaptation de leurs pièces buccales, peu dommageables pour les cellules de plantes (Fereres & Moreno, 2009). Les Hémiptères constituent le groupe le plus important de vecteurs (Fereres & Moreno, 2009), et tout particulièrement les pucerons qui transmettent plus de 50% des phytovirus (environ 275 espèces de virus dans 19 genres) (Nault, 1997).

2.1.2. Classification des virus selon leurs modes de transmission

Tableau 1. Différents modes de transmission de virus de plante par les insectes piqueurs-suceurs (adapté et traduit par Chesnais, 2016, à partir de Blanc, 2008 et Brault *et al*., 2010).

Modes 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 avec des vecteurs[d]	Interne	Interne	Externe	Externe
Réplication dans les 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 (particules virales et vecteur).

Une première classification distingue les virus en fonction des durées des différentes étapes nécessaires à la transmission du phytovirus d'une

plante à une autre par l'intermédiaire du vecteur. Cette classification établit une distinction entre trois mode de transmission (Watson & Roberts, 1939; Sylvester, 1956) : **persistant**, **semi-persistant et non-persistant**. Les virus persistants nécessitent une longue période d'acquisition par le vecteur lors de son comportement d'alimentation. Les particules virales transitent par le tube digestif du vecteur puis traversent la barrière épithéliale avant d'atteindre l'hémolymphe. Elles migrent alors vers les glandes salivaires à partir desquelles elles seront inoculées lors de futures phases de salivation (Brault *et al.*, 2010). Le vecteur garde la possibilité de transmettre le virus (i.e. reste virulifère) pendant plusieurs jours ou tout au long du cycle de vie. Les virus non-persistants sont acquis durant de brèves (i.e. quelques secondes) piqûres intracellulaires et leur durée de rétention ne dépasse pas l'heure. Les virus semi-persistants, comme les **non-persistants**, sont acquis rapidement mais leur durée de rétention dans le vecteur est plus importante, de quelques minutes à plusieurs heures. Une seconde classification des virus, basée sur la localisation des virus au sein du vecteur, distingue deux catégories.

Une première catégorie intègre les virus **non-persistants** et **semi-persistants** et correspond aux virus **non circulants** (Harris, 1977), avec des durées de rétention de quelques secondes à quelques heures et aucun processus de réplication du virus dans le vecteur. Ces virus ne sont détectés ni dans l'hémolymphe ni dans les glandes salivaires (Gray & Banerjee, 1999).

Une seconde catégorie, les virus **circulants**, correspondant à celle des virus persistants, distingue les virus **circulants propagatifs** des non-propagatifs. Pour les premiers, le vecteur est porteur du virus pendant toute sa vie, peut le transmettre à sa descendance et le virus se multiplie au sein des glandes salivaires du vecteur. Pour les virus circulants non-propagatifs, le vecteur est porteur du virus pendant toute sa vie, ne peut pas le transmettre à sa descendance et le virus ne se multiplie pas dans le vecteur. Une troisième et dernière classification fait référence au site de rétention du virus dans le vecteur, les virus retenus à la pointe des stylets sont appelés « **stylet-borne** » (Kennedy *et al*., 1962), alors que ceux retenus dans l'intestin antérieur sont appelés « **foregut-borne** » (Nault & Ammar, 1989). Les deux sont parfois regroupés sous le terme « **cuticula-borne** » (Harris *et al*., 1996), se référant à des virus qui sont retenus sur la paroi cuticulaire de l'appareil alimentaire du vecteur. Pour finir, le terme « **salivary gland-borne** » par analogie avec le terme « **cuticula-borne** » a été proposé pour se référer à des virus circulants qui sont transmis à partir des tissus salivaires (Fereres & Moreno, 2009).

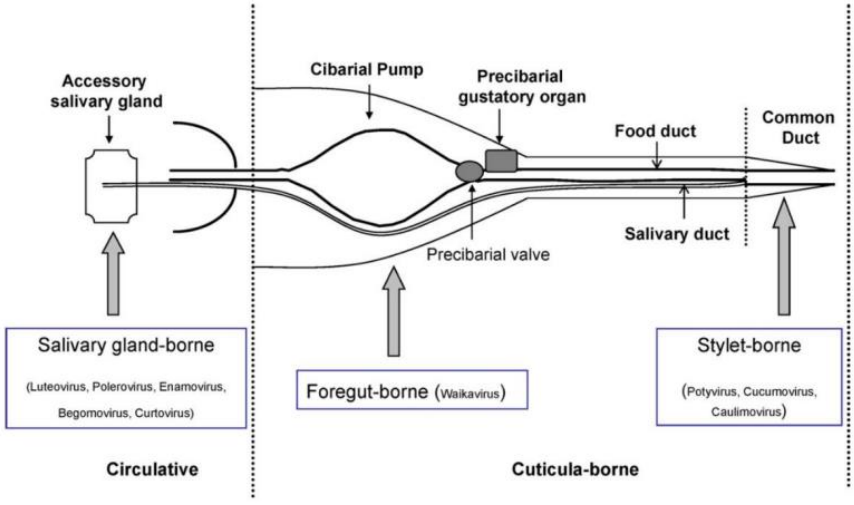


Figure 3. Schéma présentant les sites de rétention probables (flèches) pour les virus circulants de type « **cuticula borne** » au sein des stylets, de l'intestin antérieur et des glandes salivaires de l'insecte (issus de Fereres & Moreno (2009)).

Une fois que les virus sont acquis par un vecteur, ils ont besoin de s'attacher et de s'accumuler dans des sites spécifiques où ils peuvent être protégés jusqu'à ce que le vecteur permette l'inoculation vers de nouvelles plantes. Certains groupes de virus requièrent une protéine codée par le virus qui permet ou facilite le maintien du virion aux pièces buccales des insectes. Cette protéine virale ou composé « Helper Component » (HC) a premièrement été décrite pour les potyvirus (Kassanis & Govier, 1971), puis pour d'autres virus « **culticula-borne** » comme les caulimovirus (Lung & Pirone, 1974).

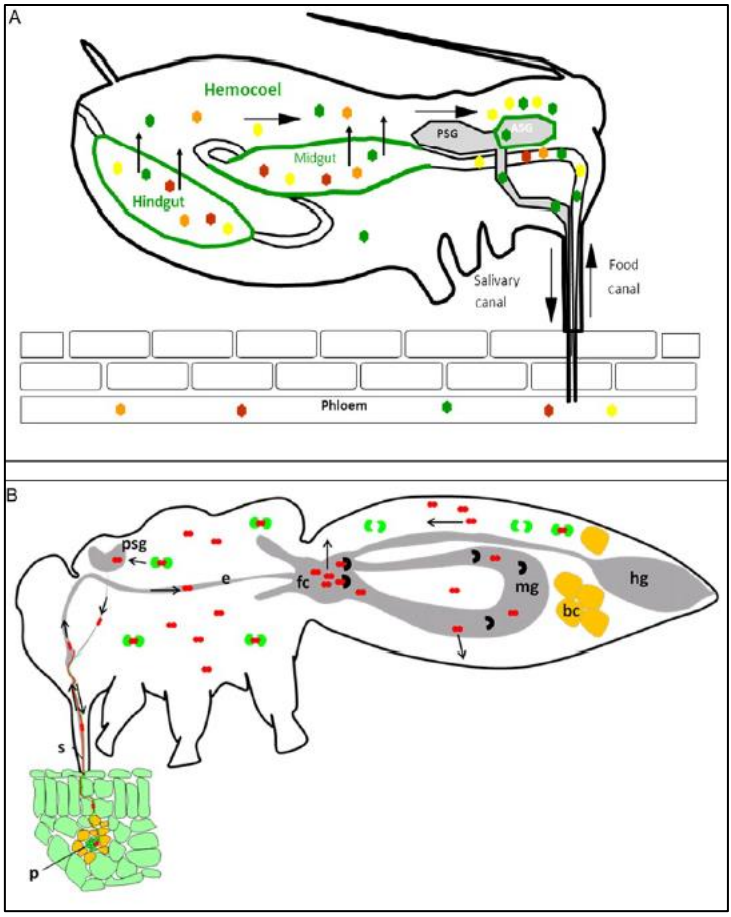


Figure 4. (A) La voie de transmission circulante pour les lutéovirus transmis par les pucerons. Ces virus sont limités au phloème de la plante, ce qui facilite leur dispersion par les insectes suceurs de sève. L'intestin moyen et/ou l'intestin postérieur sont les sites d'internalisation (absorption) dans le vecteur, et se produit par endocytose. Le virus circule dans l'hémocoele et se lie finalement à la lame basale de la glande salivaire accessoire (GSA). Le virus ne s'associe pas avec la glande salivaire principale (PSG). Une fois déposés dans le canal salivaire, les virus entrent dans une plante avec la salive sécrétée pendant l'alimentation. Tous les lutéovirus présents dans le phloème

peuvent être ingérés par un puceron étant en train de se nourrir (particules vertes, jaunes, orange et rouges). Certains virus (rouge) ne pourront pas s'associer aux récepteurs de l'intestin et ne seront pas transloqués vers l'hémocoele. La plupart des virus seront transloqués vers l'hémocoele, mais certains (orange) ne survivront pas dans l'hémocoele (orange) et ne s'associeront pas au GSA. Autres (jaune) s'associeront au GSA mais ne seront pas transférés à travers la lame basale ou le plasme basal. Seuls les virus spécifiquement transmis par le puceron (vert) circuleront dans le puceron et seront finalement déposés dans le canal salivaire.

(B) La voie de transmission circulatoire des Bégomovirus (particules rouges) transmis par les aleurodes. Ces virus sont limités au phloème de la plante (p), ce qui facilite leur dispersion par les insectes suceurs de sève. La chambre de filtration (fc) de l'intestin moyen (mg) est le premier site d'internalisation dans le vecteur, et se produit par endocytose. Après avoir circulé dans l'insecte, les virions traversent l'intestin moyen jusqu'à l'hémocoele, avec l'aide de la protéine HSP70 (particules noires). Dans l'hémocoele, les virions interagissent avec la protéine GroEL (particules vertes) produite par des bactéries endosymbiotiques dans les bactériocytes (bc), et traversent les glandes salivaires primaires (ps) de l'insecte par endocytose, puis sont crachés dans une plante hôte avec des sécrétions salivaires. hg, boyau postérieur ; e, œsophage ; s, stylet (Source : Gray *et al.,* 2014).

2. 2. Le « Bunchy top du Bananier »

2.2.1. Introduction

La maladie du Bunchy Top appelé aussi « la maladie du sommet buissonnant » est causée par le *Banana bunchy top virus* (Lepoivre, 2003 ; Iskra-Caruana, 2003). Le virus est transmis par le puceron du bananier *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (Ferreira *et al*., 1997 ; Kagy *et al*., 2000 ; Anhalt *et al*., 2008 ; Harish *et al*., 2009). Elle a été signalée pour la première fois en 1889 aux Iles Fidji (Vandenput, 1981 ; Isrka-Caruana, 2003), et par la suite été identifiée dans diverses régions où le bananier est cultivé notamment dans la région du Pacifique (Australie, Guam, Hawaï, Kiribati, Ogosowara-gunto, Samoa américaines, Samoa occidentales, Tonga, Tuvalu et Wallis), en Asie (Chine, Inde, Indonésie, Pakistan, Philippines, Sri Lanka, Taiwan et Viêtnam). L'entrée en Afrique serait plus tardive, vers 1901 en Egypte et en 1950, au Congo Belge, par l'introduction de rejets infectés offerts en cadeaux, et sa propagation vers les autres pays s'est principalement effectuée par l'échange de rejets infectés (Wardlaw, 1961 ; Buyckx, 1962 ; Vandenput, 1981 ; Blomme *et al*., 2012). En Afrique, cette maladie est désormais endémique dans 17 pays (disponible en ligne : https://www.bbtvalliance.org/index.php/bbtv (consulté le 24 mars 2022)).

A l'heure actuelle, le Bunchy Top du bananier est présent dans plusieurs régions du monde où le bananier est cultivé. On le trouve notamment dans les pays tels que (Figure 5) :

- En Afrique : Angola, Bénin, Burundi, Cameroun, Congo Brazzaville, République centrafricaine, République démocratique du Congo, Égypte, Gabon, Malawi, Mozambique, Nigeria, Rwanda, Afrique du Sud, Ouganda, Tanzanie, et Zambie (Figures 5 et 6).
- En Amérique : les Etats Unis d'Amérique,
- En Asie : Chine, Indonésie, Inde, Iran, Japon, Malaisie, Népal, Pakistan, Philippines, Sri Lanka, Taiwan et Vietnam.

En Océanie : American Samoa, Australie, Fiji, Guam, Nouvelle Calédonie, Samoa, Tonga, Iles Wallis (CABI, 2022a ; Blomme *et al*., 2012 ; Shimwela *et al*., 2022). Disponible en ligne : https://www.bbtvalliance.org/index.php/bbtv (consulté le 24 mars 2022).

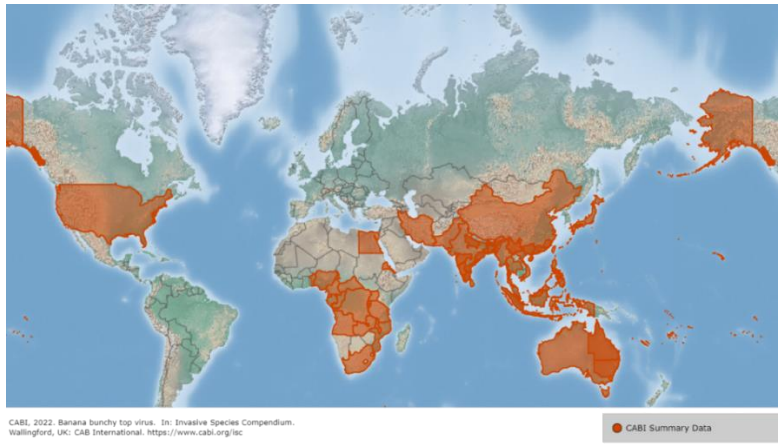


Figure 5. Carte de distribution du BBTV dans le monde (CABI, 2022a).

● = Localisé



Figure 6. Distribution du BBTV en Afrique.

https://www.bbtvalliance.org/index.php/bbtv.

2.2.2. Symptômes

La maladie de Bunchy Top confère aux pieds infectés un aspect nanisant fortement marqué et les feuilles prennent un aspect dressé et se concentrent en forme de rosette en haut du plant. Les feuilles deviennent étroites, érigées, cassantes et présentent de fortes chloroses marginales (chlorose des bords de feuilles) ainsi que l'apparition des traits discontinus verts foncés le long du pseudo-tronc, des nervures principales et secondaires (Figure 7) (Mukwa *et al.* 2014). Dès que le pied mère est contaminé, le virus colonise de manière systémique, très rapidement la plante hôte et se répartit dans tous les rejets. Ces derniers ont leur croissance arrêtée et présentent un nanisme important qui induit une impossibilité de production durant le cycle cultural suivant (Wardlaw, 1961 ; Isrka-Caruana, 2003). Les plants peuvent être infectés à tous les stades de croissance avec quelques différences initiales entre les symptômes développés par un plant infecté par le vecteur et ceux d'un plant issu de matériel végétal infecté (Isrka-Caruana, 2003).

Sur les plants infectés par *P. nigronervosa*, les symptômes apparaissent généralement sur la seconde feuille émergeante après l'inoculation et consistent en quelques tirets ou pointillés vert-foncé sur les nervures secondaires de la partie inférieure du limbe. Les stries forment des crosses dès qu'elles entrent en contact avec la nervure principale et sont plus faciles à distinguer en observant la feuille à contre-jour. Le symptôme (pointillé) peut être facilement observable sur le pétiole. Les feuilles suivantes peuvent manifester des traits blanchâtres le long des

nervures secondaires lorsqu'elles sont encore enroulées. Ces traits deviennent vert foncé lorsque la feuille se déploie. Ces traits vert-foncés sont plus visibles sur les cultivars Cavendish, mais peuvent être moins proéminent sur quelques bananiers à cuire. Les feuilles suivantes sont plus petites en longueur et en largeur de limbe, et ont souvent des bordures chlorotiques et enroulées. Elles deviennent cassantes et dures et ont une tenue plus érigée que la normale donnant au plant un aspect de touffe à l'extrémité "*bunchy top*" en forme de rosette, avec un nanisme prononcé. Sur les plants infectés très tardivement dans le cycle de culture, le seul symptôme présent peut consister en quelques stries vert-foncées à l'extrémité de la bractée florale. Les rejets d'une souche infectée montrent de sévères symptômes sur la première feuille émise et ont un nanisme important. Les feuilles sont en forme de rosette, petites avec des chloroses marginales qui tendent à devenir nécrotiques (Figure 7). Les stries vert-foncées sont habituellement évidentes sur les feuilles. Dans la plante, le BBTV est limité aux tissus du phloème, et les cellules entourant les vaisseaux du phloème contiennent un nombre anormal de chloroplastes, ce qui donne lieu aux symptômes macroscopiques de stries vert foncé. Après l'infection, le BBTV se réplique et s'accumule progressivement dans toutes les parties de la plante, sauf dans les feuilles formées avant l'infection, dans lesquelles le virus est présent, mais ne se réplique pas. Ceci explique le fait que le vecteur n'est pas capable d'acquérir le virus à partir de ces feuilles (Hafner *et al*., 1995 ; Iskra-Caruana, 2003). Il a été décrit à Taiwan et au Vietnam des souches de BBTV ne développant aucun symptôme sur les bananiers (Van Regenmortel *et al*., 2000 ; Thomas & Iskra-Caruana, 1999). La sévérité des symptômes est déterminée au champ grâce à une

échelle de cotation des maladies foliaires adaptée de celle de Allan (1983) de 1 à 5; avec 0 : plantes sans symptômes ; 1 : présence de stries sur les feuilles ; 2 : stries foncées jusqu'au pseudotronc ; 3 : décoloration des feuilles avec taille normale ; 4 : taille réduite des feuilles décolorées ; 5 : aspect touffu au sommet « *bunchy top* » (Dhed'a Djailo *et al*., 2009).



Figure 7. Symptômes caractéristiques de la maladie de *bunchy top* du bananier sur les rejets venant d'un pied mère infecté, photo prise à Luila, sur l'axe Kinshasa - Matadi en RDC.
Photo : Mukwa, 2012.

2.2.3. Agent pathogène

L'agent pathogène responsable de la maladie du *Banana bunchy top* est un virus de la famille taxonomique de *Nanoviridae* et du genre Babuvirus, nommé *Banana bunchy top virus* (Lepoivre, 2003). Ce virus

possède des particules virales isométriques de 18 à 20 nm de diamètre et un génome composé d'au moins 6 ADN monocaténaires simple brin d'environ 1kb faisant de ce virus l'un des virus le plus petit (Figure 8) (Harding *et al*., 1991 ; Beetham *et al*., 1999). Ces molécules sont enfermées individuellement dans une particule icosaédrique et codent chacune pour une seule protéine. Ces virus se répliquent dans le noyau des cellules infectées selon un mécanisme de cercle roulant (Rolling circle) initié par la protéine virale codant pour des protéines Rep hétérologues. Toutes les Rep sont fonctionnelles et chacune initie la réplication de l'ADN par lequel elle est codée (autoréplication). Mais, parmi toutes ces Rep, Master Rep est la seule protéine capable d'induire la réplication des autres composants génomiques du virus (transréplication) (Timchenko & Bernardi, 2007; King *et al*., 2012 ; Mukwa *et al.* 2016).

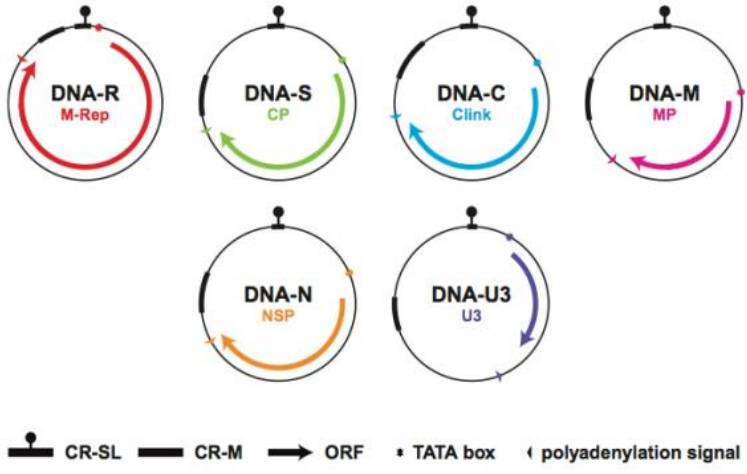


Figure 8. Diagramme illustrant l'organisation génomique des virus du genre Babuvirus et décrivant la structure des six ADN composant le génome viral. Dans chaque cercle représentant les ADN (1060-50nt), identifié en ADN-R, ADN-C, ADN-M, ADN-S-, ADN-U3, ADN-N est marqué le nom par lequel l'ADN est désigné, le nom de la protéine codée, la position de la « Common steem-loop region » (CR-SL) et de la « major common region » (CR-M). Les flèches se rapportent à l'emplacement et à la taille approximative du cadre ouvert de lecture (ORF) et la direction de la transcription. Des particularités ont été observées chez certaines espèces de Babuvirus notamment chez Abaca bunchy top virus (ABTV). Chez cette espèce, (i) aucun cadre ouvert de lecture (ORF) n'a été identifié sur l'ADN-U3 de deux isolats *Abaca bunchy top virus* (ABTV) et dans plusieurs isolats de *Banana bunchy top virus* du groupe asiatique d'une part. (ii) l'ADN-R de *Banana bunchy top virus* (BBTV) possède un petit ORF interne qui code pour une protéine de 5kDa (U5) et s'est avéré être potentiellement transcrit de l'ADN-R de BBTV (King *et al*., 2012 ; Mukwa *et al*., 2016).

2.2.4. Caractéristiques biologiques du *Banana Bunchy top virus*

Comme tous les autres virus, le BBTV est un parasite obligatoire et réalise son cycle de multiplication dans la plante hôte : le bananier. Il est préférentiellement localisé dans les tissus du phloème où il induit une désorganisation à l'origine du symptôme de traits discontinus vert-foncé. Il colonise la plante progressivement depuis son point de pénétration. Les cellules entourant les phloèmes contiennent un nombre anormal de chloroplastes donnant lieu aux macroscopiques symptômes

de stries vert foncé. Le BBTV se réplique durant une courte période au point d'inoculation du puceron, il descend ensuite dans le pseudo-tronc vers le méristème basal, et finalement vers le bulbe, les racines et les feuilles nouvellement formées. La réplication n'a pas été démontrée dans les feuilles formées avant l'infection. Cela explique le fait que le puceron ne soit pas capable d'acquérir le virus à partir de ces feuilles-là. Le plant de bananier nouvellement infecté ne devient réservoir du BBTV qu'à partir du moment où une nouvelle feuille présentant des symptômes est émise. Cela correspond au temps nécessaire pour la migration et la multiplication du virus dans la plante. Le BBTV a été détecté par ELISA et/ou PCR dans la majeure partie de la plante, incluant le limbe et les nervures, le pseudo-tronc, le bulbe, les tissus méristématiques, les racines, la tige des fruits et le fruit. Cependant, le BBTV ne demeure pas dans le sol (Hafner *et al*., 1995 ; Iskra-Caruana, 2003 ; Anhalt & Almeida, 2008).

2.2.5. Epidémiologie

La dispersion du BBTV se réalise de deux façons (Lasoudière, 2012) :

- La diffusion à courte distance par le vecteur *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (1859), qui est le seul insecte vecteur du BBTV,
- La dissémination à longue distance moyennant l'homme, avec le déplacement des matériels de plantation infectés : rejets, vitroplants, souches, etc. C'est par cette dernière voie que des nouvelles plantations dans des zones isolées sont infectées (Lasoudière, 2012).

La transmission par le puceron se fait selon une piqure d'acquisition qui dure au minimum quatre heures et l'infection à une plante saine exige une piqure d'une durée de 30 minutes à 2 heures. Une fois inoculée, la plante ne deviendra infectieuse qu'après une période de latence qui correspond à l'émission de deux à trois feuilles selon la vitesse de production des feuilles (Lepoivre, 2003). La transmission mécanique du virus par les outils agricoles n'a jamais été observée (Thomas *et al*., 1994). Le BBTV est détecté par les Test ELISA et PCR (Mukwa *et al*., 2016). Les parties les plus jeunes de la plante telles que la feuille cigare sont préférentiellement utilisées parce qu'elles possèdent une grande concentration virale. D'autres parties peuvent être utilisées dans le cas d'un stade avancé de la maladie (Iskra-Caruana, 2003).

Chapitre 3 :

Agent vecteur du BBTV : *Pentalonia nigronervosa* Coquerel

3.1. Aperçu général sur les pucerons

Les pucerons (*Hemiptera*, *Aphididae*) sont des insectes phytophages mesurant de quelques millimètres à un centimètre (Blackman & Eastop, 1994). Ils sont présents dans le monde entier, sous des conditions environnementales très variées, bien que plus abondants dans les zones tempérées que sous les tropiques. Leur aspect est très varié : la taille, la forme et la couleur de leurs corps ainsi que des différents appendices varient d'une espèce à l'autre mais également au sein d'une même espèce en réponse à leur environnement biotique et abiotique. De plus, des morphes aptères, ailés (alates), sexués ou vivipares sont produits au cours de leur cycle de vie (Figure 9).

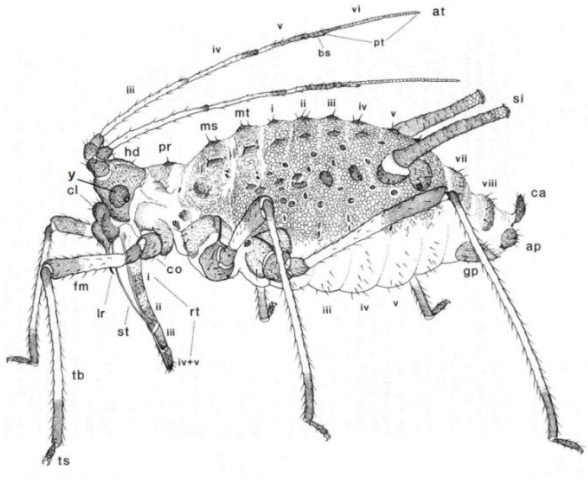


Figure 9. Schéma de l'anatomie d'un puceron. Modifié d'après (Miyazaki, 1987). La tête (hd) contient le cerveau et porte les principaux organes sensoriels : une paire d'antennes (at) qui leur permet d'explorer leur environnement de manière tactile et olfactive, une paire d'yeux composés (y), et des pièces buccales de type piqueur-suceur, constituant le rostre (rt) qui porte les stylets (st), leur permet de « goûter » et de se nourrir du phloème de la plante hôte. Le thorax, divisé en 3 segments (ms, mésothorax ; mt, métathorax ; pr, prothorax), porte les organes de locomotion : 3 paires de pattes (coxa (co), fémur (fm), tibia (tb), tarse (ts)) et une paire d'ailes quand ces dernières sont présentes. L'abdomen, constitué de 10 segments, porte les organes de la reproduction et de l'excrétion : à la jonction des segments V et VI, émerge une paire de cornicules (si) sur la face dorsale qui permet d'excréter des défenses et des phéromones d'alerte ; la face dorsale de l'abdomen peut également porter des soies de différents types, des plaques pigmentaires et des opercules ; à l'extrémité de l'abdomen le segment X forme la queue ou cauda (ca), juste en dessous duquel se trouve la plaque anale (ap), l'anus d'où est excrété le miellat, et enfin la plaque génitale (gp). L'abdomen contient le système digestif et bien sûr les organes reproducteurs internes (autres abréviations : bs, base ; cl, clypeus ; lr, labre ; pt, processus terminalis. Les chiffres romains indiquent la segmentation).

Le régime alimentaire varie selon les espèces, de la monophagie (exclusivement associé à une espèce de plante hôtes), à la polyphagie (associé à une vaste gamme de plantes hôtes appartenant à différentes familles botaniques) en passant par l'oligophagie (associé à quelques

espèces de plantes). Les espèces polyphages sont plus rares (moins de 1%) et sont généralement considérées comme des ravageurs des cultures (Blackman & Eastop, 2000).

Les pucerons sont totalement dépendants de leur plante hôte, car ils sont tous phloèmophages. Grâce à leur rostre ils percent l'épiderme jusqu'au le phloème, afin d'atteindre la sève élaborée. Suite à l'installation des stylets la salive est injectée afin d'inhiber les mécanismes de défense de la plante, et l'ingestion de phloème peut avoir lieu (Auclair, 1963 ; Powell *et al*., 2006). Chaque espèce est en général inféodée à une partie de la plante : aérienne (feuille et/ou tige) ou souterraine (collet ou racines).

L'alternance de reproduction sexuée et asexuée, ou parthénogénèse cyclique, est une caractéristique des pucerons. La reproduction sexuée a lieu lors de l'accouplement d'un mâle et d'une femelle ovipare. A l'inverse, la parthénogénèse conduit à la production d'individus génétiquement identiques à la mère (Hales *et al*., 2002).
Les pucerons possèdent tous la capacité de se reproduire par parthénogénèse qui est de type apomictique (Blackman & Eastop, 2000) (la division de maturation est équatoriale sans réduction chromosomique, puis le développement de l'embryon se fait uniquement par succession de mitoses). Les femelles vivipares portent en elles des embryons se développant donc en absence de fécondation, qui portent déjà en eux des embryons, qui eux-mêmes engendreront une nouvelle génération de femelles vivipares. Trois générations télescopées se développent donc en parallèle à un temps et 18 dans un

environnement donné (Figure 10). La reproduction asexuée est particulièrement efficace : une seule femelle vivipare peut produire une centaine de larves au cours de sa vie. La croissance des colonies en phase de reproduction asexuée est donc exponentielle (Dixon, 1987).

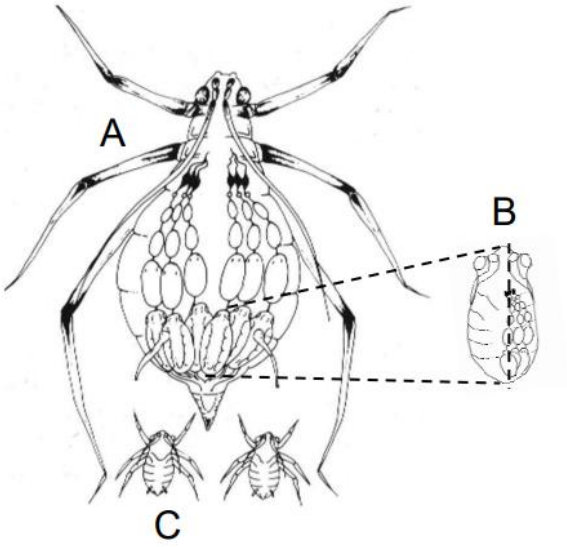


Figure 10. Planche sur les femelles vivipares. Schéma présentant une femelle vivipare aptère (A) et son système reproducteur : chaque ovariole contient un embryon à différent stade de développement. Chaque embryon en cours de développement (B) contient lui aussi des embryons en développement. Larves de premier stade (C). Modifié d'après (Dixon, 1987).

Certaines espèces des pucerons ont perdu la phase sexuée et se reproduisent en permanence par reproduction parthénogénétique, on dit qu'elles sont ***anholocycliques*** (ex. *P. nigronervosa*). Chez une même espèce, il est possible de trouver des populations *holocycliques* dans les

régions aux hivers froids et des populations *anholocycliques* dans les régions où les hivers sont doux. Parmi les espèces holocycliques, certaines vont réaliser tout leur cycle sur un seul type de plante, sans changement d'hôte obligatoire entre la phase parthénogénétique et la phase sexuée, on dit de ces espèces qu'elles sont monoéciques. D'autres vont réaliser leur phase sexuée sur une gamme de plantes hôtes (on appelle ces hôtes, les hôtes primaires), généralement un ou des arbuste(s) ou arbre(s) et la phase parthénogénétique sur une autre gamme de plantes hôtes (ces hôtes sont dits secondaires), généralement des herbacées. On dit de ces espèces qu'elles sont hétéroéciques ou dioéciques (Moran, 1990,1992 ; Moran *et al*, 1993).

3.2. Modèle biologique : *Pentalonia nigronervosa* Coquerel

3.2.1. Généralité

Le puceron du bananier, *P. nigronervosa* (*Hemiptera*, *Aphididae*) serait originaire du sud-est d'Asie. Il est actuellement présent dans toutes les régions tropicales du monde, même dans des zones où le BBTV n'est pas encore signalé, notamment en Amérique du Sud (Figure 11), raison pour laquelle le BBTV y est pris comme un agent de quarantaine (Hill, 1983 ; CABI, 2022b).

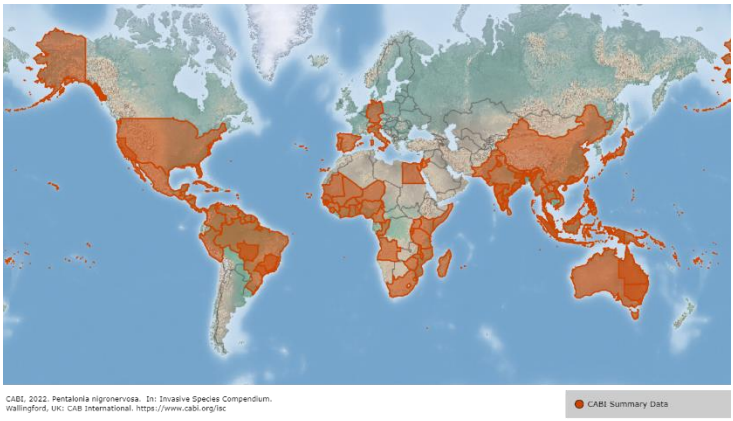


Figure 11. Distribution du *P. nigronervosa* dans le monde (CABI, 2022b).

Pentalonia nigronervosa reste le seul vecteur du BBTV parmi les 4700 espèces des pucerons décrites au monde (Hooks *et al*., 2011). Décrit pour la première fois au 19eme siècle sur l'île de la Réunion (appelée encore « île de Bourbon ») au bord de Madagascar et enregistré ensuite par Timberlake en 1924 à Hawaii, ce puceron a été découvert par Coquerel sur le bananier et a été dénommé sur la base distinctive de l'innervation alaire. *Pentalonia nigronervosa* est un puceron à abdomen de couleur brune. La longueur de la forme ailée est comprise entre 1,6 et 1,8 mm et ses antennes sont plus longues que son corps. Il est particulièrement identifiable par ses ailes bordées des veines brunes et ses cornicules relativement longues, cylindriques et légèrement enflées à l'extrémité (Mau *et al*., 2000).

3.2.2. Plantes hôtes et dégâts causés par les pucerons

Pentalonia nigronervosa est présent partout où le bananier est cultivé. Cependant, son développement optimal s'observe en régions tropicales et subtropicales. Il peut aussi mieux se développer sous serre en Europe et en Amérique du Nord (Ronald *et al*., 2012). En plus des *Musaceae*, *P. nigronervosa* colonise les *Araceae* (*Alocasia sp*., *Calladium spp*., *Dieffenbachia spp.*, *Xanthosoma* sp.), les *cannaceae* (*Canna* sp.), les *Heliconaceae* (*Helicona spp*.), les *Strelitzeaceae* (*Streltzia spp*.,), et les *Zingiberaceae* (*Alpinia spp*., *Costus sp*., *Hedychium spp*.) (Hill, 1983). Les pucerons en général sont des véritables ravageurs des cultures dans le monde du fait de leur régime alimentaire exclusivement phytophage et leurs pièces buccales de type piqueurs-suceurs. Ils occasionnent d'importants dégâts sur différentes cultures et peuvent être reconnus facilement par les tubes dorsaux abdominaux appelés cornicules dont ils sont munis (seulement chez les pucerons et rarement chez certains hyménoptères : *Galodoxinae*) (Hance, 1998 ; Ighil *et al*., 2011).

A l'exception de *P. nigronervosa*, d'autres pucerons tels que *Aphis gossypii*, *Rhopalosiphum maidis*, *Aphis crassivora*, *Myzus persicae* colonisent une gamme des variétés des plantes hôtes. La succion de la sève affaiblit les végétaux, ce qui pourrait s'accompagner avec la transmission des maladies virales, l'injection de la salive toxique provoquant des déformations des parties attaquées mais aussi par un développement de fumagines qui détruisent la qualité des fruits et empêche la photosynthèse (Lockhart & Jone, 2000 ; Lockhart, 2002 ; Nelson *et al*., 2006).

Le BBTV est transmis par le puceron selon le mode persistant, circulatif et non-propagatif. Une durée d'alimentation du puceron d'au moins quelques heures sur une plante infectée est nécessaire pour acquérir efficacement le virus. Cette période précède une période de latence, durant laquelle le virus circule à travers le corps du puceron jusqu'aux glandes salivaires. Durant cette période, le puceron est infecté mais non capable de transmettre le virus. Cette période dure plusieurs heures à un jour. Le puceron devient ensuite infectieux et est capable de transmettre le virus pour le reste de sa vie jusqu'à six semaines.

Signalons aussi que les fourmis récupèrent le miellat produit par les pucerons en grande quantité. Elles les accompagnent toujours et les protègent contre les prédateurs et les parasites (Thomas & Dietzgen, 1991 ; Iskra-Caruana, 2003; Anhalt & Almeida, 2008). Les dégâts causés par *P. nigronervosa* sur les bananiers se limitent essentiellement dans la transmission du BBTV.

3.2.3. Biologie et écologie du *P. nigronervosa*

Au cours de l'évolution, un certain nombre de différences intraspécifiques dans la biologie de *P. nigronervosa* sont apparues, dues soit à des plantes hôtes différentes, soit aux conditions agroécologiques dans lesquelles on trouve l'insecte (Rajan, 1981). Ceci a conduit à la distinction de deux différentes formes de *P. nigronervosa* (Eastop, 1966) : *P. nigronervosa* f. *typica* Coquerel et *P. nigronervosa* f. *caladii* Van der Goot. On constate que *P. nigronervosa* f. *typica* Coquerel est inféodé au genre *Musa* alors que *P. nigronervosa* f. *caladii* est couramment trouvé sur *Heliconia*, *Alpinia* et *Colocasia*, et rarement sur

Musa. Généralement, *P. caladii* possède une longueur ultime du segment rostral (URSL) de moins de 0,13 mm, alors que celle de *P. nigronervosa* était toujours plus longue (Foottit *et al*., 2010). Les grandes différences entre les deux formes de *Pentalonia* sont (Bhadra et Agarwala, 2010 ; Duay *et al*., 2014) :

- Biologiquement les aptères de *P. nigronervosa* f. *caladii* sont beaucoup plus féconds. Ils possèdent un taux net de reproduction plus élevé, leur durée de reproduction est plus longue et les adultes vivent aussi plus longtemps que *P. nigronervosa* f. *typica*, infeodé aux bananiers,
- *P. nigronervosa* f. *caladii* forme de grandes colonies et vit moins longtemps sur le taro, tandis que *P. nigronervosa* f. *typica* forme des petites colonies et vit relativement plus longtemps sur le bananier,
- *P. nigronervosa* f. *typica* peut être présent sur *Musa ssp*, contrairement au *P. nigronervone* f. *caladii* qui ne s'y trouve jamais. Ce dernier ne colonise que les *Streliziaceae*, *Heliconiaceae*, *Alpinia*, *Colocasia*.

Les mâles des *P. nigronervosa* (comme chez des nombreuses espèces des pucerons) ne sont pas connus. C'est une espèce à reproduction parthénogénétique et vivipare. A 25°C, chaque puceron produit en moyenne deux pucerons par jour et le cycle de la nymphe à l'adulte dure entre 9 et 16 jours. L'espérance de vie d'un adulte est variable selon la qualité de la plante-hôte. La reproduction intervient un jour après la maturité. Chaque femelle produit une progéniture moyenne de

14 pucerons (Mau et *al*., 2000) et la reproduction est de 25 à 30 générations par an pour une température comprise entre 24 et 28°C. Le temps chaud et sec est donc particulièrement favorable pour une augmentation rapide du nombre de pucerons (Völk et *al*, 1990).

Généralement, *P. nigronervosa* se trouve en colonies entre la gaine de la plus récente feuille jusqu'à la base du pseudotronc, et aussi sur la surface inferieure des feuilles, près de la nervure centrale, ainsi que vers la base du bananier juste au-dessus du sol (Robson *et al*., 2006). En effet, toutes les espèces de pucerons préfèrent sucer la sève sur les parties tendres de la plante (jeunes pousses et les feuilles), mais dès que leur nombre augmente, ils peuvent couvrir toute la plante. Il s'en suit une apparition des alates, qui s'envolent à la recherche de nouvelles plantes pour former une nouvelle colonie. Les alates apparaissent environ après 7 à 10 générations d'aptères (Völk et *al.*, 1990).

A)  **B)**  **C)** 

Figure 12. *P. nigronervosa*, vecteur du BBTV. (A) : Un alate de *P. nigronervosa* sur une feuille de bananier (Scot, 2016) ; (B) : Une colonie de *P. nigronervosa* sur un bananier (Scot, 2016) ; (C) : Un aptère du *P. nigronervosa* sur une feuille de bananier (Scot, 2016).

Normalement, les alates de pucerons apparaissent lorsque les effectifs à l'intérieur des colonies augmentent fortement, ou lorsque la qualité

alimentaire du végétal par rapport aux aphides se détériore (vieillissement ou jaunissement). Les alates peuvent migrer jusqu'à 20 m sans l'aide du vent vers des nouvelles plantes. A l'aide du vent, ces distances peuvent atteindre plusieurs centaines de mètres ou plus (Völk *et al*., 1990). En terme épidémiologique, seule la forme ailée des pucerons demeure un vecteur important et même le seul, qui, migrant vers une nouvelle plante, demeure responsable d'une nouvelle infection (Isrka-Caruana, 2003).

3.2.4. Les endosymbiontes associés à *P. nigronervosa*

Les symbiontes sont des micro-organismes connus pour avoir une relation mutualiste étroite (c'est-à-dire des interactions gagnant-gagnant, par exemple lorsqu'une espèce partenaire fournit un abri ou une alimentation tandis que l'autre offre une protection contre les ennemis naturels : Janzen, 1966 ; Jousselin *et al*., 2013) avec une grande diversité d'espèces. On estime que les interactions pucerons-symbiontes ont commencé il y a 160 à 280 millions d'années (Fukatsu, 1994). Certains symbiontes sont obligatoires (également appelés primaires) tandis que d'autres sont facultatifs (également appelés secondaires). Chez les pucerons, le symbionte obligatoire *B. aphidicola* est indispensable car il peut leur fournir des acides aminés essentiels qu'ils ne peuvent pas obtenir du phloème des plantes (Douglas, 1998 ; Baumann, 2005 ; Shigenobu *et al*., 2000). La transmission de cette bactérie intracellulaire se fait uniquement de la mère aux embryons (par voie verticale) : la localisation des bactériocytes à proximité du tractus génital permet le passage contrôlé

des bactéries vers les embryons en cours de développement (Wilkinson *et al*., 2003). Les symbiontes facultatifs sont nombreux et présentent divers effets sur les hôtes à travers diverses fonctions qui peuvent être bénéfiques ou néfastes pour les pucerons (Oliver *et al*., 2010). Le tableau ci-dessous présente 9 symbiontes facultatifs déjà identifiés, avec leurs fonctions, chez les pucerons.

Tableau 2. Impacts signalés de neuf symbiontes facultatifs chez les pucerons (*In* Guo *et al*., 2017, modifié).

Symbiontes	Fonction	Références
Serratia symbiotica	- Résistance aux chocs thermiques	Chen *et al*., 2000 ; Russell et Moran, 2006
	- Résistance parasitoïde	Oliver *et al*., 2003 ; Oliver et al., 2005
	- Approvisionnement nutritionnel	Koga *et al*., 2003 ; Koga *et al*., 2007
Hamiltonella defensa	- Résistance parasitoïde	Oliver *et al*., 2003 ; Oliver *et al*., 2005
	- Résistance aux chocs thermiques	Russell & Moran, 2006
	- Augmenter la masse corporelle et la fécondité	Castañeda *et al*., 2010
	- Longévité ↓	Vorburger *et al*., 2013
	- Comportement défensif ↓	Polin *et al*., 2014
Regiella insecticola	- Résistance aux champignons	Scarborough *et al.*, 2005
	- Résistance aux parasitoïdes	Vorburger *et al*., 2009a

	-	Améliorer la condition physique de la plante hôte	Tsuchida *et al*., 2004, Tsuchida *et al*., 2011
	-	Induire une variation phénotypique	Leonardo & Mondor, 2006
Rickettsie	-	Résistance aux chocs thermiques	Chen *et al*., 2000
	-	Résistance aux champignons	Lukasik *et al*., 2013c
	-	Fitness de la plante hôte ↓	Chen et al., 2000 ; Sakurai *et al*., 2005 ; Simon *et al*., 2007
Rickettsielle	-	Changer la couleur du corps	Tsuchida *et al*., 2010 ; Tsuchida *et al.*, 2004
	-	Résistance aux champignons	Lukasik *et al*., 2013c
Fukatsuia	-	Résistance aux parasitoïdes	Donald *et al*., 2016 ; Heyworth et Ferrari, 2015 ; Patel *et al*., 2019
	-	Résistance aux chocs thermiques	Guay et coll., 2009 ; Heyworth et Ferrari, 2015
	-	Résistance aux champignons	Heyworth et Ferrari, 2015
Spiroplasme	-	Résistance aux champignons	Łukasik *et al*., 2013c
	-	Male-killer	Simon *et al*., 2011

	-	Croissance, reproduction et longévité ↓	Fukatsu *et al*., 2001
Wolbachia	-	Reproduction asexuée	De Clerck *et al*., 2014, 2015 ; Manzano-Marín *et al*., 2020
Arsenophonus	-	Spécialisation plante hôte	Wagner *et al*., 2015

↓ signifie effet négatif sur l'hôte.

Pentalonia nigronervosa est bien connu pour abriter des symbiontes *Wolbachia* en plus du symbionte nutritionnel obligatoire *B. aphidicola* (De Clerck *et al*., 2014, 2015).

La plupart des symbiontes *Wolbachia* décrits jusqu'à présent manipulent la reproduction de l'hôte en favorisant un sex ratio favorable aux femelles par le biais de quatre mécanismes : l'incompatibilité cytoplasmique, la mort des mâles, la parthénogenèse et la féminisation. Cependant, les symbiontes de *Wolbachia* peuvent également être associés à d'autres phénotypes, notamment l'influence de la capacité vectorielle de l'insecte hôte à transmettre des virus (Hedges *et al*., 2008 ; Kaur *et al*., 2021). En plus, les symbiontes *Wolbachia* sont notoirement rares chez ces insectes, mais des découvertes récentes suggèrent que *Wolbachia* pourrait être utilisé pour contrôler les maladies virales des plantes véhiculées par les insectes (Gong *et al*., 2020). Comme *Wolbachia* a été détecté de façon récurrente chez *P. nigronervosa*, cette espèce de puceron représente un modèle intéressant pour étudier les interactions entre les symbiontes de *Wolbachia* et les virus des plantes chez un insecte phytophage.

Chapitre 4 :

Écologie chimique des relations plantes - insectes (cas des pucerons)

4.1. Introduction

La communication entre insectes ou entre insecte et son environnement biotique se réalise essentiellement par l'intermédiaire des signaux chimiques : « les sémiochimiques ». Ces substances organiques, volatiles ou non volatiles, sont classées en différentes catégories selon leurs natures chimiques, selon leurs effets sur d'autres organismes, et selon l'organisme bénéficiaire (Mercier, 2013). D'après la nature de l'espèce bénéficiaire sur laquelle ces substances agissent dans leur interaction, on distingue : les phéromones (action intraspécifique) et les substances allélochimiques (action interspécifique) (Brossut, 1996). Les phéromones sont classifiées selon leur fonction. Certaines interfèrent directement sur le comportement (phéromones incitatrices ou de déclenchement) et d'autres agissent de manière différée sur la physiologie (phéromones modificatrices ou d'induction). On a ainsi les phéromones sexuelles, les phéromones d'agrégation, les phéromones de piste, les phéromones d'espacement et les phéromones d'alarme. Les substances allélochimiques, quant à elles, peuvent être bénéfiques à l'émetteur ou au récepteur. On les classe ainsi en trois groupes : les allomones, les kairomones et les synomones. Les allomones ne sont bénéfiques qu'à l'organisme qui les émet, les kairomones procurent un avantage uniquement à l'organisme qui les reçoit et les synomones sont

favorables à la fois à l'organisme qui les émet et à celui qui les reçoit (Figure 13) (Nordlund & Lewis, 1976 ; Durieux, 2010). De ce fait, les composés volatils émis par les bananiers, ayant des effets sur le comportement alimentaire de *P. nigronervosa*, sont donc des kairomones.

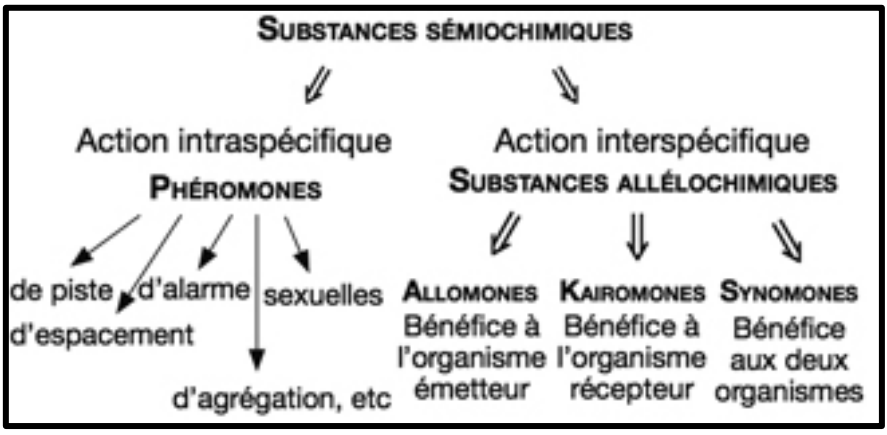


Figure 13. Différents médiateurs chimiques (d'après Brossut, 1996).

4.2. Localisation et choix de la plante hôte par le puceron

Le puceron ailé se caractérise par un vol lent. Après sa dispersion, il recherche de nouvelles plante-hôtes pour assurer ses besoins nutritionnels et sa reproduction. En l'absence de vent fort, cette localisation d'hôte se fait volontairement, en fonction de la spécificité puceron-plante, notamment la perception de signaux physico-chimiques (Han *et al*., 2012), tels que les caractères morphologiques, la texture des feuilles, et surtout la composition chimique de la plante (Bruce *et al*., 2005b). Grâce à leurs systèmes sensoriels bien développés, les pucerons utilisent des stimuli visuels, olfactifs, tactiles

ou gustatifs pour distinguer les plantes appropriées de celles qui ne le sont pas (par exemple, toxiques, répulsives, pauvres en nutriments) (Stam *et al*., 2014). Comme la couverture végétale dans la nature est souvent dense et très diversifiée, la faible acuité visuelle des pucerons (Holopainen *et al*., 2009 ; Döring, 2014) ne leur permet pas de cibler leur plante-hôte. La localisation d'une plante hôte par les pucerons se fait alors principalement par des stimuli olfactifs, notamment des odorants volatils (Döring, 2014 ; Döring & Röhrig, 2016).

4.3. Rôle des COV dans la localisation et l'acceptation de la plante hôte

Pendant longtemps, les rôles des COV présents dans l'air sur le comportement du puceron sont restés incertains. Soutenant que le puceron se pose à la fois sur des plantes-hôtes et non hôtes, les chercheurs considéreraient dans le passé que les COV des plantes ne jouaient pas un rôle significatif dans la recherche d'hôtes et que l'olfaction des pucerons ne se produisait qu'après leur atterrissage sur la plante (Kennedy *et al*., 1959). Cependant, des recherches plus récentes ont mis en évidence l'importance du sens olfactif dans l'écologie chimique du puceron (Chapman *et al*., 1981; Nottingham *et al*., 1991). Il est maintenant bien établi que les COV influencent le vol du puceron à des distances supérieures à un mètre (Chapman *et al*., 1981), son atterrissage (Nottingham and Hardie, 1993), et sa décision de rester ou non sur la plante (Pickett *et al*., 1992; Webster, 2012) avant, au cours et après son installation (Storer *et al*., 1996). L'olfaction (perception sensorielle des COV) offre au puceron la capacité de déterminer la qualité de l'hôte, et même d'établir une préférence entre les plantes

d’espèces différentes, ou même entre des plantes de qualités différentes au sien d’une même espèce. L’analyse des mélanges olfactifs permet également au puceron de différencier les plantes saines des virosées (Alvarez *et al*., 2007; dos Santos *et al*., 2015), ou encore les plantes attaquées par des ravageurs de celles non-attaquées (Hegde *et al*., 2011).

En effet, les virus de plantes peuvent modifier les profils métaboliques et les réponses des plantes aux stress biotiques et abiotiques (Whitham & Wang, 2004 ; Xue *et al*., 2008). Ces effets se produisent en raison de l'exploitation des ressources de la plante-hôte par l'agent pathogène et à travers des interactions directes entre les composants viraux, les protéines et structures cellulaires de la plante-hôte (Whitham & Wang, 2004). Par exemple, chez les plantes infectées, la respiration est stimulée par rapport à celles des plantes saines (Fereres *et al*., 1990) alors que la teneur en chlorophylle et le taux de photosynthèse peuvent être réduits dans les feuilles infectées (Jensen & van Sambeek, 1972). D'après Pherobase et une enquête bibliographique, ces COV identifiés sont connus pour jouer un rôle dans la lutte contre les insectes, et les maladies des plantes.

4.4. Structure et spécificité du système olfactif des pucerons

Comme chez tous les insectes, l’évolution a doté les pucerons des systèmes sensoriels (système de perception) adaptés aux conditions de son environnement (Holopainen, 2008). Des sensilles olfactives (rhinaries) (Bromley & Anderson, 1982; Bruno *et al*., 2018) présentes sur leurs deux antennes (de 3 à 6 segments) lui permettent de détecter

les COV diffusés dans l'air (Schmuker *et al*., 2007). On distingue des rhinaries primaires localisées au niveau du 5e et 6e segment des antennes et des rhinaries secondaires sur le 3e et le 4e (parfois sur le 5e) segment (Visser & Piron, 1995). Les alata de *P. nigronervosa* sont effet connus pour avoir des rhinaries secondaires sur le 3e, 4e et 5e segments antennaires (Voegtlin *et al*., 2003).

Chaque espèce possède des récepteurs olfactifs spécifiques de certains composés ou d'une gamme de composés. Les mécanismes d'olfaction font intervenir des protéines chimiosensorielles « chemosensory protéines (CSP) » qui solubilisent les COV, des protéines liant les COV dans la lymphe sensillaire de leurs antennes « odorant-binding protéines (OBP) », et de nombreux neurones olfactifs (organisés en glomérules) (Picimbon, 2002 ; Hallem & Carlson, 2006). La perception des COV génère des influx nerveux permettant au puceron de décoder, moyennant son système nerveux (système d'intégration), les COV perçus (Kollmann *et al*., 2011). L'activité olfactive peut être étudiée par la technique d'électroantennographie (EAG). Des récepteurs permettent au puceron de déterminer les COV des plantes-hôtes, tandis d'autres lui indiquent les COV des plantes non-hôtes (Nottingham *et al*., 1991 ; Pickett *et al*., 2017). Un récepteur peut être activé par plusieurs composés et un composé peut activer plusieurs récepteurs olfactifs, ce qui procure un nombre très élevé de combinaisons actives sur le comportement des pucerons (Hallem & Carlson, 2006 ; Schmuker *et al*., 2007). La chimiosensibilté olfactive diffère selon l'espèce de puceron. En effet, la réponse à la perception d'un même composé ou d'un même mélange de COV, n'est pas souvent analogue pour des

espèces différentes (Bruce *et al*., 2005a; Legeay *et al*., 2018). Ceci dépend de divers facteurs, principalement liés à l'anatomie des systèmes olfactifs mais aussi à des facteurs environnementaux qui modulent leurs réponses. Chaque espèce possède des récepteurs olfactifs spécialisés à certains composés spécifiques (Visser & Piron, 1995). L'activité des rhinaries, dont le nombre et la forme varient selon les espèces, change en fonction des caractéristiques des COV perçus (type de composé, forme, nombre de carbone, groupe fonctionnel, etc.) (Pickett *et al*., 1992; Haddad *et al*., 2008; Webster, 2012 ; Bruno *et al*., 2018) et selon l'expression de CSP et d'OBP également variable selon les espèces volatiles: HIPVs (Herbivore induced plant volatiles ; en Français : Volatils végétaux induits par les herbivores) » permettent aussi l'attraction des entomophages (Choh *et al*., 2004; Mutyambai *et al*., 2016). Ainsi, des changements dans le métabolisme secondaire de la plante stimulent la synthèse et la libération des substances volatiles des feuilles vertes « Green Leaf Volatiles (GLVs) » (e.g. (Z)-3-hexénal, (Z)-3-l'acétate d'hexenyl et (Z)-3-hexène-1-ol) (Dudareva *et al*., 2006 ; Darshanee *et al*., 2017).

D'autre part, suite à des déficits en eau ou en éléments nutritifs, les plantes augmentent quantitativement l'émission de certaines molécules et baissent la quantité d'autres, elles peuvent émettre également des COV spécifiques (Branco *et al*., 2010; Holopainen & Gershenzon, 2010). Aussi, en provoquant un stress mécanique, des interventions comme la taille, impactent considérablement les émissions des plantes (Llandres *et al*., 2018). De ce fait, la conduite culturale (e.g. l'irrigation, la fertilisation, la taille, etc.) peut relativement moduler la quantité et la

qualité de COV émis. Les facteurs climatiques contrôlent aussi considérablement les émissions des plantes. Ceci explique les changements des émissions des plantes au cours de la journée et en fonction de la saison (Hendel-Rahmanim *et al*., 2007). La température agit sur la pression de vapeur des molécules et la lumière est impliquée dans la biosynthèse de composés (Holopainen & Gershenzon, 2010). Dans certains cas, l'humidité relative peut également agir sur les émissions de la plante (Loreto *et al*., 1996). Pareillement, les changements gazeux dans l'atmosphère, tels que les concentrations en CO_2 (Boullis *et al*., 2017), peuvent engendrer des modifications dans le métabolisme de la plante et induire ainsi, des changements dans la composition de son profil de COV (Penuelas & Staudt, 2010; Boullis *et al*., 2015). Aussi, en fonction de divers besoins (e.g. pour favoriser sa reproduction), les plantes peuvent varier leurs émissions, et libérer des COV pour attirer des insectes pollinisateurs et des insectes qui favorisent la dispersion de ses graines (Pichersky & Gershenzon, 2002).

4.5. Nature et diversité des composés volatils dans les végétaux

Incapable de se déplacer, les végétaux sont exposés aux agressions du milieu et ne peuvent s'en soustraire (Dong *et al*., 2016). Au cours de leur évolution, ils ont compensé cette inaptitude par diverses stratégies basées sur des mécanismes morpho-anatomiques ou chimiques. Un de ces mécanismes chimiques consiste à produire des métabolites secondaires (Bruce, 2014). Ces molécules ne sont pas impliquées directement dans des fonctions physiologiques essentielles pour la plante (sa croissance et son développement), généralement assurés par

des métabolites primaires. Cependant, elles interviennent dans diverses fonctions écologiques (Swain, 1977 ; Dudareva *et al*., 2013), les interactions intra- et interspécifiques (les mutualismes, l'attraction des pollinisateurs), la défense contre divers dangers, la protection, (Birkett & Pickett, 2003; Bruce *et al*., 2005b; Ueda *et al*., 2012; Fernandez-Grandon *et al*., 2013) en réponse à des facteurs biotiques ou abiotiques. Chez les végétaux, on distingue un nombre important de métabolites secondaires, classés selon leur origine biosynthétique et leur nature biochimique, en trois grandes familles chimiques : les terpènes (=terpénoïdes), les composés azotés (les alcaloïdes) et les molécules phénoliques (les composés aromatiques). Parmi ces métabolites, on distingue les COV (Baldwin, 2010; Dudareva *et al*., 2013).

Ces sont des composés carbonés (organiques), hydrophobes, de petite taille, souvent lipophiles. Caractérisés par une pression de vapeur élevée et un faible poids moléculaire (< 300 Da), ces composés ne sont pas limités aux tissus végétaux et peuvent transiter vers l'atmosphère environnante (ou dans le sol par des racines) à la température ambiante (Dudareva *et al*., 2006). Le règne végétal synthétise des milliers de COV différents dont plus de 1700 ont été identifiés. Ils sont libérés, généralement, par divers organes de la plante (racines, feuilles, tiges, fleurs, fruits et des structures spécialisées tels que les trichomes) (Maffei, 2010). Ces COV appartiennent principalement à quatre grandes familles dont la nature chimique et le processus de biosynthèse sont différents. Premièrement, les terpènes regroupant le nombre le plus important des COV biogéniques. Ils sont biosynthétisés par les deux voies de l'acide mévalonique (MVA) et du méthylerythritol phosphate

(MEP) spécifiquement dans les plastes (les isoprènes (C5), les monoterpènes (C10), les diterpènes (C20)) et dans le cytosol (sesquitèrpenes (C15)) (Holopainen, 2008). Les 3 autres catégories de COV sont : les phénylpropanoïdes/benzénoïdes obtenus par la voie de la phénylalanine (dans le cytosol), les composés verts par la voie de l'acide linoléique (dans les chloroplastes) et les composés soufrés par des voies de biosynthèse spécifiques (Dudareva *et al*., 2006; Baldwin, 2010; Dudareva *et al*., 2013).

La majorité des COV qui possèdent des effets sur le comportement olfactif de puceron appartiennent à la famille des terpènes (Tholl & Lee, 2011). Ce sont principalement les monoterpènes (C10) et les sesquiterpènes (C15) qui peuvent subir une oxygénation et donner d'autres COV oxygénés actifs. Ces molécules sont les composants principaux des huiles essentielles aromatiques. De nombreux COV sont toxiques et délétères pour divers organismes dont la plante productrice elle-même. Pour cette raison, ils sont stockés généralement dans des structures externes spécialisées comme les trichomes glandulaires (Marin *et al*., 2006).

Le puceron perçoit un nombre très important des COV présents dans son atmosphère. Parmi ces COV, certains assurent les interactions du puceron avec son environnement (Guerrieri & Digilio, 2008; Smart *et al*., 2014) .

4.6. Rôle des COV sur le comportement alimentaire du puceron

4.6.1. La gustation chez les pucerons

Le puceron, insecte piquer-suceur, se nourrit aux dépens de la sève élaborée des plantes vasculaires. Il cherche exclusivement dans le phloème les protéines et les sucres indispensables à son développement et à sa reproduction (Sauge *et al*., 1998). Plusieurs étapes lui sont nécessaires pour atteindre sa cible. Ce comportement particulier, influencé par les métabolites des plantes, lui permet de déterminer si la plante est convenable (évaluation de sa compatibilité et de sa qualité alimentaire). Une fois sur la plante, et juste avant de pénétrer son stylet dans les tissus végétaux, le puceron réalise une évaluation superficielle grâce à des organes de gustation (système sensoriel). Des composés chimiques sont détectés par des sensilles présentes à l'extrémité du labium et lui indiquent si la plante est hôte ou non (Pettersson *et al*., 2007). Si c'est le cas, il perce ensuite l'épiderme grâce à ses pièces buccales piqueuses hautement spécialisées. Ces dernières sont constituées de quatre stylets (deux mandibulaires et deux maxillaires) regroupés dans un rostre. Ces stylets, souples et longs, lui permettent d'atteindre les tubes criblés du phloème en progressant entre les différents tissus (de façon intracellulaire). Après pénétration des stylets, il commence l'évaluation de la compatibilité alimentaire de la plante par de brèves piqûres dans l'épiderme et dans les tissus sous-épidermiques (ponctuations intracellulaires) (Giordanengo *et al*., 2010), suivi par un prélèvement de petite quantité de cytosol (Powell *et al*., 2006). Après cette phase (appelée sondage, probing) de recherche

et d'échantillonnage dans divers types cellulaires de la paroi végétale, une dernière étape importante consiste à l'évaluation de la sève élaborée dans le phloème. S'il se confirme que la plante est appropriée à son alimentation, le puceron enchaîne alors des phases passives d'ingestion dans le phloème (précédé par des phases de salivation) en alternance avec quelques phases actives dans le xylème pour répondre à un besoin en eau.

4.6.2. Les facteurs affectant le comportement alimentaire du puceron

La disponibilité en éléments nutritifs et en eau est le facteur le plus déterminant pour l'alimentation du puceron. Une diminution importante de ces ressources l'oblige à quitter la plante et à chercher une autre source d'alimentation. En plus de sa valeur nutritionnelle, d'autres caractères de la plante-hôte, principalement ses mécanismes de résistances (e.g. résistance mécanique, abondance des trichomes, antixénose1 et antibiose2) (Le Roux *et al*., 2008; Xue *et al*., 2008) et de défense (e.g. production et stockage des molécules toxiques, répulsives, antiappétantes, etc.), sont aussi déterminants pour son alimentation et donc son séjour sur la plante (Stam *et al*., 2014; Jakobs & Muller, 2018). Ainsi, tous les facteurs qui peuvent stresser la plante (Tariq *et al*., 2012) et agir sur son métabolisme peuvent également affecter, directement ou indirectement, le comportement alimentaire du puceron. Par exemple, l'infestation par des phytovirus, les attaques des ravageurs (dos Santos *et al*., 2015; Mauck *et al*., 2010a), la fertilisation (e.g. augmentation du ratio C/N, la diminution de la disponibilité en acides aminées et l'accumulation des sucres) (Sauge *et al*., 2010; Pritchard & Vickers,

2017) ou encore les facteurs génétiques de l'hôte (variété, chémotype etc.) (Jakobs & Muller, 2018) peuvent affecter le comportement alimentaire du puceron. Divers facteurs écologiques et environnementaux peuvent également l'affecter. Notamment, les conditions climatiques comme la température, mais aussi la contribution des bactéries symbiotiques qui lui apportent certains éléments (e.g. certains acides aminés, des vitamines...) (Powell *et al*., 1999; Schwarzkopf *et al*., 2013; Rabatel *et al*., 2013). Certains COV potentiellement répulsifs et/ou perturbateurs, sont également captés par les récepteurs gustatifs du puceron (Norris, 1990), ce qui peut également perturber la prise d'alimentation (Pettersson *et al*., 2007 ; Legeay *et al*., 2018). Ces COV peuvent avoir diverses origines, notamment être émis par des plantes-hôtes fortement attaquées (Quiroz, 1997), par des ennemis naturels ou encore par des plantes non-hôtes (Pickett *et al*., 2017). À ce jour, peu d'études concernent l'impact des COV, notamment ceux des plantes non-hôtes, sur les différentes phases d'alimentation des pucerons (Powell *et al*., 1999). Les rares travaux sur ce sujet font appel à des techniques analytiques ou comportementales comme la technique d'électropénétrographie (EPG) (Sauge *et al*., 2010). Powell *et al*. (1996) ont démontré que le nombre et la durée des phases de pénétration des stylets diminuent significativement quand *My. persicae* a été exposé au polymodal, un dialdéhyde sesquiterpène ayant des effets répulsif et antinourissant sur *My. persicae* (Prota *et al*., 2014). La perturbation du comportement alimentaire par les COV, pourrait avoir une incidence sur la physiologie du puceron, en particulier sur sa reproduction. C'est ce que suggère Amarawardana *et al*. (2007) pour expliquer l'effet négatif du poireau et de la ciboulette

sur *My. persicae*. Les composés volatils agissent sur la reproduction du puceron. La perception de COV qui le perturbe entraine généralement la fuite du puceron (Powell *et al*., 2006; Yarou *et al*., 2017), cependant, il n'est pas rare que le puceron demeure sur la plante hôte et se reproduise moins (Ben Issa *et al*., 2016; Ben Issa *et al*., 2017a). On constate dans la littérature plusieurs confirmations de l'effet des COV sur la reproduction du puceron. Ainsi les COV produits par des huiles essentielles de *Tagetes minuta* réduisent significativement la reproduction des pucerons (jusqu'à 100 % après 5 jours), avec un effet variable selon la quantité d'huile utilisée et l'espèce de puceron (Tomova *et al*., 2005). Facknath & Lalljee (2008) ont suggéré que la croissance et le développement des nymphes de puceron vert du pêcher sont affectés par des substances volatiles d*'Ayapana triplinervis*. Le salicylate de méthyle agit négativement sur la fécondité de plusieurs pucerons de blé (e.g. *R. padi, S. avenae*) (Pickett *et al*., 2017). Enfin l'exposition prolongée à l'(E)-β-farnesène induit la production de alates en prévision d'une migration (Hatano *et al*., 2010). Sa forte capacité à se multiplier rapidement assure au puceron le maintien de sa population et sa survie. Cependant, ses performances reproductives peuvent être fortement affectées par la qualité de son alimentation (Bermingham & Wilkinson, 2009). Une mauvaise alimentation consécutive à une perturbation du processus alimentaire a des conséquences sur le nombre des ovarioles présentes dans chacune de deux ovaires du puceron, et sur le développement des embryons dans l'ovariole (Rabatel *et al*., 2013). On a vu que la présence de COV répulsifs pouvait être responsable d'une perturbation de l'alimentation. On peut donc imaginer un effet en cascade sur la reproduction, même si le lien COV-alimentation-

reproduction n'a pas toujours été vérifié (Cao *et al*., 2014) chez beaucoup d'espèces.

Chez les bananiers, on rapporte l'accumulation d'acide sinapique (dans les parois cellulaires), de flavonoïdes, de caroténoïdes, de phénoliques, de lutéine, de zéaxanthine, de bêta-cryptoxanthine, de bêta-carotène, de catéchines, ainsi que les métabolites secondaires tels que les phénylpropanoïdes. Ces substances se retrouvent beaucoup plus dans les racines des cultivars de bananiers résistants aux nématodes (Wuyts *et al*., 2005).

4.7. L'écologie chimique un moyen de lutte contre les ravageurs

L'écologie chimique s'intéresse au rôle des composés chimiques dans des fonctions biologiques et écologiques sur les êtres vivants. Aujourd'hui, l'écologie chimique est de plus en plus présente dans les programmes de lutte contre divers arthropodes nuisibles pour l'homme, les animaux et les cultures. Au-delà de la recherche scientifique, la compréhension et le décryptage de l'écologie chimique des insectes peuvent offrir des opportunités pour développer et améliorer des éco-méthodes pour lutter contre les bioagresseurs (e.g. utilisation des phéromones, les antifeedants, etc.) (Wyatt, 2018; Koul, 2008 ; Mamoci *et al*., 2012; Fountain *et al*., 2017). Un volet important de ce vaste domaine de recherche consiste à l'exploitation de composés organiques volatils (COV) répulsifs ou perturbateurs pour gêner et/ou éloigner les insectes nuisibles (Reisenman *et al*., 2016). Cette méthode, très ancienne, remonte à des milliers d'années (e.g. la fumée et différentes huiles de plantes) (Dolan & Panella, 2011; Peterson & Coats, 2001).

Longtemps nourries d'observations empiriques, les études sur les répulsifs ont beaucoup évolué et se sont multipliées depuis la découverte en 1953 du DEET (N,N-diethyl-3-méthylbenzamide), le composé répulsif antimoustique sans doute le plus utilisé au monde. Plusieurs composés naturels et synthétiques ont été définis comme des insectifuges ou des agents perturbateurs des performances des insectes (Nerio *et al*., 2010). Pour diffuser des COV dans les systèmes de cultures une approche consiste à utiliser des diffuseurs contenant une source de COV (par exemple, des extraits de plantes, des huiles essentielles, des composés synthétiques, etc.) (Lamy *et al*., 2016). Cette approche a montré son efficacité contre plusieurs insectes (Witzgall *et al*., 2008). Néanmoins, bien que son application présente certains avantages (e.g. pas de perte de surface cultivée, possibilité d'utilisation sur des grandes exploitations), son emploi, notamment en plein champs, nécessite beaucoup de technicité (e.g. connaissance sur la concentration adéquate, contrôle de la cinétique de diffusion, etc.) (Deletre *et al*., 2016). Outre le fait que sa réalisation est délicate, le coût de cette technique est très élevé (Birkett & Pickett, 2003).

A notre connaissance, les COV émis par les bananiers sont jusqu'à présent très peu étudiés, bien que ceux émis par les fleurs, puis les fruits du bananier aient été caractérisés respectivement par Bestmann *et al*. (1997) et Facundo *et al.* (2013). Avant cette thèse, le seul travail sur les COV émis par le bananier lui-même (i.e. sa partie aérienne) est celui de Berhal *et al*., (2017), intitulé "First Characterisation of Volatile Organic Compounds Emitted by Banana Plants". Dans leur étude, les auteurs

ont identifié 11 COV sur le bananier dessert du groupe Cavendish (AAA), et 14 COV sur le plantain du groupe Pacific (AAB).

Tableau 3. Présence de COV dans les bananiers et d'autres plantes. [a]Bestmann *et al*. (1997) ; [c]Berhal *et al*. (2017) ; [b]Facundo et al (2013) ; [d]Pherobase.com

		Fleur de *Musa sp.*[a]	Fruit de *M. acuminata sp.* cv. Nanicão[b]	Cavendish[c]	Plantain du Pacific[c]	Zingibérales à l'exception des *Musa sp.*[d]	Autres[d]
1	α-pinène	✓	✓	✓	×	✓	✓
2	β-pinène	✓	×	✓	×	×	✓
3	Myrcène	✓	×	✓	✓	✓	✓
4	Limonène	✓	✓	✓	×	✓	✓
5	(E)-hex-2-énal	×	×	×	✓	×	✓
6	(Z)-β-ocimène	×	×	✓	✓	✓	✓
7	(E)-β-ocimène	×	×	✓	✓	✓	✓
8	4,8-diméthyl-1,3,7-nonatriène	×	×	×	✓	✓	✓
9	6-méthyl-5-hepten-2-one	×	×	✓	✓	✓	✓
10	Alloocimène	×	×	×	✓	✓	✓
11	Linalol	×	×	×	✓	✓	✓
12	6-méthyl-3,5-heptadien-2-one	×	×	✓	✓	✓	✓
13	(E)-β-farnésène	×	×	×	✓	×	✓
14	(Z,E)-α-farnésène	×	×	×	✓	×	✓
15	(E,E)-α-farnésène	×	×	✓	✓	✓	✓
16	Salicylate de méthyle	×	×	✓	✓	✓	✓
17	β-ionone	×	×	✓	✓	×	✓

La plupart des COV du bananier (Tableau 4) sont connus pour jouer un rôle dans les interactions plantes-insectes et la lutte contre les insectes (pherobase.com ; Stenberg *et al*., 2015). Certains d'entre eux (α-pinène, β-pinène, limonène, myrcène, (E)-β-farnésène, ocimène et linalol) sont répulsifs pour les insectes (Byers *et al*., 1979 ; Arimura *et al*., 2004 ; Francis *et al*., 2005 ; Lípez *et al*., 2011 ; Smith, 1965 ; Xu *et al*., 2018), tandis que d'autres (salicylate de méthyle) sont particulièrement attractifs pour les ennemis naturels des pucerons (James, 2003 ; James & Price, 2004 ; Xu *et al*., 2018). D'autres volatils, comme le nonanal est attractif pour les insectes hématophage (Moustiques *Culex mosquitoes*), tandis que le (E)-hex-2-énal est attractifs pour divers insectes phytophages et les ennemis naturels (prédateurs et parasitoïdes) (Halitschke *et al*., 2008, Hoballah & Turlings, 2005 ; Syed & Leal, 2009 ; Xu *et al*., 2020).

Il est établi que les mêmes COV peuvent être attractifs et répulsifs, en fonction de leur taux d'émission. C'est le cas du (E)-β-farnésène, qui est une phéromone d'alarme chez les pucerons (Francis *et al*., 2005), mais qui peut agir à très faible concentration comme une phéromone d'agrégation, fournissant des informations sur la qualité de la plante hôte (Verheggen *et al*., 2009). Cependant, certaines études sur le comportement des insectes suggèrent que la composition du mélange de volatiles est cruciale dans l'attractivité des insectes, et que des mélanges spécifiques sont plus attractifs que les composés individuels (Visser *et al*., 1996 ; Natale *et al*., 2003 ; Toby *et al*., 2005). Une stratégie push-pull consistant à repousser les pucerons par le (E)-β-farnésène et à attirer les ennemis naturels par le salicylate de méthyle

est l'un des modèles convaincants d'utilisation de substances sémiochimiques dans la lutte contre les pucerons (Xu, 2018).

PARTIE II : RÉSULTATS

Chapitre 5 :

Évaluation de l'effet du BBTV sur l'attractivité de *Pentalonia nigronervosa* Coquerel, ainsi que sur l'émission des composés organiques volatils (COV) impliqués dans cette attractivité

Préambule

La banane et le plantain (*Musa* spp.) fait partie des 20 premières cultures vivrières au monde. Sa culture joue un rôle très important dans la sécurité alimentaire et constitue une source des revenus pour des millions des populations dans régions tropicales et subtropicales (Hook, 2008 ; FAO, 2020). Sa productivité en Afrique subsaharienne par exemple reste faible (FAO, 2020), principalement en raison de l'impact négatif généralisé de plusieurs ravageurs et maladies endémiques et exotiques, y compris le bunchy top du bananier, qualifié de l'affection virale la plus dévastatrice du bananier au monde, dont l'agent causal est le *Banana bunchy top virus* (BBTV) (Chandrassekar *et al*., 2011 ; Qazi, 2016). Le virus est transmis de manière persistante, circulatif et non propagatif par le puceron du bananier, *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (*Hemiptera* : *Aphididae*). La reconnaissance des plantes hôtes par les insectes phytophages et de ces dernières par leurs ennemis naturels se fait essentiellement par des composés organiques volatils (COV) libérés par les plantes, et dont les qualités et les quantités peuvent varier avec l'infection d'un phytovirus (Eigenbrode *et al*.,

2018). Une utilisation rationnelle des odeurs émises par les bananiers, en combinaison avec d'autres méthodes de lutte telles que l'utilisation des ennemies naturels de *P. nigronervosa*, permettrait d'éviter la colonisation des bananiers par *P. nigronervosa*. Des questions suivantes étaient alors posées à l'entame de ce Chapitre : (i) Quelle serait la préférence de *P. nigronervosa* entre les bananiers sains et les bananiers infectés au BBTV (plantain et dessert) ? (ii) Le profil des COV émis par les bananiers (plantain et dessert) infectés serait-il le même (en qualité et en quantité) que celui émis par les bananiers sains ?

Dans ce travail, des études comportementales ont été menées afin d'évaluer la préférence de *P. nigronervosa* vis-à-vis des bananiers sains et infectés (plantain et dessert). En plus, les COV émis par des bananiers sains ou infectés au BBTV ont été identifiés à l'aide d'un système d'extraction dynamique et d'une analyse par spectrométrie de masse par chromatographie gazeuse (GC-MS). Ce Chapitre a mis en évidence l'effet indirect du BBTV sur le vecteur, à travers la modification des caractéristiques phénotypiques du Bananier. Les données de ce Chapitre (5) nous ont permis d'orienter cette thèse dans la mise en place des études présentées dans les Chapitres 6, 7 et 8.

Article n°1:

Banana Plant Infected with *Banana Bunchy Top Virus* Attracts *Pentalonia nigronervosa* Aphids Through Increased Volatile Organic Compounds Emission

(Article published in Journal of Chemical Ecology in 2021, https://doi.org/10.1007/s10886-021-01298-3)

Ignace Safari Murhububa[1,2], Kévin Tougeron[1,3], Claude Bragard[4], Marie-Laure Fauconnier[5], Espoir Bisimwa Basengere[2], Jean Walangululu Masamba[2], Thierry Hance[1]

Abstract

Banana plants are affected by various viral diseases, among which the most devastating is the "bunchy top", caused by the *Banana bunchy top virus* (BBTV) and transmitted by the aphid *Pentalonia nigronervosa* Coquerel. The effect of BBTV on attraction mechanisms of dessert and plantain banana plants on the vector remains far from elucidated. For that, attractiveness tests were carried out using a two columns olfactometer for apterous aphids, and a flight cage experiment for alate aphids. Volatile Organic Compounds (VOC) emitted by either healthy or BBTV-infected banana plants were identified using a dynamic extraction system and gas-chromatography mass-spectrometry (GC–MS) analysis. Behavioral results revealed a stronger attraction of aphids towards infected

banana plants (independently from the variety), and towards the plantain variety (independently from the infection status). GC–MS results revealed that infected banana plants produced VOC of the same mixture as healthy banana plants but in much higher quantities. In addition, VOC produced by dessert and plantain banana plants were different in nature, and plantains produced higher quantities than dessert banana trees. This work opens interesting opportunities for biological control of *P. nigronervosa*, for example by luring away the aphid from banana plants through manipulation of olfactory cues.

Keywords: *Musa* spp., Phytovirus, Behavior, Volatile organic compounds, Metabolites, Biological control.

* Ignace Safari Murhububa: ignace.murhububa@uclouvain.be

[1]Earth and Life Institute, Ecology and Biodiversity, UCLouvain, Croix du sud 4-5/L7.07.04, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

[2]Faculté Des Sciences Agronomiques, Université Catholique de Bukavu, Bukavu, Democratic Republic of the Congo

[3]UMR CNRS 7058 EDYSAN (Écologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), Université de Picardie Jules Verne, 33 rue St Leu, 80039 Amiens Cedex, France

[4]Earth and Life Institute, Applied Microbiology, UCLouvain, Croix du sud 2/L7.05.03, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgium

[5]General and Organic Chemistry Laboratory, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Gembloux, Belgium

Introduction

Banana viral diseases are responsible for major economic damages to producers (Kumar *et al*., 2015). They constitute a major constraint in banana fruit production and threaten worldwide germplasm distribution (Mobambo *et al*., 2010; Mukwa *et al*., 2014; Shiragi *et al*., 2010; Thomas *et al*., 1994; Walangululu *et al*., 2010). Banana bunchy top disease, caused by the *Banana Bunchy Top Virus* (BBTV), is recognized as the most devastating viral disease of banana plants in the world (Chandrassekar *et al*., 2011; Qazi, 2016; Thomas & Iskra-Caruana, 2000), sometimes resulting in 100% yield loss (Qazi, 2016). BBTV is transmitted by the banana aphid, *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (*Hemiptera*: *Aphididae*). BBTV belongs to the *Nanoviridae* family, genus Babuvirus, whose genome is composed of several segments of single- stranded circular DNA, encapsidated in small isometric particles (18–20 nm), which makes it one of the smallest phytoviruses (Burns & Dale, 1995; Mukwa *et al*., 2016; Stainton *et al*., 2015; Timchenko & Bernardi, 2007). Currently, BBTV is present in Africa, Asia, and Australia, while its vector is located in all regions of the world, even where BBTV is not yet reported, such as in South America and Europe (CABI, 2021).

Infected plants show dwarfism, narrow leaves, chlorosis of leaf margins, and discontinuous dark-green streaks on leaves, petioles, and pseudostem. The leaves of infected plants become progressively smaller and stand more erect, giving the plant a bunchy appearance (Gatsinzi, 1987). In the plant, BBTV is restricted to phloem tissues. In infected plants, the cells surrounding the phloem vessels contain an

abnormal number of chloroplasts, giving rise to the macroscopic symptoms of dark green streaks. After infection, BBTV replicates and gradually accumulates in all parts of the plant, except in leaves formed before infection, in which the virus is present, but does not replicate. This explains the fact that the vector is not able to acquire the virus from these leaves (Hafner *et al*., 1995; Iskra-Caruana, 2003).

The vector aphid *P. nigronervosa* transmits the virus in a persistent, circulative and non-propagative manner (Iskra-Caruana, 2003; Anhalt & Almeida, 2008). This implies a lifelong retention of the virus in the vector, with a relatively long acquisition time during a meal on an infected plant (a few hours to many days; persistent transmission). After its ingestion by the vector, the virus reaches the intestine, crosses the intestinal wall, and diffuses from the hemolymph into the salivary glands. There it becomes transmissible to a new plant (circulative transmission), without any additional viral replication during transfer (non-propagative transmission) (Gray *et al*., 2014; Raccah & Fereres, 2009).

The search and selection of the host plant by aphids remain essentially facilitated by volatile organic compounds (VOC) emitted by plants (Bernasconi *et al*., 1998; Pickett *et al*., 2013; Piesik *et al*., 2013), even if in some situations, visual stimuli (color, movement, shape) seem to be involved (Döring, 2014; Leather, 2014). Plant VOC are detected by insect olfactory systems located on their antennae (Bernasconi *et al*., 1998; Piesik *et al*., 2013; Hardie *et al*., 1995). In herbivorous insects such as aphids, VOC influence host plant searching behavior, which can lead to potential virus transmission (Berenbaum, 1995; Herrbach,

1985; Whittaker & Feeny, 1971). Consequently, variation in the composition (quality and quantity) of VOC emitted by their host plants can trigger changes in aphid feeding preferences (Peccoud *et al*., 2010; van Emden, 1973).

Previous studies showed that VOC emissions vary depending on the plant's viral infection status (Bosque-Pérez & Eigenbrode, 2011; Chaudhry *et al*., 1998). For example, Eigenbrode *et al*., (2002) showed that the profile of VOC emitted by potato plants (*Solanum tuberosum*) infected with *Potato Leafroll Virus* (PLRV) differs to that of healthy plants in terms of composition and concentration. The study by Jiménez-Martínez *et al*., (2004) shows that wheat plants infected with Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV) emit VOC in greater concentrations than healthy wheat plants. Virus-induced differences in VOC emissions may modify aphid preference to some kinds of host plants. The aphid *Myzus persicae*, is preferentially attracted to potato plants (*S. tuberosum*) infected by PLRV compared to healthy plants or plants infected by other viruses (Bosque-Perez & Eigenbrode, 2011; Eigenbrode *et al*., 2002). The same situation occurs with *Rhopalosiphum padi*, an aphid that transmits BYDV in wheat (Jimenez-Martinez *et al*., 2004; Srinivasan *et al*., 2006). On the other hand, some aphids avoid infected plants, when they are hosts of lower quality. This is the case for example in *Cucurbita pepo*, where plants infected with the *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) are of low quality for aphid vectors, especially *My. persicae* and *Aphis gossypii*, com- pared to healthy plants (Mauck *et al*., 2010b). It is suggested that CMV manipulates the plant to induce the production of volatile compounds that falsely attract

vectors to infected plants that they then leave quickly (Mauck *et al*., 2010b). In addition, the preference of vectors for infected plants may turn into a preference for uninfected plants after the acquisition of the pathogen, thereby accelerating the spread of the disease (Carmo-Sousa *et al*., 2014, 2016; Eigenbrode *et al*., 2018; Ingwell *et al*., 2012; Rajabaskar *et al*., 2014).

The topic of chemical interactions between insects and their biotic environment is currently the subject of increasing research for biocontrol of phytophagous insects (Bosque- Pérez & Eigenbrode, 2011; Chesnais *et al*., 2019a, b; Mauck *et al*., 2010a; Xu *et al*., 2018). The conclusions of Eigenbrode *et al*. (2002, 2018) and Mauck & Chesnais (2020) tend to reinforce the "vector manipulation hypothesis", predicting that a virus will promote its propagation from plant to plant by influencing the selection behavior and movement of the vector (Ingwell *et al*., 2012; Roosien *et al*., 2013). Exploring ways of manipulating the behavior of BBTV vectors is especially relevant in the current context of increasing resistance to synthetic insecticides and issues regarding their negative impact on the environment and human health (Edwards & Tchounwou, 2005; Penrose *et al*., 1994). Recently, Berhal *et al*. (2017) characterized the VOC released by the aerial part of healthy banana seedlings. However, the impact of BBTV on the attractiveness of banana plants (*Musa* spp.) to *P. nigronervosa* remains unknown.

Our study aimed at better understanding the interaction between banana plants of dessert and plantain varieties, infected or not by the BBTV, and the aphid vector. In particular, we addressed the question of whether BBTV is capable of modifying the VOC emissions of banana

trees to influence *P. nigronervosa* attraction. We hypothesize that the composition and quantities of VOC emitted by banana trees are affected by BBTV infection and that infected banana trees emit VOC are more attractive to *P. nigronervosa* than those emitted by healthy plants. Healthy and infected young plants of two most representative varieties of bananas were used in this work; Cavendish dessert bananas (AAA genome) and Plantain Pacific bananas (AAB genome) (Lorenzen *et al.*, 2010; Ploetz, 2015; Simmonds, 1962), to assess the influence of the virus on VOC emissions and the behavior of *P. nigronervosa*. From a more applied point of view, an additional goal to this study is to determine if some VOC profile could be used to repel or falsely attract banana aphids.

Material and Methods

Insects and Plants

Pentalonia nigronervosa colony was obtained from a parthenogenetic female collected from a healthy banana plant in the province of South Kivu (Democratic Republic of the Congo), and continuously reared on live bananas, disease free, and planted in pots (Thermoformed red MCI 17:2L pot) on a potting soil substrate. Aphids on banana plants were kept in cages (200 × 100 × 100 cm) of small mesh nets, placed in airconditioned chambers at 25 ± 2 °C, a relative humidity of 40 ± 5%, and an artificial 12 h/12 h photoperiod. Experiments were also carried out under these conditions. Before their use in each attractiveness test, adult aphids were taken from banana plants and placed in glass Petri dishes for at least 8 h to starve them. Alate aphids were obtained when

the density of the aphid population increased sharply, or when the quality of bananas decreased significantly (Braendle *et al*., 2006; Williams & Dixon, 2007).

The plant material was constituted of dessert bananas of cultivar Cavendish (strict triploid *M. acuminata*—AAA), and plantains of the Pacific cultivar (hybrids and triploids *M. balbisiana*—AAB), either symptomatic (with symptoms of BBTV) or asymptomatic (without disease symptoms). This resulted in four plant treatments that were used for both the behavioral experiment with aphids and for VOC extraction and identification: Healthy Dessert Bananas (HDB), Healthy Plantain Bananas (HPB), Infected Dessert Bananas (IDB), Infected Plantain Bananas (IPB). Plants were identified and collected in peasant plantations in South Kivu in the Democratic Republic of the Congo (Dowiya *et al*., 2009), with the support of the International Institute of Tropical Agriculture- IITA/Kalambo (Bukavu, RD Congo). All these plants were maintained and multiplicated in the tropical greenhouse (greenhouse no. 13; G2) of the Université catholique de Louvain (Louvain-la-Neuve, Belgium) by the PIF technique (Plantes Issues de Fragments de tiges : Annex 1) (Kwa, 2003, 2009; Meutchieye, 2009; Mbunzu *et al*., 2019; Sadom *et al*., 2010). They were irrigated daily, until they were 40–60 days of age (4–6 leaf stage), before they were used in bioassays with apterous and alate aphids, and assessment of VOC. Transmission of the virus by mechanical inoculation has never been successful (Lepoivre, 2003; Thomas *et al*., 1994), however, BBTV accumulates in the pseudostem, in the basal meristem of the bulb, and in the leaf (Hafner *et al*., 1995). Therefore, suckers from an infected strain are automatically infected and show severe BBTV

infection symptoms (van Regenmortel *et al*., 2000; Thomas & Iskra-Caruana, 1999). The infected plants were obtained directly from the bulbs of infected banana plants. Each plant was tested twice by PCR (Supplementary Table S1) to confirm the genotype (Supplementary Figure S1) and the infection status (Supplementary Figure S2).

Attraction on *P. nigronervosa*

Apterous aphids

The apterous *P. nigronervosa* attractiveness on different types of banana trees was determined using a two-column glass olfactometer (Y olfactometer), associated with an air flow, set at a pressure of 2.5–3 bars, and placed on a light table (Fig. 1). Banana seedlings used were in the 4th to 6th leaves stage and contained in glass bells designed for this purpose. Four choice tests were carried out: HDB–HPB, HDB–IDB, HPB–IPB, and IDB–IPB (i.e., one for each plant genotype and infection status comparison). In addition, three control choice tests were done: HDB–S (Soil) (pot containing the soil alone), HPB–S, and S–E (Empty). Each test was repeated 30 times, and within each repetition, 20 apterous adult aphids, at reproduction age, were placed at the central neutral chamber of the olfactometer. The banana plants and apterous aphids used in each repetition and each treatment had never been used before. We considered that an individual aphid had made a choice between one of two sources of VOC when they passed the middle of the tube connecting the neutral chamber to one of two olfactory sources after 30 min of observation. To prevent odor residue remaining from one experiment (or repetition) to the next, the pots

containing the plants were inverted and the olfactometer was washed and sterilized with 70% ethanol, then dried for five minutes before further reuse.



Fig. 1. Two-way olfactometer, used to assess the attractiveness of apterous aphids.

Alate aphids

The attractiveness of the different types of banana plants on alate *P. nigronervosa* was determined using a wooden cage (200 × 100 × 100 cm) (Fig. 2), equipped with an electric fan and a fluorescent lamp (photoperiod: 12 h/12 h), allowing short distance aphid flights. The front of the cage was covered with a fine mesh fabric to facilitate experimental handling. Each test was repeated 20 times, and within each repetition, two types of banana plants at the 4th to 6th leaves stage were placed in the cage. Twenty alates aphids per cage were put in an open Petri dish, on the other side of the cage and at an equal distance

from both plants (≈ 15 cm), to test their choice between the two olfactory sources. Four tests were performed: HDB–HPB, HDB–IDB, HPB–IPB, and IDB–IPB. As for apterous aphids, two other comparisons serving as controls were done: HDB–S (pot containing the soil alone), and HPB–S.

Aphid choices were assessed by counting the number of aphids found on each of two types of banana plants 24 h after they were deposited in the cage, and each choice experiment was repeated 20 times. The banana plants and alate aphids used in each repetition and each treatment had never been used before.

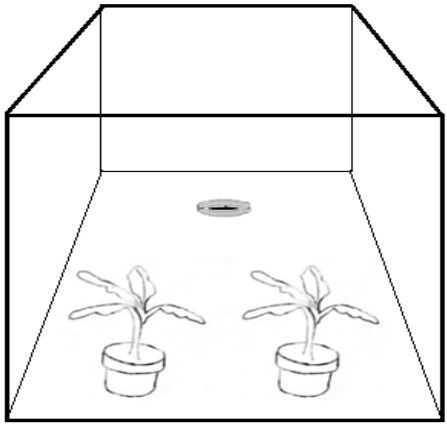


Fig. 2. Experimental cage for short-range aphid flight, used to assess the attractiveness of alates of *P. nigronervosa*.

VOC extraction and analysis

VOC extraction

The VOC were collected using a dynamic headspace collection system made up of a glass enclosure (40L), hermetically sealed, and connected to a vacuum pump (Rocker 300, Vacuum Pressure Pump, 80 mBar, HG 680 mm, 20 L. min^{-1}, NSE, GA, USA). In the glass enclosure, a live banana plant (never used before) ≈ 50 cm high (4–6 leaves) from each genotype (plantain and dessert) and each BBTV status (infected and healthy) was placed. The pots in which the banana plants were planted were covered with aluminum foil to prevent the emission of VOC from the underground part of the plant and the VOC of the potting soil (Fig. 3). Another pot containing only potting soil and also covered with aluminum foil served as a control in this part of the study. All the treatments (HDB, IDB, HPB, IPB) and controls (potting soil alone) were repeated five times. Each banana plant was used only once, in a single repetition and treatment group. Each enclosure was covered with a Pyrex bell carrying two openings to which were connected two Teflon pipes (ELNEO: TFL 8 × 6 NATUR). One of the two pipes was connected to an activated carbon filter cartridge which purifies the air entering the system, and the other was connected to a bottle containing silica gel dehydrating the air rich in VOC from the enclosure, before passing through the trap cartridge (TENAX TA wax trap, Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Germany), capturing the extracted VOC. The cartridge outlet was connected to the pump via an adjustable flow valve maintaining the airflow at 500 mL.min−1. The entire extraction device was placed in an air-

conditioned room, at a temperature of 25 ± 2 °C, a relative humidity of 40 ± 5%, and an artificial photoperiod of 12 h/12 h, and the VOC collection lasted 24 h.

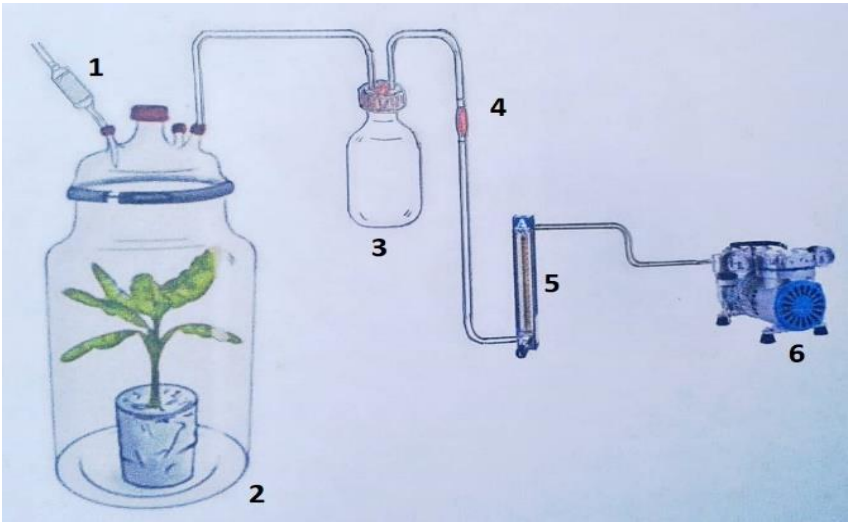


Fig. 3. Schematic of the dynamic system for the extraction or isolation of VOC from banana plants.

1. Activated carbon filter cartridge
2. Enclosure (40 L bottle) containing the banana plantlet
3. Enclosure (1L bottle) containing silica gel
4. TENAX TA wax trap cartridge
5. Air flow meter
6. Vacuum pumps

VOC analysis

After each extraction from the four types of banana trees (HDB, IDB, HPB, IPB) and of the control, the TENAX car- tridge loaded with VOC was thermally desorbed (Thermal desorption unit, Gerstel, Mülheim an der Ruhr, Deutschland) at 280 °C for 10 min. The analysis of captured VOC was made using Gas Chromatography (7890A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) coupled with Mass Spectrometry (5973, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) (GC–MS). The identification of VOC was carried out by comparing the retention time and the mass spectra of the data obtained with available standards. Quantification was performed by comparing the peak areas of the com- pounds with the standard peak areas (peak surfaces) provided by the Chemstation software (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). The retention times (in minutes) and peak areas (expressed in number of hits on the detector) of the chromatograms obtained served so respectively as qualitative and quantitative parameters in this comparison. The validation of the VOC extracted for each treatment was motivated by their presence in at least four replicates out of five (De Backer *et al*., 2015), and by their absence in the control sample (potting soil alone). This protocol allowed comparing both the nature and the concentration of VOC emitted by the aerial part of banana plantlets of each of the four treatments.

Statistical analyses

Comparisons of decisions made by both alate and apterous aphids between each pair of olfactory sources were carried out using Student's t-tests (the normal distribution of our data was visually assessed and confirmed using the Shap- iro–Wilk test).

Biplot PCAs of the 16 detected VOC were constructed using the factoextra package (Kassambara & Mundt, 2017). Two PCAs representations were done; one by banana plant varieties (dessert or plantain) and one by grouping banana plants according to their infection status (infected or healthy). Ellipses were added around the barycenter of the groups using a 95% CI. After that, the Adonis function from the package vegan (permutational MANOVA) has been used by calculating a Jaccard distance matrix and running 999 permutations, to assess if the composition of the set of volatile compounds differed between varieties and between infection status (i.e., differences among created groups on the PCA). Then, the effect of the variety factor (two levels) and the infection state factor (two levels), as well as that of the interaction of both factors on the quantity of each VOC emitted were analyzed. To do so, Generalized Linear Models (GLMs) were fitted to the data, for each VOC, using a negative binomial distribution family for count data. Models were tested using the Anova function of the car package, and a Wald statistic. Then, in a more detailed approach, we compared the mean recorded value of each volatile among the four treatments. For each of the VOC detected and measured, pairwise comparisons of the peak areas were performed using negative binomial GLMs, between HDB- HPB, HDB-IDB, IDB-

IPB, and HPB-IPB. All analyses were carried out in R (v. 4.0).

Results

Attraction of aphids by banana plants

In the validation tests comparing the attraction of banana aphids towards a banana plant or a control (potting soil only), the apterous and alate aphids were each time more attracted by the banana plant, regardless of the genotype (Supplementary Table S2). Apterous aphids were attracted in similar ways to potting soil alone (S) or empty (E) pots (Supplementary Table S2).

The apterous adults of *P. nigronervosa* were more attracted to IDB than to HDB ($t = -5.0$, $p < 0.001$, Fig. 4a), and more to IPB than to HPB ($t = -2.3$, $p = 0.02$, Fig. 4b). They were also more attracted to IPB than to IDB ($t = -2.8$, $p < 0.01$, Fig. 4c), and to HPB than to HDB ($t = -2.3$, $p = 0.02$, Fig. 4d).

The alate adults of *P. nigronervosa* were more attracted to IDB than to HDB ($t = -5.04$, $p < 0.001$, Fig. 5a), and to IPB than to HPB ($t = -6.68$, $p < 0.001$, Fig. 5b). In addition, alate aphids were significantly more attracted to IPB than to IDB ($t = -2.65$, $p = 0.01$, Fig. 5c), while they were not differentially attracted to HDB and HPB ($t = -1.48$, $p = 0.15$, Fig. 5d). The attraction of both morphs of *P. nigronervosa* to banana plants, therefore, varies according to both the infection status and genotype of banana plants.

Identification of VOC emitted by healthy and infected banana plants

A total of 16 volatile organic compounds were detected (Fig. 6), of which 12 VOC were emitted by dessert bananas and 13 by plantains (regardless of the infection status). Three compounds (α-pinene, β-pinene, and limonene) were specific to dessert banana, while four compounds (4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene, (E)-β-farnesene, (Z, E)-α-farnesene, and alloocimene) were specifically released by plantain banana plants (infected and healthy). Nine were common between the two genotypes ((E)-hex-2-enal, (E)-β-ocimene, (Z)-β-ocimene, 6-methyl-3,5-heptadien-2-one, 6-methyl-5-hepten-2-one, linalool, methyl salicylate, myrcene, and nonanal), corresponding to 75% of the total for dessert bananas, 69% for plantain, and to 56% of the total of all emitted VOC. Other compounds were identified but not retained in the final list because of their presence in the control treatment (potting soil only), and in less than four replicates out of the five (De Backer *et al*., 2015).

Results revealed that these VOC varied in quality and quantity between genotypes (dessert and plantain bananas) regardless of the infection status, while they varied mainly in quantity between infected status, regardless of the genotype (Fig. 6, Table 1). Overall, the variety ($F = 21.0$, $R2 = 0.43$, $p < 0.001$) and the infection status ($F = 8.2$, $R2 = 0.17$, $p < 0.01$) had an effect on VOC emitted by banana plants, with a slight interaction effect between both variables ($F = 3.3$, $R2 = 0.07$, $p = 0.02$). This means that for some VOC, the effect of the virus differed between both varieties (permutational MANOVA, Fig. 6).

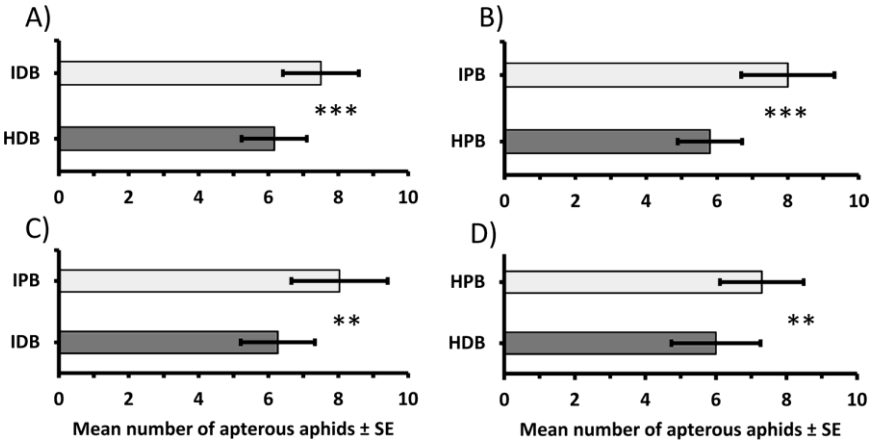


Fig. 4. Effect of banana plant treatment on the choice of apterous aphids *P. nigronervosa*: a Healthy Dessert Banana and Infected Dessert Banana; b Healthy Plantain Banana and Infected Plantain Banana; c Infected Dessert Banana and Infected Plantain Banana; d Healthy Dessert Banana and Healthy Plantain Banana. The mean number of aphids per plant is displayed with the standard error, based on 30 repetitions, carried out each time with 20 aphids per experiment. (**): p value < 0.01, (***): p value < 0.001. HDB: Healthy Dessert Banana; HPB: Healthy Plantain Banana; IDB: Infected Dessert Banana; IPB: Infected Plantain Banana.

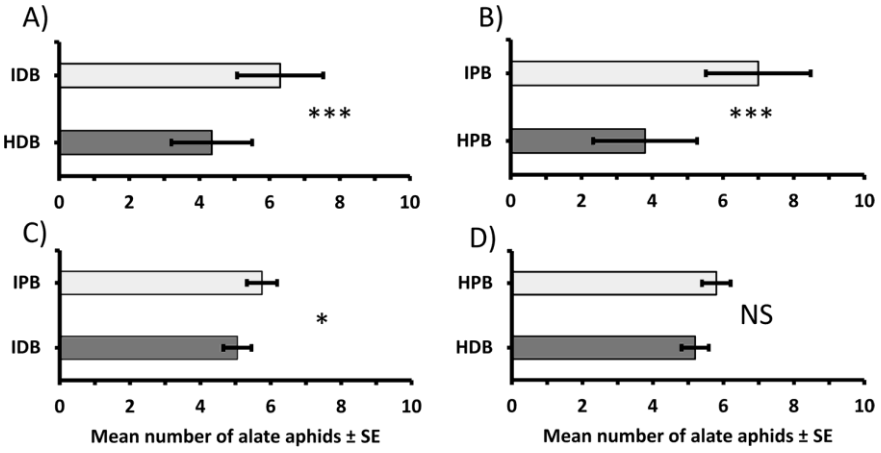


Fig. 5. Effect of banana plant treatment on the choice of alate aphids *P. nigronervosa*: a Healthy Dessert Banana and Infected Dessert Banana; b Healthy Plantain Banana and Infected Plantain Banana; c Infected Dessert Banana and Infected Plantain Banana; d Healthy Dessert Banana and Healthy Plantain Banana. The mean number of aphids per plant is displayed with the standard error, based on 20 repetitions, carried out each time with 20 aphids per experiment. NS: not significant, (*): p value < 0.05, (***): p value < 0.001. HDB: Healthy Dessert Banana; HPB: Healthy Plantain Banana; IDB: Infected Dessert Banana; IPB: Infected Plantain Banana.

Considering only the VOC common to the two genotypes, the plantains emitted the greatest amounts of VOC, with the exception of three VOC for the healthy bananas ((Z)-β-ocimene, 4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene and 6-methyl-3,5-heptadien-2-one) and five VOC for infected bananas ((Z)-β-ocimene, 6-methyl-3,5-heptadien-2-one, methyl salicylate, myrcene, and nonanal) (Fig. 7). In addition, infected

plants emitted greater amounts of VOC than healthy plants, except one VOC for dessert banana (6-methyl-5-hepten-2-one) and four VOC for plantain ((E)-hex-2-enal, 6-methyl-5-hepten-2-one, methyl salicylate, and myrcene), for which the viral infection did not modify the amount of VOC emitted (Fig. 7). Overall, and still considering only the common VOC, the banana plant genotype had a significant influence on the quantity of emitted VOC, except for 6-methyl-5-hepten-2-one, (Z)-β-ocimene, and nonanal (Table 1). The infection with BBTV had a significant influence on VOC emissions from banana plants, except for 6-methyl-5-hepten-2-one. The genotype-infection interaction influenced only nonanal, methyl salicylate, and (E)-hex-2-enal (see Fig. 7). Our results, therefore, reveal that the genotype acts on both the quality and the quantity of VOC emitted by bananas plants, while infection by BBTV mainly acts on the increase in the VOC quantities.

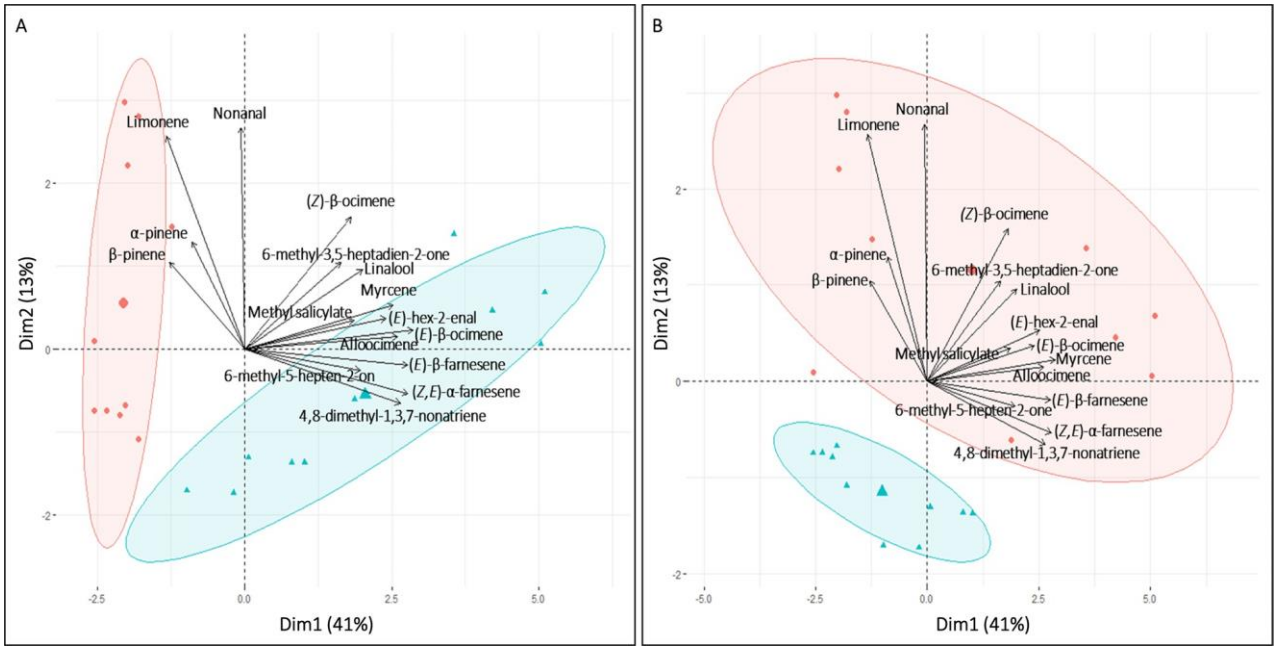

A
Limonene
Nonanal
(Z)-β-ocimene
α-pinene
β-pinene
6-methyl-3,5-heptadien-2-one
Linalool
Myrcene
Methyl salicylate
(E)-hex-2-enal
(E)-β-ocimene
Alloocimene
(E)-β-farnesene
6-methyl-5-hepten-2-on
(Z,E)-α-farnesene
4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene
Dim2 (13%)
Dim1 (41%)
B
Limonene
Nonanal
(Z)-β-ocimene
α-pinene
β-pinene
6-methyl-3,5-heptadien-2-one
Linalool
(E)-hex-2-enal
(E)-β-ocimene
Methyl salicylate
Myrcene
Alloocimene
(E)-β-farnesene
6-methyl-5-hepten-2-one
(Z,E)-α-farnesene
4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene
Dim2 (13%)
Dim1 (41%)

Fig. 6. Principal component analysis (PCA, supported by 41% inertia on the first axis, and 13% on the second axis) of the 16 selected VOC emitted by banana plants. a) Between the plantain (blue) and the dessert banana genotypes (red) considering both infection status (healthy and infected); b) Between the healthy banana plants (blue) and the infected banana plants (red) considering both genotypes (plantain and dessert). Ellipses represent 95% confidence intervals formed around the barycenter of each group (big dot or triangle). Each small dot or triangle represents a replicate (i.e., a banana plant, N = 10).

Table 1. Statistical results (GLM negative binomial) of the effect of BBTV on quantities of VOC emitted by different types of banana plants. Significant results ($p < 0.05$) are in bold. For each comparison (i.e., between genotypes or between infection status), the relative proportion (Rp) of VOC emission increase is given as a ratio of plantain/dessert or infected/healthy plants. For example, $Rp_{healthy}$ indicates 5.7 for myrcene, which means that this compound was emitted in 5.7 times higher quantity in healthy plantain banana plants than in healthy dessert banana plants. $Rp_{plantain}$ indicates 2.8 for myrcene, which means that this compound was emitted in 2.8 times higher quantities in infected plantain banana plants than in healthy plantain banana plants. Dashes indicate that the difference in VOC emission between two categories could not be calculated (e.g., if a given VOC is not emitted by one banana plant category). See Fig. 7 for a comparison of VOC emitted from each type of banana plant.

Variable	Genotype					Infection			Genotype * infection	
Molecule	Healthy	Infected	χ^2	*p*	Dessert	Plantain	χ^2	*p*	χ^2	*p*
	$Rp_{healthy}$	$Rp_{infected}$			$Rp_{dessert}$	$Rp_{plantain}$				
(E)-hex-2-enal(E)-hex-2-enal	72.2	3.0	55.5	<0.001	45.9	1.9	354	<0.001	25.3	<0.001
(E)-β-farnesene(E)-β-farnesene	-	-	0.001	**0.99**	-	2.4	9.8	**<0.01**	0.001	0.99
(E)-β-ocimene(E)-β-ocimene	13.6	8.9	149.4	**<0.001**	5.5	3.6	54.3	**<0.001**	1.5	0.22
(Z)-β-ocimene(Z)-β-ocimene	0.9	2.1	1.3	**0.23**	2.8	6.4	25.3	**<0.001**	1.9	0.15
(Z,E)-α-farnesene(Z,E)-α-farnesene	-	-	0.001	**0.99**	-	1.8	99	**<0.001**	0.001	0.99
4,8-Dimethyl-1,3,7-nonatriene	-	-	688.6	<0.001	-	1.7	3.5	**<0.05**	0.001	0.99
6-Methyl-3,5-heptadien-2-one	2.3	1.8	7.1	**<0.01**	2.8	2.3	12.1	**<0.001**	0.25	0.69
6-Methyl-5-hepten-2-one	1.3	1.6	3.3	**0.06**	1.4	1.8	0.5	**0.48**	1.3	0.26
Alloocimene	-	-	0.001	0.99	-	4.3	10.9	**<0.001**	0.001	**0.99**
Limonene	0.0	0.0	213.9	**<0.001**	5.4	-	11.6	**<0.001**	0.001	0.99
Linalool	3.3	2.3	16.1	<0.001	5.4	3.8	36.1	**<0.001**	0.5	0.48
Methyl salicylate	3.9	1.7	23.1	<0.001	3.5	1.5	17.4	**<0.001**	4.9	<0.05
Myrcene	5.7	3.1	10.5	**<0.01**	5.2	2.8	9.2	**<0.01**	0.5	**0.48**
Nonanal	84.2	0.7	5.6	**0.06**	1517.0	12.4	110.7	**<0.001**	34.7	<0.001
α-Pinene	0.0	0.1	17.6	**<0.001**	3.3	-	6.3	**<0.05**	0.001	**0.99**
β-Pinene	0.0	0.0	226.2	<0.001	8.5	-	37.5	**<0.001**	0.001	0.99

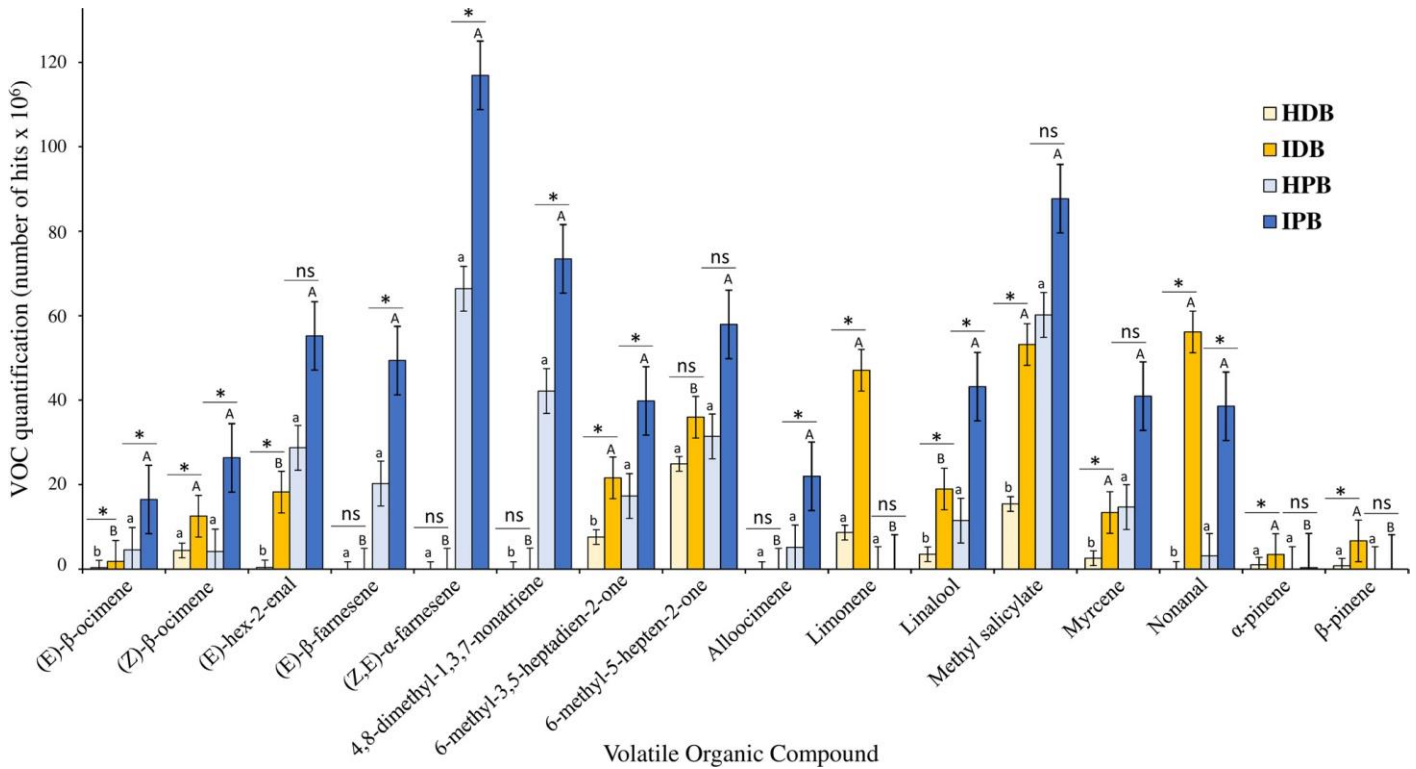

VOC quantification (number of hits x 10^6)
120
100
80
60
40
20
0
HDB
IDB
HPB
IPB
(E)-β-ocimene
(Z)-β-ocimene
(E)-hex-2-enal
(E)-β-farnesene
(Z,E)-α-farnesene
4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene
6-methyl-3,5-heptadien-2-one
6-methyl-5-hepten-2-one
Alloocimene
Limonene
Linalool
Methyl salicylate
Myrcene
Nonanal
α-pinene
β-pinene
Volatile Organic Compound

Fig. 7. Comparison of volatile organic compounds (VOC) emitted by both genotypes (dessert: yellow, and plantain: blue), for both infection status by Banana bunchy top virus (BBTV; healthy banana: light color, and infected banana plant: dark color). The observed mean peak area (number of hits on the detector) with the standard error over five replicates are represented. Statistical results (GLMs): ns indicate non-significant results ($p > 0.05$), stars indicate significant differences ($p < 0.05$) between infection status (for each genotype), and different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between genotypes (for each infection status). HDB: Healthy Dessert Banana; HPB: Healthy Plantain Banana; IDB: Infected Dessert Banana; IPB: Infected Plantain Banana.

Discussion

In this study, we observed that BBTV infected banana plants, regardless of the genotype, were more attractive for both apterous and alate *P. nigronervosa* aphids, which could lead to higher viral transmission. Plantain bananas were also more attractive than dessert ones, regardless of their BBTV infection status. This matched with our observation that plantains produced greater quantities of VOC. We also found that infected plants released similar VOC profiles as healthy plants but in much greater quantities. These differences may explain the greater attraction of *P. nigronervosa* towards infected bananas. At this stage, however, it is difficult to determine whether this difference is linked to a physiological effect of the virus on the plant or a real manipulation by the virus, aimed at making the plant

more attractive for aphids to increase its transmission (Chesnais *et al*., 2019a).

Indeed, it is known that various phytoviruses transmitted by aphids directly influence VOC emission and indirectly the patterns of attraction, retention, performance, and dispersion of vectors (Belliure *et al*., 2005; Bosque-Pérez & Eigenbrode 2011; Carmo-Sousa *et al*., 2014; Eigenbrode *et al*., 2018; Mauck *et al*., 2010; Shapiro *et al*., 2012; Tungadi *et al*., 2017). By such phenotypic changes, the virus can manipulate the vector through the plant (Eigenbrode *et al*., 2018; Thomas *et al*., 2005), and favors its propagation and epidemiological dynamics (Ingwell *et al*., 2012; Sisterson, 2008). Our results are similar to those reported by Jimenez-Martinez *et al*., (2004), who showed that the cereal aphid *R. padi* was more attracted by wheat plants infected with *Barley Yellow Dwarf Virus* (BYDV) than by healthy plants. The attraction preference of aphids to the plantain variety could be due to the higher amounts of VOC emitted by this genotype, regardless of the infection status of the plant. The Cavendish dessert genotype is a strict triploid (AAA) belonging to the species *M. acuminata,* whereas the plantain is a triploid hybrid (AAB) belonging to the species *M. paradisiaca* and derived from the cross *M. acuminata* x *M. balbisiana* (Simmonds, 1962). This genotypic demarcation between Cavendish and Pacific plantain underlies differences in their metabolic profiles, such as VOC, involved in the short distance communication between insects and their environments (Bernasconi *et al*., 1998; Piesik *et al*., 2013).

Our results with infected banana are consistent with those of Chesnais *et al.* (2019b), who observed that the aphid *My. persicae* prefers to settle and feed on the wild genotype of camelina (*Camelina microcarpa*) infected by but tolerant to *Turnip Yellows Virus* (TuYV), than on the cultivated genotype (*C. sativa*) and their F1 hybrid, consequently increasing the number of viruliferous aphids. In our study, *P. nigronervosa* preferred to settle on infected plantain (apparently, less susceptible to BBTV), compared to more susceptible Cavendish dessert banana (Hooks *et al*., 2009; Su *et al*., 1992). Indeed, dessert bananas are subject to many diseases because of their narrow genetic basis (Abadie *et al*., 2003).

According to Eigenbrode *et al*., (2018), persistently transmitted viruses more frequently attract their vectors and improve their performance on infected plants compared to viruses with non-persistent transmission. Indeed, for persistent transmission, which is the case for BBTV, the viral vector is likely to develop a strong affinity with the host plant. The reason is that the acquisition of the virus requires sustained feeding in the phloem of the infected plant (four hours minimum for BBTV), the time for the virus to circulate inside the insect to the salivary glands where the virions reside. In that case, the aphid infectivity can last a long time, often even until his death as for *P. nigronervosa* (Fereres & Raccah, 2015; Gray *et al*., 2014; Lepoivre, 2003; Raccah & Fereres, 2009). This is not the case for non- (or semi-) persistent viruses, such as CMV, where the vector appears to be falsely attracted to the infected plant, and then disperses rapidly (Mauck *et al*., 2010b; Tungadi *et al*., 2017). The vector immediately

transmits the virus after a very short acquisition time, from a few seconds to a few minutes (Harris *et al*., 1977). To optimize its transmission and propagation, the non-persistent virus induces a pull–push strategy from its vector to its host plant (Carmo-Sousa *et al*., 2014). This shows that vector manipulation traits appear to be adaptive depending on the virus transmission mechanism (Mauck *et al*., 2012, 2018; Mauck & Chesnais, 2020).

We compared the attractiveness responses of two *P. nigronervosa* forms (apterous and alate) to banana plants, comparing the four plant treatments. We found that both aphid forms were attracted to banana plants in similar ways, even though the apterous aphids are reputed to be less sensitive to odors because they have fewer sensorial organs, such as rhinaria (Hullé *et al*., 1999; Yongjun *et al*., 1995). However, in the "healthy dessert banana (HDB) - healthy plantain banana (HPB)" test, apterous aphids were significantly more attracted to the HPB, while the alate aphids were attracted similarly to HDB and HPB. The two forms of aphids were not confronted with the same signals, because the apterous aphids were tested in a Y-tube olfactometer whereas the alates were tested in settling cages. For the alates, other signals resulting from the putative manipulation, such as color, size, texture, metabolites in the leaves, tusks, and cuticles of the leaves, may have been involved in the orientation of the vectors (Mauck & Chesnais, 2020). We showed a clear discrimination between two groupsof treatments (infected vs. healthy, and plantain vs. dessert) based on the overall set of detected VOC. In the genotypic comparison, the discrimination of banana plants was mostly driven by the

compounds that are specific to each genotype, in addition to differences in emitted quantities. In the infection status comparison, the discrimination was driven by the overall differences in emitted quantities of VOC, but not by differences in the nature of emitted VOC. Infected bananas emitted the greatest amounts of VOC (at the exception of 6-methyl-3,5-heptadien-2-one), regardless of their genotype, which once again suggests an effect of the viral infection on the phenotype of banana plants. For example, in tobacco (*Nicotiana tabacum* Cv. Ky 57), the infection by a virus leads to an increase in the synthesis of ethylene (Chaudhry *et al*., 1998), a volatile phytohormone acting in synergy with other volatile emitted by plants (Ruther & Kleier, 2005). It seems obvious that most of the VOC potentially involved in the attractiveness of *P. nigronervosa* are found among the nine common VOC identified in this work ((*E*)-hex-2-enal, (E)-β-ocimene, (Z)-β-ocimene, 6-methyl-3,5-heptadien-2-one, 6-methyl-5-hepten-2-one, linalool, methyl salicylate, myrcene, and nonanal).

Berhal *et al*., (2017) identified 11 VOC from healthy Cavendish and 13 VOC from healthy Pacific plantain banana plants. We found that 6 VOC (6-methyl-5-hepten-2-one, myrcene, (Z)-β-ocimene, (E)-β-ocimene, methyl salicylate, and 6-methyl-3,5-heptadien-2-one) were common between our study and theirs. Nonanal was not identified in the study by Berhal *et al*., (2017), while we did not find β-ionone and (E, E)-α-farnesene. The principal component analysis shows that nonanal plays a role in distinguishing infected bananas from healthy bananas, being more concentrated in virus- infected plantain and

dessert bananas. This compound marks the greatest difference between healthy and virus infected plants for the two varieties. In the future, more attention will be paid to this compound to test its attractivity, and if the virus favors its emission.

All of these VOC are known to play a role in plant–insect interactions and insect control (pherobase.com; Stenberg et al. 2015). Some of them (α-pinene, β-pinene, limonene, myrcene, (E)-β-farnesene, ocimene, and linalool) are insect repellents (Arimura *et al*., 2004; Byers *et al*., 1979; Francis *et al*., 2005; Lípez *et al*., 2011; Smith, 1965; Xu *et al*., 2018), whereas others (methyl salicylate) are especially attractive to natural enemies of aphids (James, 2003; James & Price, 2004; Xu *et al*., 2018). Other volatiles, in particular nonanal and (E)-hex-2-enal, are known to be attractive to various taxa, including phytophagous insects and natural enemies (predators and parasitoids) (Allmann & Baldwin, 2010; Halitschke *et al*., 2008, Hoballah & Turlings, 2005; Syed & Leal, 2009; Xu *et al*., 2020). In general, the same VOC can be attractive and repellent, depending on their emission rate. This is the case, for example, for (E)-β-farnesene, which is an alarm pheromone in aphids (Francis *et al*., 2005), but can act at very low concentrations as an aggregation pheromone, providing information on the quality of the host plant (Verheggen *et al*., 2009). In addition, some studies on insect behavior suggest that the composition of the mixture of volatile plants is crucial and that specific mixtures are more attractive than individual compounds (Visser *et al*., 1996; Natale *et al*., 2003; Toby *et al*., 2005). In our study, we suggest that the differences in attraction of *P. nigronervosa* between the two

genotypes are due to both quantitative and qualitative variations in the VOC emitted (i.e., a potential mixture effect), while between the two infection statuses, it is due to variability in the quantities emitted.

Conclusion

This study highlights the role of the differential composition and relative proportions of VOC on the attractiveness of alate and apterous *P. nigronervosa* for infected or healthy dessert or plantain banana plants. Identification of volatile compounds revealed a total of 16 VOC (12 for dessert banana and 13 for plantain), with the highest emission in plantains and in infected banana plants. The compounds which seem potentially involved in the attractiveness aphids to banana plants are (*E*)-hex-2-enal, (*E*)-β-ocimene, (*Z*)-β-ocimene, (*E*)-β-farnesene, 6-methyl-5-hepten-2-one, methyl salicylate, myrcene, and nonanal. By modifying VOC emission by the plant, the virus may produce conditions that favor its propagation. It remains to be determined whether the fitness of the aphid vectors could also be affected by the viral infection. The next step would be to determine which of these common compounds, or mixtures thereof, can be used in the semiochemical control of *P. nigronervosa* as part of an integrated management approach. To do so, it would be important to test the application of these compounds in field conditions and to extend the studies on several varieties of banana plants.

Consent for publication

All coauthors consent for publication.

Supplementary Information: The online version contains supplementary material available at https://doi.org/10.1007/s10886-021-01298-3.

Acknowledgements

We thank Franck Michels and Mathieu Leclercq for having introduced us to chromatographic analyzes. We also thank the International Institute of Tropical Agriculture—IITA/Kalambo (Bukavu, Democratic Republic of Congo) and the head of the Kinshasa Plant Clinic, Lyna Mukwa Fama Tongo, for their supports and advice regarding healthy and infected banana collection. We thank anonymous reviewers for their work on an earlier version of this manuscript. This paper is the publication BRC 372 of the Earth and Life Institute, UCLouvain.

Authors' contributions

IMS performed the experiments and wrote a first draft of the manuscript. IMS and KT analysed data. TH secured funding and supervised the project. All coauthors significantly contributed to the realization of the study and in the revision of the manuscript.

Funding

Ignace Murhububa Safari was supported by the Conseil de l'action internationale (CAI) of the UCLouvain. Kévin Tougeron was supported by the F.R.S.-FNRS. The "attractiveness" section of this

study was supported by the Academy of Research and Higher Education (ARES). The "VOC extraction and identification" section was funded by the UCLouvain.

Declarations

Conflict of interest: None.

Supplementary Material

Table S1. The characteristics of primers pairs used for analysis of the health status and genotyping of bananas.

Primer pairs	Nucleotide sequences 5'-3'	Annealing T°C	Expected amplicon size (bp)	Reference
Musa-OLF/Musa-OLR	F/ TGCATTAGATGGTCTGGGAAA R/ ACTTCACGATGCCATGTTT	55°C	522	Chabannes *et al*., 2013
DNA-R-2rdcf/rdcr	F/ AGATGTCCCGATTTAGTGCG R/ GATCTCGCCGTTCATTGCTC	60°C	1068	Mukwa *et al*., 2016

Table S2. Mean number (±SE) of aphids (apterous or alate) attracted to a banana plant or a control, as well as associated statistical results (Student's t-tests and p-value). HDB - S: Attractiveness of aphids between Healthy Dessert Banana and potting soil only; HPB - S: between Healthy Plantain Banana and potting soil only; S - E: between potting soil only and empty control. Significant results ($p < 0.05$) are in bold.

	HDB - S				**HPB - S**				**S - E**			
Aphid morph	**HDB**	**S**	**t**	**p**	**HPB**	**S**	**t**	**p**	**S**	**E**	**t**	**p**
Apterous	6.70 ± 0.14	0.86 ± 0.13	30	**<0.001**	7.80 ± 0.23	0.86 ± 0.13	25.7	**<0.001**	1.53 ± 0.31	0.90 ± 0.15	1.8	0.07
Alate	6.80 ± 0.52	0 ± 0	5.6	**<0.001**	8.85 ± 0.57	0 ± 0	5.8	**<0.001**	-	-	-	-

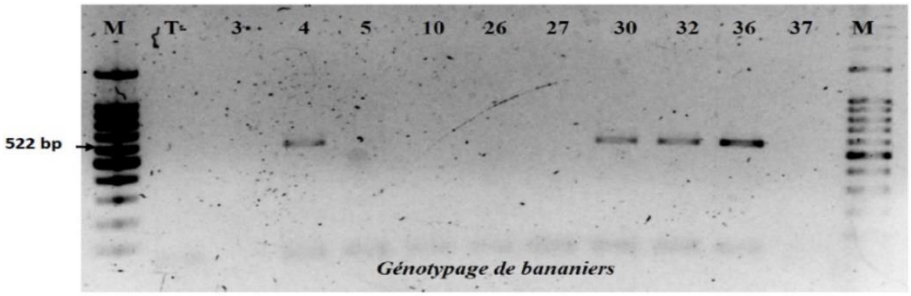


Fig. S2. Discrimination (Genotyping) by PCR between dessert bananas and plantains. The control is a *Musa acuminata* banana with a known genotype: the Gros Michel variety (AAA). This test was carried out using the pair of Musa-OLF / Musa-OLR primers designated to target the junction between the banana genome and the eBSV (expected band at around 522 bp) (F / TGCATTAGATGGTCTGGGAAA; R / ACTTCACGATGCCATGTTT).

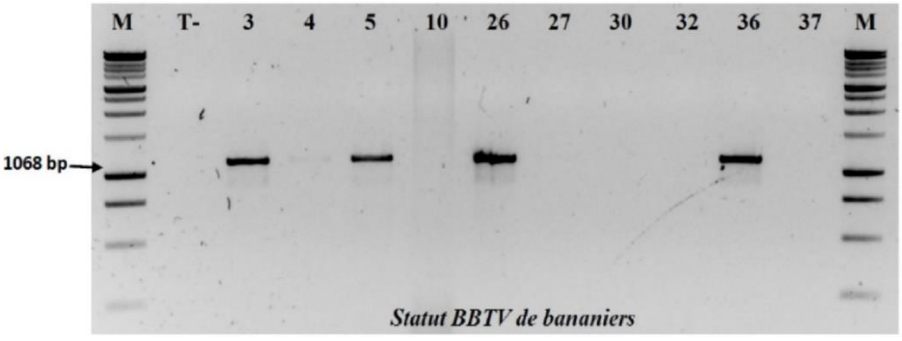


Fig. S3. The health status, by PCR, of the banana strains used in the tests. The control is a well-known affected banana: the infected Gros Michel variety (AAA). This test was carried out using the specific primers of *Banana bunchy top virus*: DNA-R-2drc Forward and DNA-R-2rdc Reverse, designed to amplify products of 1068 bp (F /TGCATTAGATGGTCTGGGAAA; R / ACTTCACGATGCCATGTTT).

Chapitre 6 :

Évaluation de l'effet du *Banana bunchy top virus* (BBTV) sur la performance et la croissance démographique de *Pentalonia nigronervosa* Coquerel

Préambule

Les phytovirus transmis par les insectes vecteurs peuvent induire des changements dans le phénotype de leurs plante-hôtes, y compris sa qualité nutritionnelle pour le vecteur. Cela peut entraîner des répercussions sur les interactions plantes-vecteurs, et favoriser la propagation du virus en fonction de leur mode de transmission (persistant, semi-persistant ou non-persistant) (Mauck *et al*., 2012 ; Eigenbrode *et al.,* 2018). Cette manipulation indirecte du vecteur par le virus à travers la plante nécessite une co-évolution étroite du complexe plante hôte-virus-vecteur et serait donc effective uniquement pour des associations très spécifiques (Mauck *et al*., 2014b). Le *Banana bunchy top virus* (BBTV), un virus persistant, circulatif et non-propagatif, est transmis aux bananiers par *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (Thomas & Iskra-Caruana, 2000 ; Qazi, 2016). Le chapitre précédant (5) a mis en évidence l'effet indirect du BBTV sur *P. nigronervosa*, à travers une attraction préférentielle du vecteur pour les bananiers infectés, provoquée par une émission accrue de COV (Safari Murhububa *et al*., 2021). Le présent chapitre concerne l'effet du BBTV sur la performance (traits d'histoire de vie et développement démographique) des pucerons élevés sur les bananiers, qui n'a pas été pris en compte dans le chapitre

précédent. La question est de savoir si l'infection au BBTV améliore la qualité nutritive du bananier pour *P. nigronervosa*, au point d'améliorer la performance du vecteur liée à la transmission du virus ? Les résultats de ce chapitre, ainsi que ceux du chapitre précédent (5), mettent en évidence l'effet indirect (ou la manipulation indirecte) du BBTV sur *P. nigronervosa*, ce qui nous a permis d'orienter cette thèse dans la mise en place des études présentées dans les chapitres 7 et 8.

Article n°2:

The aphid *Pentalonia nigronervosa* takes advantage from the quality change in banana plant associated with *Banana bunchy top virus* infection.

(Article accepted, with minor modifications, in Journal of Economic Entomology in December 2022)

Ignace SAFARI MURHUBUBA[1,2,6*], Kévin TOUGERON[1,3], Claude BRAGARD[4], Marie-Laure FAUCONNIER[5], David MUGISHO BUGEME[2], Espoir BISIMWA BASENGERE[2], Jean WALANGULULU MASAMBA[6], Thierry HANCE[1]

[1]Earth and Life Institute, Ecology and Biodiversity, Université catholique de Louvain, Croix du sud 4-5/L7.07.04, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgium ; [2]Faculté Des Sciences Agronomiques, Université Catholique de Bukavu, Bukavu, Democratic Republic of the Congo ; [3]UMR CNRS 7058 EDYSAN (Écologie et Dynamique des Systèmes Anthropisés), Université de Picardie Jules Verne, 33 rue St Leu, 80039 Amiens, France ; [4]Earth and Life Institute, Applied Microbiology, Université catholique de Louvain, Croix du sud 2/L7.05.03, 1348 Louvain-la-Neuve, Belgium ; [5]Laboratory of Chemistry of Natural Molecules, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Gembloux, Belgium ; [6]Institut Supérieur d'Etudes Agronomiques et Vétérinaires de Walungu, Walungu, Democratic Republic of the Congo.

* ignace.murhububa@uclouvain.be, ignacemurhububa@gmail.com

Abstract

A viral disease changes the physiological characteristics of a plant and the composition of the phloem sap. This has an impact on the quality of the plant's food supply for insect pests, including virus vectors. The banana aphid, *Pentalonia nigronervosa* Coquerel, is the sole known vector of the *Banana bunchy top virus* (BBTV), the causal agent of Banana bunchy top disease (BBTD), the world's most devastating viral disease of bananas. The effect of BBTV on the life history traits and population dynamics of *P. nigronervosa* remains poorly understood but could affect the spread of the virus from one plant to another. We therefore studied the survival rate, longevity, daily fecundity per aphid, tibia length, population growth, and alata production of a *P. nigronervosa* clone grown on healthy and infected dessert and plantain banana plants. We found that daily fecundity per aphid was higher on infected than on healthy banana plants, regardless of genotypes, and on plantain than on dessert banana plants, regardless of infection status. The Survival and longevity were lower on infected dessert banana plants than on other types of banana plats. Also, virus infection resulted in a decrease in the length of the hind tibia of aphids on both genotypes. The life table constructed revealed a higher intrinsic growth rate (r) in infected bananas than in healthy banana in contrast to doubling time (DT), a higher net reproduction rate (Ro) in infected plantain, and a lower generation time (T) in infected dessert than in any other treatment. Finally, aphids developed more rapidly on infected plantain, then on healthy plantain, and finally on dessert bananas (healthy and infected); while alate production was more rapid on infected plantain,

then on healthy plantain, then on healthy dessert and finally on infected dessert. This work contributes to the understanding of the transmission processes of BBTV to banana plants, with a view to biologically control the vector.

Keywords - BBTV, *Musa* spp., banana aphids, life history traits, population growth.

Introduction

When a plant is infected by a virus, its defense capacities, the expression of heat shock proteins and the production of phytohormones are modified (William *et al.*, 2006). The viral infection also changes the food quality of the plant and its attractiveness for the vectors (Schoelz and Stewart, 2018; Safari Murhububa *et al.*, 2021). The banana aphid, *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (Hemiptera: *Aphididae*) is the vector of the *Banana bunchy top virus* (BBTV), a causative agent of banana bunchy top disease, which is currently the most serious viral affection of banana plants worldwide (Thomas & Iskra-Caruana, 2000; Chandrassekar *et al.*, 2011; Qazi, 2016). The disease is characterized by dwarfed and narrow leaves, chlorosis of leaf margins and dark green discontinuous streaks on leaves, petioles and pseudotrunks. The leaves of infected plants become progressively smaller and stand upright, giving the plant a bunchy appearance, which has potential deleterious effects on banana yield (Gatsinzi, 1987). The BBTV is widespread in Africa, Asia and Australia, while the vector is present in all regions of

the world, even where the BBTV is not yet reported (CABI, 2022a). This virus belongs to the family *Nanoviridae* and the genus *Babuvirus*, with a capsid possessing multi-component circular single-stranded DNA genomes encapsulated in small (18-20 nm) isometric particles (Burns *et al.,* 1995; Timchenko and Bernardi, 2007; Stainton *et al.* 2015; Mukwa *et al.*, 2016; Guyot *et al.,* 2022).

In infected plants, BBTV is restricted to phloem tissue, and the cells surrounding the phloem contain an abnormal number of chloroplasts, giving rise to the macroscopic symptoms of dark-green streaks. After infection, BBTV replicates and progressively accumulates in all parts of the plant, except in leaves formed before infection where the virus is present but does not replicate. The vector is not able to acquire the virus from these leaves (Hafner *et al,* 1995; Iskra-Caruana, 2003). BBTV is transmitted through a persistent, circulating and non-propagative way to a healthy banana plant after an elaborate sap intake from an infected banana plant by the vector (Iskra-Caruana, 2003; Anhalt and Almeida, 2008). Persistently transmitted viruses are usually ingested during prolonged feeding (varying from a few hours to several days). During this transmission, the virus must pass through the gut to survive in the haemolymph and transverse salivary tissues (hence the name of "circulatory transmission") (Hogenhout *et al.,* 2008). Circulating viruses can be classified as propagative or non-propagative, where the former replicate in vector tissues, eventually causing pathology in the insect, and the latter move through vector tissues without detectable viral replication (Wang and Ghabrial, 2002; Ng and Falk, 2006; Bragard *et al.,* 2013; Gray *et al.,* 2014). Non-propagating circulating

viruses include members of the *Luteoviridae, Geminiviridae* and *Nanoviridae* (such as the BBTV), and are transmitted by either aphids and/or whiteflies (Bragard *et al,*. 2013; Gray *et al.,* 2014; Pinheiro *et al.,* 2015).

It has previously been shown that BBTV infection alters the phenotypic characteristics of banana plants (*Musa* spp), causing them to produce volatile organic compounds (VOC) more attractive to *P. nigronervosa* than healthy banana plants (Safari Murhububa *et al.,* 2021). On the one hand, the "vector manipulation hypothesis" implies indirect effects of the virus on the vector via modification of phenotypic traits of the host plant which favour the production of winged individuals, selection or attraction towards the infected plant, and therefore the probability of virus acquisition (Johnson and Birks, 1960; Gildow, 1980; Blua and Perring, 1992, Mauck *et al.,* 2012, Eigenbrode *et al.,* 2018; Safari Murhububa *et al.,* 2021). One the other hand, it implies direct effects of the virus on aphid phenotype and behaviours after virus acquisition, thereby favouring the dispersion and spread of the virus to other plants (Stafford *et al.,* 2011; Ingwell *et al.,* 2012; Roosien *et al.,* 2013). This hypothesis, best applied in aphids, predicts that a virus will promote its spread from plant to plant by influencing the selection behaviour of the host plant by the vector (Mayer *et al.,* 2002; Ingwell *et al.,* 2012), and by enhancing the reproductive performance of the vector to the point of early alate production (Gildow, 1980; Blua and Perring, 1992; Johnson and Birks, 1960), thereby promoting the epidemiology of the virus.

Virus vectors such as aphids have been shown to respond to changes in host plant quality as a consequence of virus infection (Eigenbrode *et al.,* 2002; Bosque-Pérez and Eigenbrode, 2011; Eigenbrode *et al.,* 2002, 2018). Most reports indicate that virus-infected plants are higher-quality hosts for vectors compared to virus-free plants in terms of growth rates, fecundity, survival and longevity of vectors (Colvin *et al.,* 2006; Bosque-Pérez and Eigenbrode, 2011; Eigenbrode *et al.,* 2018). This was the case in the study by Bosque-Pérez and Eigenbrode, 2011, in which two of the most important luteoviruses, *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) infecting wheat, and *Potato leafroll virus* (PLRV) infecting potato, and their respective vectors, the oat aphid, *Rhopalosiphum padi*, and the green peach aphid, *Myzus persicae*. This work showed that viral infection of host plants improved the fitness of two vectors, including their growth rates and fertility. However, a recent report showed that in the case of *P. nigronervosa*, aphid survival is reduced on BBTV-infested banana plants than on healthy banana plants (Chakraborty *et al.,* 2021).

Pathogens with similar modes of transmission should also show significant convergence in their effects on host-plant phenotypes (Mauck *et al.,* 2012). The above-mentioned persistent and non-persistent viruses have different important implications for plant-host-vector interactions and virus transmission. Because of the long feeding time required for the acquisition of persistent viruses, most of them improve the quality of the host plant for the vectors, and thus the life-history traits of the vectors (Mauck *et al.,* 2012), as well as the growth rate, dispersal, and host-plant selection capacities of the vector. In

contrast, in non-persistent transmission viruses, infection often significantly reduces the quality of plants for aphid vectors, and in part due to significant changes in the carbohydrate/amino acid ratio in the phloem (Mauck *et al.*, 2014a), which causes rapid dispersal of aphids from infected to healthy plants (Mauck *et al.*, 2010b).

The effect of a virus on the phenotypic traits of the vector favourable to transmission of that virus may also vary according to genotypic or varietal characteristics of the host plant, for example its palatability for the vector, especially for persistent viruses. Chesnais *et al*. (2019) suggested that this is related to plant tolerance or host plant genotype. In this study. The author observed that the aphid *My. persicae* prefers to settle, feed and multiply much more on the wild Camelina genotype (*Camelina microcarpa*) infected but tolerant to *Turnip yellows virus* (TuYV), than on the cultivated genotype (*C. sativa*) and their F1 hybrid, thus increasing the number of viruliferous aphids. Recently, in the study by Safari Murhububa *et al.*, 2021, healthy and infected seedlings of two of the most representative banana varieties in the world, Cavendish dessert banana (AAA genome) and Pacific plantain (AAB genome) (Simmonds, 1962; Lorenzen *et al.*, 2010; Ploetz, 2015), were used to assess the influence of the virus on the behaviour of non-viruliferous individuals of *P. nigronervosa*. The authors found that the aphid preferred to settle on infected banana plants than on healthy banana plants, regardless of genotype, and on plantains than on dessert banana plants, regardless of infection status.

In that context, our study aimed to investigate the effect of BBTV infection on life history traits, population dynamics, production of alates (apterous individuals) of *P. nigronervosa* reared on infected and uninfected, dessert (Cavendish dessert banana (AAA genome) and plantain banana plants (Pacific plantain (AAB genome)). The question is whether BBTV can alter the quality of banana plants as superior hosts for *P. nigronervosa*, to the point of improving the performance (fecundity, survival, longevity, and population growth) of the vector. We hypothesise that *P. nigronervosa* grows better and reproduces faster on infected banana plants than on healthy banana plants, and on plantain banana plants than on dessert banana plants.

Material and methods

Insects and plants

The *P. nigronervosa* colony was obtained, as in the study of Safari Murhububa *et al*. (2021), from a parthenogenetic female collected from a healthy banana plant in the province of Sud-Kivu (Democratic Republic of Congo), then continuously reared on live banana plants, free of any disease, and planted in pots (Thermoformed red MCI 17:2L pot) on a potting soil substrate. The constitute the non-viruliferous strain of *P. nigronervosa.* The aphid-banana combination was maintained in cages (200 x 100 x 100 cm) of small-mesh netting, placed in air-conditioned chambers at 25 ± 2 °C, a relative humidity of 40 ± 5 %, and an artificial photoperiod of 12/12h. All aphids used in this work were apterous.

The plant material consisted of dessert banana plants of the cultivar Cavendish (strict triploid *Musa acuminata* - AAA), and plantains of the cultivar Pacific (hybrids and triploids *Musa paradisiaca* - AAB), which were either symptomatic (with symptoms of BBTV) or asymptomatic (without symptoms of the disease). Four banana plant treatments were considered and used for both the life-history trait and for the aphid population development experiments: healthy dessert banana (HDB), healthy plantain banana (HPB), infected dessert banana (IDB), and infected plantain banana (IPB). Plants were identified and collected in subsistence farmer plantations in South Kivu in the Democratic Republic of the Congo, referring to the study of Dowiya *et al*. (2009), before being transported to Belgium (Louvain-la-Neuve). All these plants were maintained and multiplied in the tropical greenhouse (greenhouse n°13; G2) of the Université catholique de Louvain (Louvain-la-Neuve, Belgium), using the PIF technique (Plants issus des fragments de tiges: Annex 1) (Kwa, 2003, 2009; Meutchieye, 2009; Sadom *et al.*, 2010; Mbunzu *et al.*, 2019). They were irrigated daily, until they reached 40-60 days of age (4-6 leaf stage), for their use in all tests. In this study, all young plants obtained directly by the PIF technique (Plantes Issues de Fragments de tiges : Annex 1) (Kwa, 2009; Meutchieye, 2009; Mbunzu *et al*., 2019; Sadom *et al*., 2010) from infected banana stem showed severe symptoms of BBTV. Indeed, banana plants suckers from an infected strain are known to be automatically infected and show severe symptoms of BBTV (van Regenmortel *et al.*, 2000; Thomas and Iskra-Caruana, 1999). This option was chosen because the virus transmission by mechanical inoculation has never been successful (Thomas *et al.* 1994; Lepoivre,

2003). Each plant was previously tested (Safari Murhububa *et al.,* 2021) twice by PCR (Supplementary Table S1) to confirm the genotype (Supplementary Figure S1) and infection status (Supplementary Figure S2).

Effect of BBTV on aphid life history traits

Non-viruliferous adult females of *P. nigronervosa* were placed on healthy and infected banana plants, dessert and plantains (4 treatments), at a rate of one aphid per plant, in order to evaluate the effect of BBTV on their life-history trait (the survival rate, daily fecundity per aphid, longevity, maturation larvae time, and tibia length).

Each deposited adult female and the excess larvae produced were carefully removed from the plant 24 hours later, using a fine brush, leaving only one larva per plant (with 10 replicates per treatment, for a total of 40 plants used). Each remaining individual was then observed daily at the same time throughout its life. Thus, biological parameters such as daily fecundity and total fecundity per female aphid, aphid survival rate, average longevity (i.e. life span or age at death) (in days) of aphids, maturity time (age at first reproduction, development time) (in days) were determined. In addition, a survival and fecundity table was constructed, from which the net reproduction rate (R_o: corresponding to the total fecundity per surviving aphid in this work), intrinsic rate increase (r), generation time (T), and the doubling time (DT) were determined (Hance *et al.,* 1994). In order to prevent aphids and/or larvae from moving and hiding in other parts of the plant (e.g.

spaces between the pseudostem sheaths), and to facilitate handling, aphids were placed at the base of the pseudostem, and a parafilm paper device, surrounded by sticky paper, was rolled up 20 cm from the neck of each banana plant; knowing that *P. nigronervosa* prefers to settle at the base of the banana plants, close to the ground, when aphid numbers are still low (Robson *et al.*, 2006). The whole set-up (banana plant-cage-aphids) was placed in an air-conditioned room, at a temperature of 25 ± 2°C, a relative humidity of 40 ± 5% and an artificial photoperiod of 12/12h.

Mortality tables were completed with data collected according to Carey (1993) (as reported in Robson *et al.* (2007)). The intrinsic rate of increase (r_m), was estimated by iteration, according to Carey (1993), using the equation:

$$r=\ln(R_o)/T$$

Where, R_o: Net reproduction rate, which is the average number of female offspring born from a cohort of females; T: Mean generation time or average age of reproduction (in days) (here, the time required for a newborn female is replaced by the net reproduction rate (R_o), i.e. from her laying to the end of her reproduction period) ; and DT: Doubling time (DT), which is the time required in days for the population to double (Carey, 1993).

$R_o=\sum l_x m_x$, where $l_x m_x$ is net maternity

$T = \ln(R_o)/r$

$DT = \ln 2/r$

As the morphological parameters of aphids vary according to the environmental conditions to which they are (or have been) exposed (Daly, 1985; Williams and Dixon, 2007), the size of aphids, in terms of length of the posterior tibia (mm) (representative for body size: Murdie, 1969), was measured on adults. Thus, 80 adult aphids from four different types of banana plants (treatments), with 20 aphids (20 replicates) per treatment, were considered in this part of the work.

The tibia size was measured under a stereomicroscope (LEICA MZ6) mounted with a camera.



Fig. 1. Hindleg (metathoracic) of *P. nigronervosa* with measurement of tibia length.

Effect of BBTV on aphid population growth

Individual non-viruliferous aphid larva (one larva per plant) of the fourth instar were placed on live banana plants (never used before) of ≈50 cm height (4 to 6 leaves) of each genotype (plantain and dessert)

and BBTV status (infected and healthy). For each of these four treatments, 30 banana plants (giving a total of 120 plants) were placed in an air-conditioned room, at a temperature of 25 ± 2 °C, a relative humidity of 40 ± 5% and an artificial photoperiod of 12h/12h. The plants were watered as needed from below by pouring water into the tray. Ten plants from each treatment were randomly selected for a weekly aphid count for three weeks, sampling without discount (exhaustive sampling), in accordance with the method used by Robson *et al*. (2007), to determine the pullulation of aphids reared on the 4 types of banana plants.

Effect of BBTV on alate production

Twenty non-viruliferous apterous aphids, in the fourth instar, were placed on never-before-used live banana plants ≈50 cm tall (4 to 6 leaves), of each genotype (plantain and dessert) and BBTV status (infected and healthy). Four treatments: Healthy Dessert Banana (HDB), Infected Dessert Banana (IDB), Healthy Plantain Banana (HPB) and Infected Plantain Banana (IPB), were therefore considered in this part of the work. For each treatment, 10 banana plants (giving a total of 40 plants) were placed in an air-conditioned room, at a temperature of 25 ± 2 °C, a relative humidity of 40 ± 5% and an artificial photoperiod of 12h/12h. The plants were watered as needed from below by pouring water into the tray. In contrast to apterans, we found that *P. nigronervosa* alates were not found in inaccessible parts of the banana plant (spaces between the pseudotrunc sheaths); therefore, the number of alates produced was simply counted on a weekly basis for 10 weeks,

in order to assess the production of the alates reared on the 4 types of banana plant.

Statistical analyses

To analyse the differences in daily fecundity in aphids, we fitted a generalized mixed effect model (GLMM) with a Poisson family and a log-link function to the data, using the *glmmTMB* package (Magnusson *et al.,* 2017). As fixed effect terms in the model, we used the treatment (4 levels) in interaction with the number of days after the start of analysis (quadratic covariate to account for increasing and decreasing fecundity slopes).

The identity of each individual aphid was used as a random effect term in the model to account for repeated measurements (non-independence of data). The same type of model was used to analyse cumulated population growth, as well as alate production, using the interaction between the week and the treatment terms as fixed effects. We fitted a Cox survival model to the data to analyse aphid longevity (survival probability) on each treatment. The differences in posterior tibia length and in the total number of aphids among each treatment were analysed using generalized linear models (GLMs) fitted with a Gaussian and a Poisson family, respectively. Contrasts between levels of a significant variable ($p < 0.05$) were analysed using the *emmeans* package (Lenth *et al.,* 2018). Statistical analyses were all done on R v4.0 (R Core Team, 2022).

Results

Effect of BBTV on aphid development

Daily fecundity per female varied with treatment ($\chi 2=21.3$, Df=3, $p<0.001$; Fig. 2), and with time (days) ($\chi 2=654.6$, Df=1, $p<0.001$; Fig. 2). It was higher for aphids reared on IPB than on the other banana types (HDB, IDB and HPB), and lower for aphids reared on HDB than on the other banana types (IDB, HPB and IPB) (Fig. 2). The dynamics were broadly the same between treatments, except that a rapid drop of fecundity was found for IDB after the peak fecundity date. There was an interaction effect between day and treatment ($\chi 2=9.5$, Df=3, $p<0.05$; Fig. 2), as for each of the four treatments, the daily fecundity per female was different depending on the time of larviposition. The four curves have indeed different shapes regarding their amplitude (Fig. 2). Aphid survival was lower on BDI than on all other treatments (BHD, BHP and BIP) (Cox model: coef = 2.03, z=3.61, $p<0.001$; Fig. 2), between which survival rates were similar (Cox model: coef = 2.03, z=0.83, p=0.40; z=1.49, p=0.13; Fig. 2).

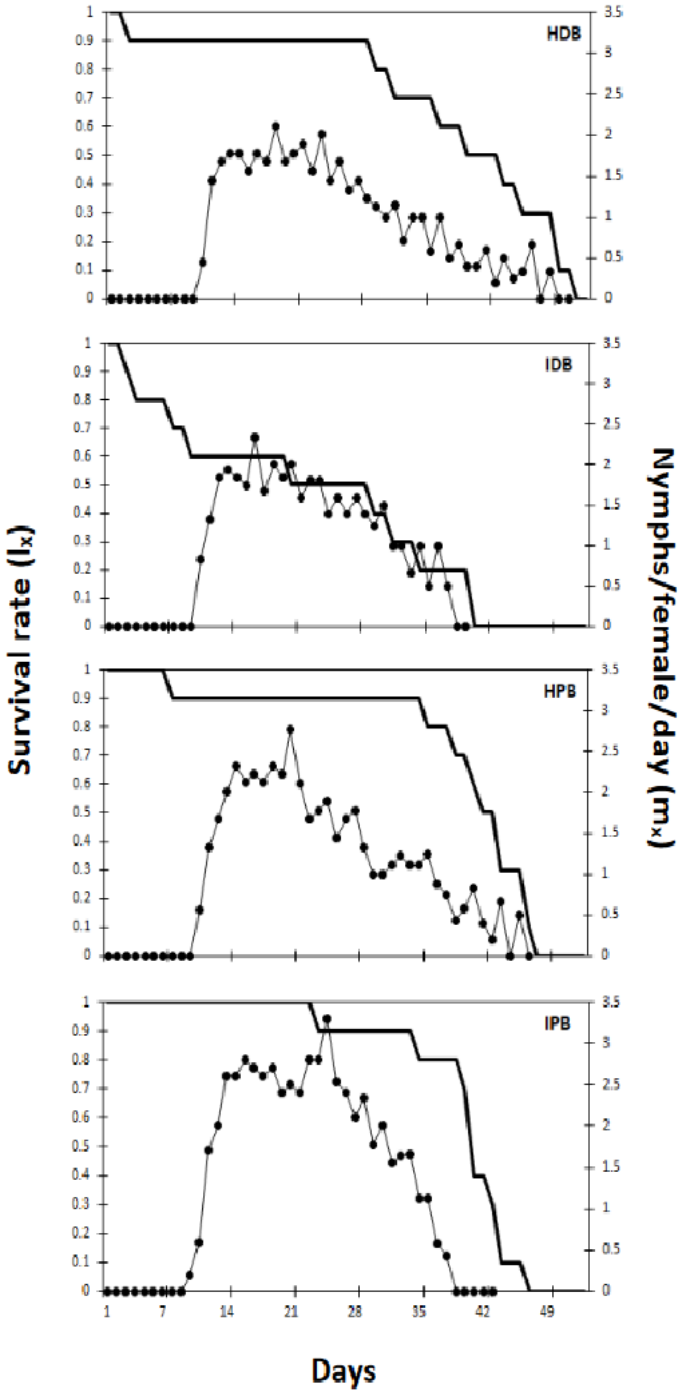

HDB
IDB
HPB
IPB
Survival rate (l_x)
Nymphs/female/day (m_x)
Days
1
7
14
21
28
35
42
49

Fig. 2. Daily fecundity and survival rate of aphids on healthy and infected, dessert and plantain banana plants (n=10); HDB: Healthy dessert banana; HPB: Healthy plantain banana; IDB: Infected dessert banana; IPB: Infected plantain banana. Survival rate (lx): line without markers, and fecundity (mx): line with markers **).**

The longevity of aphids reared on dessert banana plant decreased with virus infection (Tukey contrasts, $z=4.65$, $p<0.001$) (Fig. 3B), while that of aphids reared on plantain plant did not change with virus infection (Tukey contrasts: $z=1.29$, $p=0.56$) (Fig. 3B). Aphid longevity also did not vary with genotype (Tukey contrasts: $z=-2.25$, $p=0.10$; $z=1.10$, $p=0.68$ (Fig. 3A).

Furthermore, the Time to maturity did not vary with viral infection (Tukey contrasts: $z=-0.281$, $p=0.99$; $z=0.44$, $p=0.97$), nor with genotype (Tukey contrasts, $z=-0.21$, $p=0.99$; $z=-0.93$, $p=0.78$) (Fig. 3B).

Hind tibia length varied with viral infection, independent of genotype (Tukey contrasts: $z=5.83$, $p<0.001$; $p=5.36$, $p<0.001$) (Fig.3C), and not varied with genotype, independent of infection status (Tukey contrasts: $z=-1.42$, $p=0.48$; $z=-0.95$, $p=0.77$) (Fig.3C). For both genotypes, aphids reared on healthy banana plants (non-viruliferous aphids) had longer hind tibiae than non-viruliferous aphids (Fig.3C).

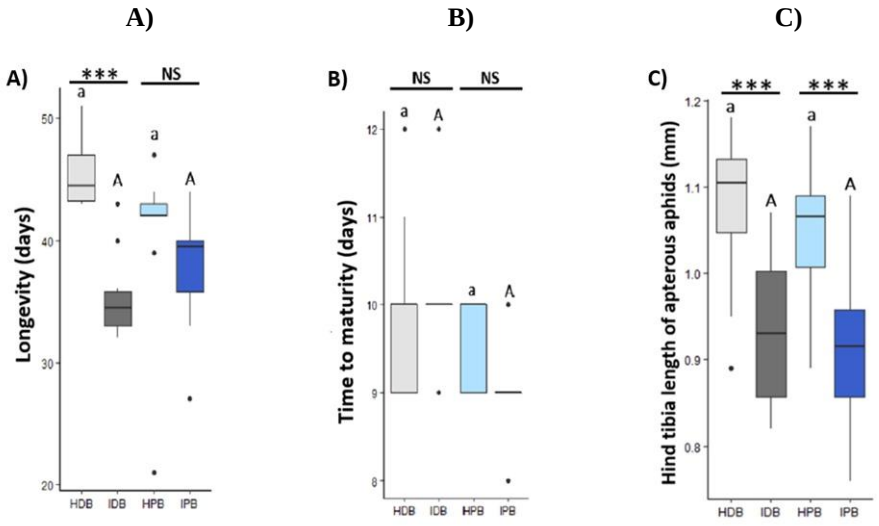


Fig. 3. Effect of BBTV on the development of *P. nigronervosa* reared on dessert and plantain banana plants. A) Longevity (n=10); B) Time to maturity (n=10); and C) Length of posterior tibia of adults (n=20). Statistical results (GLM): NS indicate non-significant results ($p>0.05$), stars indicate significant differences ($p<0.05$) between infection status (for each genotype), and different letters indicate significant differences ($p<0.05$) between genotypes (for each infection status). HDB: Healthy dessert banana; HPB: Healthy plantain banana; IDB: Infected dessert banana; IPB: Infected plantain banana.

Furthermore, the intrinsic growth rate (r), in contrast to the slightly doubling time (DT), is high in infected banana plants compared to healthy banana plants, the net reproduction rate (Ro) is higher in IPB and lower in IDB, while the regeneration time (T) is lower in IDP than in any other treatment (Table 1).

Table 1. Effect of BBTV on life table indices of *P. nigronervosa* reared on dessert and plantain banana plants.

Treatment	Net reproductive rate (R_o)	Intrinsic rate of increase (r)	Generation time (T)	Doubling time (DT)
HDB	34.8	0.0949	37.4	7.303
IDB	20.2	0.138	21.7	5.022
HPB	41.85	0.0972	38.4	7.131
IPB	52.7	0.125	31.7	5.545

HDB: Healthy dessert banana; HPB: Healthy plantain; IDB: Infected dessert banana; IPB: Infected plantain banana.

Effect of BBTV on aphid pullulation

The increase in the number of *P. nigronervosa* on banana plants varied according to the treatment ($\chi2$=434.84, Df=3, p<0.001; Fig. 4), and observation time (one-week intervals) ($\chi2$=4512.17, Df=1, p<0.001; Fig. 4). There was an interaction effect between time (in weeks) and treatment ($\chi2$=37.00, Df=3, p<0.001; Fig. 4), as for all four banana plants, the aphid population growth was different according to the time of observation (at the one-week interval) (Fig. 4). Indeed, the treatments have different shapes. The aphid population increased more rapidly on plantain banana plant than on dessert banana plant, regardless of infection status (Fig. 4). It increased more rapidly with virus infection only on plantain banana plant; while it increased similarly with virus infection on HDB and IDB. Three weeks later (21 days), aphids reached an average maximum of 89.64±78, 94.17±13.4, 155.9±17.63 and

261.5±24.57 individuals per plant for aphids raised on HDB, IDB, HPB and IPB respectively.

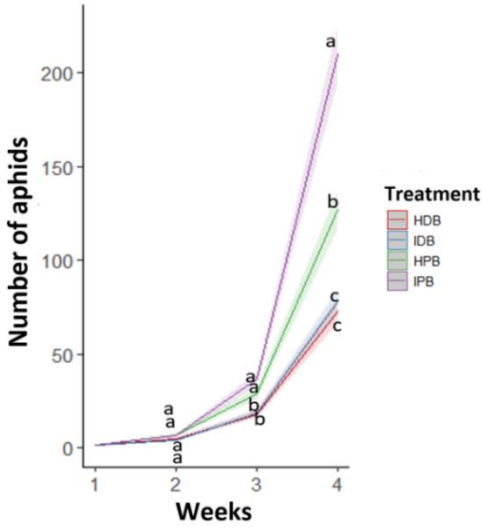


Fig. 4. Pullulation of *P. nigronervosa* on dessert and plantain banana plants, infected and uninfected (n=10). HDB: healthy dessert banana; IDB: infected dessert banana; HPB: healthy plantain banana; IPB: infected plantain banana. Shaded areas around each predicted value represent CI95%. Different letters indicate significant differences among treatments for a given week ($p < 0.05$).

The effect of BBTV on alate production

The production of *P. nigronervosa* alates on banana plants varied by banana type ($\chi2=1198.04$, Df=3, $p<0.001$; Fig. 5), and over time (weeks) ($\chi2=4113.05$ Df=1, $p<0.001$; Fig. 5). It was faster on infected plantains, then on healthy plantains, followed by healthy dessert bananas, and lower on infected dessert banana plants. Alates were thus

produced more rapidly on plantain than on dessert banana, regardless of infection status. It increased more rapidly with virus infection only on plantain, while it decreased with virus infection on dessert banana. There was an interaction effect between time (in weeks) and treatment ($\chi 2$=139.77, Df=3, p<0.001; Fig. 5), as for all four treatments, alate production was different depending on the time of observation (each time at the interval of one week) and the curves had different shapes (Fig. 5).

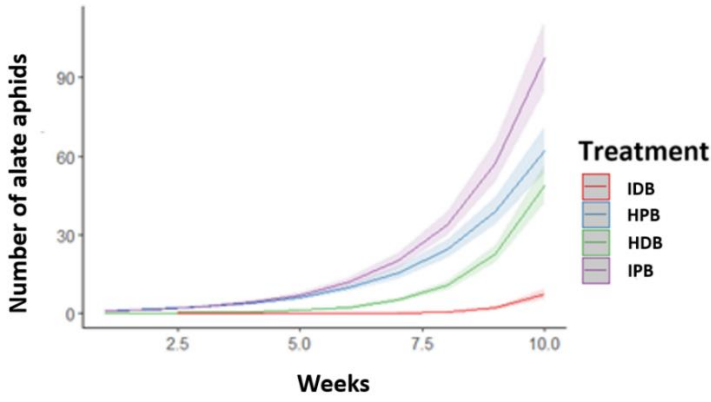


Fig. 5. Alate production on infected and uninfected dessert banana and plantain (n=10). Averages were observed on 10 replicates. HDB: healthy dessert banana (green); HPB: healthy plantain banana (blue); IDB: infected dessert banana (red); IPB: infected plantain banana (purple).

Discussion

In our study, we evaluated the effect of BBTV on life history traits, population dynamics and alate production rate of *P. nigronervosa* reared on infected and healthy, plantain and dessert banana plants. Daily fecundity per female varied with both virus infection and

genotype, with define stronger dynamics for infected plantain banana plant than for other banana types (healthy dessert banana, infected dessert banana, and healthy plantain banana plants), and lower for healthy dessert banana plant than for other banana types (infected dessert banana, healthy plantain banana, and infected plantain banana plants). This is consistent with previous studies where aphids reared on infected plants produced higher numbers of nymphs than aphids reared on healthy plants (Colvin *et al.*, 2006; Bosque-Pérez and Eigenbrode, 2011; Eigenbrode *et al.*, 2018). In addition, total aphid fecundity, in terms of net reproductive rate (Ro), differed by genotype and virus infection. Aphids reared on infected plantain banana plant had higher total fecundity, whereas on infected dessert banana plant had lower total fecundity. This is because aphid survival and longevity were lower on the infected dessert banana plant than on the other banana types (healthy dessert banana, healthy plantain banana, and infected plantain banana plants), where survival rates were similar.

It is indeed well-known that dessert banana plants are very susceptible to many diseases due to their narrow genetic base (Abadie *et al.*, 2003; Ngatat *et al.*, 2022).

In practice, the Ro value integrates both fecundity and survival of females. It is therefore closer to the original definition of fitness: the expectation of the number of viable, reproductive offspring (Haldane, 1932; Hance *et al.*, 1994; Ismail *et al.*, 2014) and gives the total offspring that a female is expected to produce during her lifetime.

Furthermore, the higher fecundity per aphid age, as well as the higher total fecundity per female (Ro), on plantain than on dessert banana (irrespective of infection status) is thought to be due to the difference in internal resource composition between Cavendish (strict triploid - AAA) and Pacific plantain (triploid hybrid - AAB), in particular the ratio of carbohydrates to amino acids in the phloem (Simmonds, 1962; Mauck *et al.*, 2014a). This is consistent with the recent study of Ngatat *et al*. (2022), who evaluated 44 *Musa* germplasm plants of different genetic compositions A and B for their performance against banana aphids. In general, dessert banana plants had the lowest aphid density per plant compared to plantain banana plants. However, the authors did not take into account the effect of virus on aphid performance.

The results of our study are consistent with those of Chakraborty *et al*. (2021) in which, on Cavendish dessert banana plants, aphids reared on infected banana plants had a shorter life span than aphids reared on uninfected banana plants. This highlights the negative effect of BBTV on the longevity and survival rate of *P. nigronervosa* on dessert banana plants, while the effect of BBTV appears to be neutral on the longevity of aphids reared on plantain banana plants. We therefore believe that *P. nigronervosa* increases its daily fecundity to compensate for the decrease in longevity due to virus infection, particularly in susceptible genotypes such as Cavendish. Thus, there is a trade-off between fecundity and longevity (and survival rate) in *P. nigronervosa* induced by viral infection, as observed in females of the Mexican Bean Weevil *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (*Chrysomelidae*: *Bruchinae*) and induced by azadirachtin (Vilca Mallqui *et al.*, 2014), as well as in

Mediterranean *Bemisia tabaci* (Gennadius) (*Hemiptera*: *Aleyrodidae*) after heat stress (Zhi-Chuang, 2014). The aim is to produce as many offspring as possible for selection, not to live long.

In this work, the virus infection had a positive effect on aphid population increase and alate production only on plantain banana plant, while it had no effect on population increase on dessert banana plant; and had a negative effect on alate production on the latter (dessert banana). This is because, as mentioned above for total fecundity per aphid (Ro), the high daily fecundity of dessert banana is counterbalanced by the very low longevity and survival rate of aphids on dessert banana plant. Thus, it appears that the virus infection has a positive effect on aphid outbreaks on plantain, while this effect is neutral on dessert banana. Also in this work, the increase in aphids on plantain (infected and uninfected) was greater than that of aphids on dessert banana (infected and uninfected). This is again, as for fecundity and alate production, due to the phenotypic demarcation between the two genotypes. Indeed, it is observed that aphids seem to be attracted and multiply rapidly on genotypes resistant to the pathogens they transmit (Chesnais et *al.*, 2019, Safari Murhububa et *al.*, 2021). The increase in aphid population on banana and the production of alates (viruliferous and non-viruliferous) are consistent with each other simply because the appearance of the alates usually occurs when the aphid population density has increased significantly, or when the quality of the banana has decreased significantly (Braendle *et al.*, 2006; Williams and Dixon, 2007).

Pentalonia nigronervosa preferred to establish and multiply more rapidly on plantain plants, which are wilder (Simmonds, 1962) and obviously less susceptible to BBTV, compared to dessert bananas (severely damaged by BBTV); bearing in mind that the Cavendish variety (dessert banana), used in our experiments, is generally known to be highly susceptible to BBTV (Su *et al.,* 1992; hooks *et al.,* 2008, 2009; Ngatat *et al.,* 2022). We therefore suggest that BBTV infection excessively deteriorates the dessert banana, to the extent that it is of poor quality for *P. nigronervosa* in terms of survival rate and longevity of the aphids that colonise it; as a result, the population develops more slowly on this banana plant. On the other hand, the more rapid multiplication of *P. nigronervosa* on plantain banana plant contributes to the survival of the virus.

In this work, the virus infection caused a decrease in the length of the hind tibiae of aphids reared on both genotypes, while increasing productivity (daily fecundity per aphid). This suggests that BBTV infection have a negative impact on aphid growth (i.e. size). Virus infection in banana plants thus leads to a trade-off fecundity - body length in *P. nigronervosa*. Indeed, during a viral infection, the aphid chooses to mobilise its energy reserves (lipids, fats and carbohydrates) solely for reproduction in order to be selected. A number of studies have reported instances of trade-offs between fecundity and other traits in insects (Zhang *et al.,* 2009; Khuhro *et al.,* 2014). This is the case, for example, in the study of Ren *et al*. (2015), in which *My. persicae* aphid reared on tobacco plants infected with *Potato virus* Y (PVY) were smaller, in terms of body and cornicle length, body and head width, and

distance between compound eyes, with increased fecundity, than those reared on uninfected plants. Similarly, a study by Wosula *et al*. (2013) reported that *My. persicae* reproduction increased when fed virus infected sweet potato plants compared to healthy plants. Despite the negative effect of BBTV on aphid tibia length, the increased reproduction of *P. nigronervosa* increases the probability of virus acquisition and transmission.

The results of this work, as well as those of Safari Murhububa *et al*. (2021), tend to reinforce the 'vector manipulation hypothesis' developed to explain the relationship between insect vectors and the plant viruses they transmit (Mayer *et al.,* 2002; Ingwell *et al.,* 2012, Roosien *et al.,* 2013). This hypothesis, best applied in aphids, predicts that a virus will promote its spread from plant to plant by influencing the selection behaviour of the host plant by the vector (Mayer *et al.,* 2002; Ingwell *et al.,* 2012), and by enhancing the reproductive performance of the vector to the point of early alate production (Gildow, 1980; Blua and Perring, 1992; Johnson and Birks, 1960), thereby promoting the epidemiology of the virus. In fact, the pattern of plant-vector-virus interaction seems indeed to be favourable to the transmission mechanism of persistent viruses (case of BBTV) (Iskra-Caruana, 2003; Eigenbrode *et al.,* 2018), requiring sustained feeding in the phloem of an infected plant (Sylvester, 1980; Montllor and Gildow, 1986; Garret *et al.,* 1996; Eigenbrode *et al.,* 2018).

Furthermore, this work reveals that, despite the production of individuals with short hind tibia length (representative for body size:

Murdie, 1969) on BBTV-infected banana plants, the increased reproduction of *P. nigronervosa* would increase the probability of virus acquisition and transmission.

Conclusion

This work reports the effect of BBTV on the life history trait, population dynamics, and production of winged individuals of *P. nigronervosa* reared on dessert and plantain banana plants. Viral infection improved aphid fecundity on both genotypes, while reducing the length of the hind tibiae, although population growth, and the production of winged individuals was only improved by viral infection in aphids reared on the plantain banana plant. Thus, *P. nigronervosa* seems to better exploits the quality change of banana plants after BBTV infection on plantain banana plant than on dessert banana plant. This work contributes to the understanding of the banana plant (Musa spp)-*P. nigronervosa*-BBTV interaction, with a view to developing ecological strategies to prevent banana colonisation by *P. nigronervosa*, and thus avoid transmission of BBTV to banana plants. Furthermore, an assessment of the direct effect of BBTV acquisition on the behaviour and phisiology of *P. nigronervosa* is needed.

Chapitre 7 :

Évaluation de l'effet de l'acquisition du *Banana bunchy top virus* (BBTV) sur le comportement de *Pentalonia nigronervosa* Coquerel

Préambule

Les phytovirus et leurs vecteurs peuvent interagir directement en modifiant le comportement et la physiologie du vecteur, ou indirectement en modifiant le phénotype de la plante hôte, avec des implications sur la persistance et la propagation du phytovirus (Hurd, 2003; Lefèvre & Thomas, 2008). Le *Banana bunchy top virus* (BBTV) est l'agent étiologique du banana bunchy top desease (BBTD), l'affection virale la plus dévastatrice du bananier au monde. C'est un virus persistant, circulant et non-propagatif, transmis aux bananiers par *Pentalonia nigronervosa* Coqurel (Thomas & Iskra-Caruana, 2000; Chandrassekar *et al*., 2011; Qazi, 2016). Le Chapitre 5 de cette thèse a démontré l'effet indirect du BBTV sur *P. nigronervosa*, par une attraction préférentielle de *P. nigronervosa* vers les bananiers infectés, causée par une augmentation d'émission de COV (Safari Murhububa *et al*., 2021), tandis que le Chapitre 6 a mis en évidence l'effet indirect du BBTV sur la performance (traits d'histoire de vie et développement démographique) du vecteur, à travers une amélioration de la fécondité (y compris la croissance de la population et la production des alates), de pucerons élevés sur les bananiers infectés. Le présent Chapitre traite de l'effet direct du BBTV sur le comportement et la physiologie de *P.*

nigronervosa. La question est de savoir si l'acquisition du BBTV par *P. nigronervosa* inverserait la préférence du vecteur pour les bananiers non infectés, et modifierait sa physiologie ? Les résultats de ce Chapitre (7), et ceux des Chapitres 5 et 6 permettront de discuter l'hypothèse de la manipulation des vecteurs (VMH) appliquée à l'interaction Bananier-*P. nigronervosa*-BBTV (Mayer *et al*., 2002 ; Ingwell *et al*., 2012, Roosien *et al*., 2013).

Article n°3:

Preference of *Pentalonia nigronervosa* for infected banana plants tends to reverse after *Banana buchy top virus* acquisition

(Article not yet submitted)

Ignace SAFARI MURHUBUBA[1, 3, 5*], Claude BRAGARD[2], Marie-Laure FAUCONNIER[4], Espoir BISIMWA BASENGERE[3], Jean WALANGULULU MASAMBA[5], Thierry HANCE[1]

[1]Biodiversity Research Centre, Earth and Life Institute, UCLouvain, Croix du sud 4-5/L7.07.04 1348,1348 Louvain-la-Neuve, Belgium; [2]Applied microbiology, Earth and Life Institute, UCLouvain, Croix du sud 2/L7.05.03, 1348 Louvain-la-Neuve ; [3]Faculté des Sciences Agronomiques, Université catholique de Bukavu, Bukavu, Democratic Republic of the Congo ; [4]Laboratory of Chemistry of Natural Molecules, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Gembloux, Belgium ; [5]Institut Supérieur d'Etudes Agronomiques et Vétérinaires de Walungu, Walungu, Democratic Republic of the Congo.

Abstract

Pentalonia nigronervosa Coquerel (*Hemitera*: *Aphididae*) is the vector agent of *Banana bunchy top virus* (BBTV), the most serious viral disease of banana (*Musa* spp) in the world. Recognition of host plants by phytophagous insects is facilitated primarily by the volatile organic compounds (VOC) released from the plants, varying in quality and quantity when infected by the phytovirus. However, to favor the spread of the disease, the relative preference of the vector for infected plants

can change to a preference for uninfected plants after the vector has acquired the virus. Here, we tested whether BBTV acquisition directly alters the preference for banana plant by *P. nigronervosa*, and whether this alleged alteration is due to the effect of BBTV on vector's flight-related organs, and/or on the detection of VOC. We found that before virus acquisition, *P. nigronervosa* is more attracted by infected than healthy banana plants, both for dessert and plantain banana, while after virus acquisition, it was more attracted by healthy than infected dessert banana plant. However, the attraction remains similar for healthy and infected plantain banana plants. At the same time, aphids reared on infected bananas had smaller forewing surfaces and hind tibia length than aphids reared on healthy bananas, while the number of secondary rhinaria on the antennae was lower on dessert banana aphids than on plantain aphids, irrespective of infection status. In all four treatments, there was a strong linear correlation between hind tibia size and wing area, and a weak linear correlation between hind tibia size and total number of secondary rhinaria. We propose the 'vector manipulation hypothesis' to explain the evolution of strategies in plant pathogens to enhance their spread to new hosts. These results have implications for the management of BBTV and *P. nigronervosa*.

Introduction

The banana aphid, *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (Hemiptera, Aphididae) is the vector agent of the *Banana bunchy top virus* (BBTV), a virus causing banana bunchy top disease (BBTD), which is the most serious viral disease of bananas worldwide (Thomas & Iskra-Caruana, 2000; Chandrassekar *et al*., 2011; Qazi, 2016). Being a member of the

family *Nanoviridae* and the genus Babuvirus, BBTV has a genome consisting of several segments of circular single-stranded DNA encapsulated in small isometric particles (Burns *et al*., 1995; Timchenko & Bernardi, 2007; Stainton *et al*., 2015; Mukwa *et al*., 2016). The disease is manifested by a general dwarfing of the plant, narrow leaves, chlorosis of the leaf margins, and dark green discontinuous streaks on the leaves, petioles and pseudotruncae. Leaves of infected plants are observed to become progressively smaller and erect, giving the plant a bushy appearance (Gatsinzi, 1987).

The vector is not able to acquire the virus from these leaves (Hafner., 1995; Iskra-Caruana, 2003). BBTV is transmitted after a sap uptake by the aphid vector on an infected plant, in a persistent, circulative and non-propagative manner (Iskra-Caruana, 2003; Anhalt & Almeida, 2008). As persistent virus, acquisition of BBTV requires prolonged feeding for at least a few hours on an infected plant. Virions must pass through the insect gut to survive in the haemolymph to transverse salivary tissues (hence "circulatory transmission"), without replicating in the banana aphid (hence "non-propagative") (Hogenhout *et al*., 2008; Gray *et al*., 2014).

We already know that host plant search and selection by aphids remain primarily facilitated by volatile organic compounds (VOC) emitted by plants (Bernasconi *et al*., 1998; Pickett *et al*., 2013; Piesik *et al*., 2013). We also know that the profiles of these VOC can vary in quality and quantity with the infection by the phytovirus. For example, in a study by Safari Murhububa *et al*., 2021, the authors showed that *P.*

nigronervosa was more attracted to infected banana plants than to healthy ones, through an increased in VOC emission. The preference of vectors to infected plants, as is the case for BBTV, could contribute to increased virus spread. However, a preference for infected plants will accelerate the spread of BBTV only when infected plants are rare, not when they become widespread in a plant population (McElhany *et al*., 1995, Ingwel *et al*., 2012). In this case, to facilitate the spread of the virus, it would be interesting if the vector will be deterred from infected plants and attracted to healthy banana plants after acquiring the virus.

Indeed, the interaction between the plant and the pathogen often produces a feedback effect on the vectors. It was shown that while non-infectious vectors sometimes prefer infected plants, infectious vectors tend to prefer uninfected hosts favouring transmission and global spread (Ingwel *et al*., 2012; Rajabaskar *et al*., 2014; Carmo-Sousa *et al*., 2014, 2016, Eigenbrode *et al*., 2018). This is the case in the study of Rajabaskar *et al*., (2014), where non-virulent *My. persicae* preferred to settle on *Barley yellow dwarf virus* (BYDV)-infected potato plants compared to uninfected plants, while viruliferous *My. persicae* (carrying PLRV) preferentially settled on uninfected potato plants compared to infected plants. Similarly, in the *in vitro* study by Ingwell *et al*., (2012), the aphid *Rhopalosiphum padi*, after acquiring the *barley yellow dwarf virus* (BYDV), preferred uninfected wheat plants, while the non-infecting aphid preferred BYDV-infected plants. This change in behaviour should favour the spread of the virus since the preference of non-infectious vectors for infected plants will favour acquisition, while the preference of infectious vectors for non-infected hosts favour

transmission. Natural selection on the parasite or pathogen has favoured the ability to induce host behaviour that enhances its transmission whas is usually called vector manipulation hypothesis (VMH) (Koella *et al*., 1998; Ingwell *et al*., 2012).

The question is thus how the virus is able to modify the behaviour of its host regarding to plant attractivity although its no-propagative nature. As the virus does not multiply in the aphids, we hypothesize that during development on an infected plant, the virus may act through a change in the plant quality on the alates' phenotype, even if non-propagative viruses also interact with the vector at the cellular level during movement between tissues and organs and may potentially influence the physiology and behaviour of the vector (Nault, 1997).

We have demonstrated that infection of banana with BBTV enhances the reproductive capabilities of *P. nigronervosa*, despite the decrease in the size of aphids reared on infected banana plants (Safari Murhububa *et al*., 2021). Moreover, other studies have reported that the size of an aphid can also vary according to virus infection (Ren *et al*., 2015). On the other hand, aphids have olfactory receptor systems responsible for the detection of plant volatile compounds, through olfactory sensilla such as primary and secondary rhinaria on the antennae (Wohlers & Tjallingii, 1983; van Giessen *et al*., 1994), as shown in several electrophysiological studies (Nottingham *et al*., 1991; Hardie *et al*., 1995; Visser & Piron, 1998; Park & Hardie, 1998); and a flight system allowing dispersal of winged forms to other plants (Hazell *et al*., 2005).

Our aims is thus to determine the consequences of BBTV acquisition, during development on an infected plant, on the selection behaviour of banana plant by *P. nigronervosa* as well as on the wing size and antennal SR of the alates, knowing that it is the winged morphs that are actually responsible for the transmission of phytoviruses, and to this end are equipped with an elaborate sensory system for detection, flight and localization of host plants (Braendle *et al*., 2006). In the present study, we addressed the question of whether BBTV acquisition can directly modify the physiology and behaviour of the vector.

Healthy and infected seedlings of two of the most representative banana varieties in the world: Cavendish dessert banana (AAA genome) and Pacific plantain (AAB genome) (Simmonds, 1962; Lorenzen *et al*., 2010; Ploetz, 2015) were used in this work.

Materials and methods

Insects and plants

The colony of *P. nigronervosa* was obtained as in the study of Murhububa *et al*, (2021), from a parthenogenetic female collected from a healthy banana plant in the province of South Kivu (Democratic Republic of Congo), and then continuously reared on live banana plants, free of any disease, and planted in pots (Thermoformed red MCI 17:2L) on a potting soil substrate. The aphid-banana tree combination was maintained in cages (200 x 100 x 100 cm) of small-mesh netting, placed in air-conditioned chambers at 25 ± 2 °C, a relative humidity of 40 ± 5 %, and an artificial photoperiod of 12/12h. alates (viruliferous

and non-viruliferous) were obtained when aphid population density increased significantly, or when banana quality decreased significantly (Braendle *et al*., 2006; Williams & Dixon, 2007). The virulferous aphids were reared on infected plants throughout their lives. Indeed, an adult female was deposited on a live BBTV-infected plant, which was carefully removed from the infected plant 24 hours later, with the excess larvae produced, leaving only a single larva from which all viruliferous aphid colonies were obtained. Some aphids from the resulting colony were tested by PCR (Polymerase Chain Reaction) to confirm the acquisition of BBTV. Also, some of the viruliferous aphids collected from healthy plants after the choice test (in a cage) were tested by PCR (Polymerase Chain Reaction) to confirm BBTV acquisition.

The plant material consisted of dessert banana plants of the cultivar Cavendish (strict triploid *M. paradisiaca*- AAA), and plantains of the cultivar Pacific (hybrids and triploids *M. balbisiana* - AAB), either symptomatic (with symptoms of BBTV) or asymptomatic (without symptoms of the disease). Four treatments were considered: 1° aphids reared on healthy dessert banana (HDB) and 2° healthy plantain banana (HPB), 3° aphid reared on infected dessert banana (IDB) and 4° on infected plantain banana (IPB). The plants came from the same location and were identified and collected in the same way as in the study by Murhububa *et al*. (2021). As transmission of the virus by mechanical inoculation has never been successful (Thomas *et al*., 1994; Lepoivre, 2003), all the plants used including the healthy ones were maintained and propagated in the tropical greenhouse (greenhouse n°13; G2) of the Université catholique de Louvain (Louvain-la-Neuve, Belgium) using

the PIF technique (Plants from Stem Fragments : Annex 1) (Kwa, 2003, 2009; Meutchieye, 2009; Sadom *et al*., 2010; Mbunzu *et al*., 2019) and were irrigated daily, until they reached 40-60 days of age (4-6 leaf stage), for their use in aphid rearing, as well as for viruliferous and non-viruliferous alate aphid attractiveness tests. Severe symptoms of BBTV were observed for plants obtained directly by the PIF technique (Plants issus des fragments des tiges: Annex 1) from infected banana bulbs, since offspring from an infected strain are automatically infected and show severe symptoms of BBTV (van Regenmortel *et al*., 2000; Thomas & Iskra-Caruana, 1999). Plants were tested twice by PCR to confirm the genotype (Supplementary Figure S1, in Murhububa *et al*., 2021) and infection status (Supplementary Figure S2, in Murhububa *et al*., 2021) of each plant.

Choice test to assess aphid preference

In this experiment, both viruliferous and non-viruliferous alates were used to assess the attractiveness of *P. nigronervosa* to different types of banana plants. This was achieved, in line with the attractiveness of non-viruliferous *P. nigronervosa* alates in the study by Murhububa *et al*., (2021), by using a short-range aphid flight device in a wooden cage (200 x 100 x 100 cm), the front of which was covered with a fine-mesh fabric to facilitate experimental handling. Each test was repeated 20 times, and at each repetition, two types of banana plants (heathy and infested by the virus) at the 4-6 leaf stage were placed in the cage. Twenty alate aphids reared from larval deposition until adult stage on the infected plants (viruliferous aphids) and 20 alate aphids reared for all their lives on healthy plants (non-viruliferous aphids), were placed

in an open Petri dish, on the other side of the cage and at an equal distance from the two plants (≈15 cm), to test their choice between the two olfactory sources. For each of the two aphid types, four tests were performed: HDB - HPB, HDB - IDB, HPB - IPB and IDB - IPB. Two further tests were carried out as controls for each of the two aphid types: HDB - Soil (pot containing soil alone), and HPB - Soil.

The aphid choices were evaluated by counting the number of aphids found on each of the two types of banana plants 24 h after their deposition in the cage. The banana plants and the viruliferous and non-viruliferous alates used in each replicate and treatment had never been used before.

Measurement of aphids

To assess the consequences of plant quality when infected by BBTV on VOC detection by aphids, a count of the number of secondary rhinaria (SR) on the third, fourth (Fig. 2) and fifth antennal segments (Segments that bear SR in *P. nigronervosa*: Park & Hardie, 2002; Fig. 1) was realized on aphids from healthy and BBTV-infected dessert banana plant and plantain. Moreover, forewing area was also measured (Fig.1) on the same individuals. In whole, 20 aphids (20 replicates) per treatment representing 80 alate aphids from four different types of banana plants (treatments) were considered in this part of the work. The hind tibia length (mm) of theses alate aphids, representative of body size (Murdie, 1969) was measured (Fig. 1, in chapter 6) as a co-variable in the statistical analyses to assess its respective correlations with forewing area and total SR numbers. Forewing area and hind tibia

length were measured under a camera-mounted stereomicroscope (LEICA MZ6), while SR counts were made using a camera-mounted light microscope.



Fig. 1. Forewing of *P. nigronervosa*, showing measurement of forewing area.

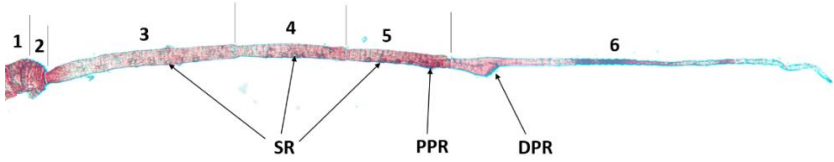


Fig. 2. Antenna of *P. nigronervosa* alates, with secondary rhinaria on the third, fourth and fifth antennal articles (Relevant only for Chapter 8). SR: Secondary Rhinaria; PPR: Proximal primary rhinaria; DPR: Distal primary rhinaria.

Statistical analysis

Comparisons of decisions made by viruliferous and non-viruliferous alate aphids between each pair of olfactory sources were made using Student's t-tests (the normal distribution of our data was visually assessed and tested using the Shapiro-Wilk test). Differences in total

SR numbers, forewing areas, and hind tibia length between each treatment were analyzed using generalized linear models (GLM) fitted with a Gaussian family and a Poisson family, respectively. Contrasts between levels of a significant variable ($p < 0.05$) were analyzed using the emmeans package (Lenth *et al*., 2018). The measured length of the hind tibia was used as a co-variable to assess its correlation with forewing area, and with the number of antennal SR, respectively. Most statistical analyses were performed on R v4.0 (R Core Team, 2022), except for the linear correlation analyses (with the coefficients of determination R2, the equations of the trend curves, as well as their ANOVA), which were performed on Excel.

Results

Choice test to evaluate attractiveness of non-viruliferous and viruliferous alates

In validation tests comparing the attractiveness of banana aphids towards a banana plant or a control (potting soil only), non-viruliferous and viruliferous aphids were each time more attracted to the banana plant (Supplementary Table S2).

Viruliferous aphids were more attracted to HDB than to IDB ($t=3.37$, $p=0.011$, Fig. 3A), while non-viruliferous aphids were more attracted to IDB than to HDB ($t = - 5.04$, $p < 0.001$, Fig. 3A). However, viruliferous aphids did not made a differential choice between IPB and HPB ($t=0.75$, $p=0.38$, Fig. 3B) whereas non-viruliferous were more attracted by IPB than by HPB ($t = - 6.68$, $p < 0.001$, Fig. 2B). In addition, viruliferous *P. nigronervosa* were similarly attracted by IDB

and IPB (p=2.85, p=0.091, Fig. 3C), whereas non-viruliferous ones were more attracted to IPB than to IDB (t = - 2.65, p = 0.01, Fig. 3C). Finally, both viruliferous and non-viruliferous were similarly attracted by HDB and HPB (t = -1.48, p = 0.15; t = 3.37, p = 0.66; Fig. 3D).

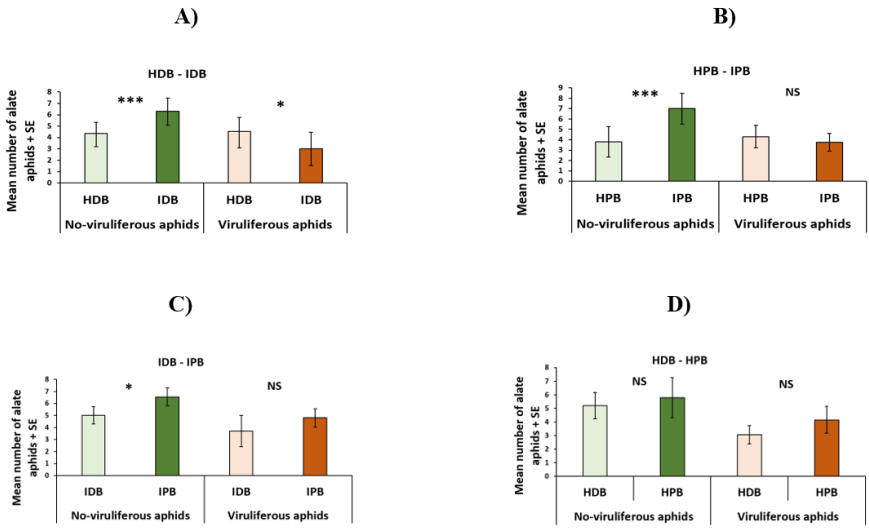


Fig. 3. Comparison of the choice of viruliferous and non-viruliferous alate aphids on banana plants. The average number of aphids per plant is shown with standard deviation, based on 20 replicates, each time with 20 aphids per experiment. NS: not significant, (*): p value < 0.05, (***): p value < 0.001. A): Healthy dessert banana and infected dessert banana, B): Healthy plantain and infected plantain, C): Infected dessert banana and infected plantain, D): Healthy dessert banana and healthy plantain. HDB: healthy dessert banana; IDB: infected dessert banana; HPB: healthy plantain banana; IPB: infected plantain banana.

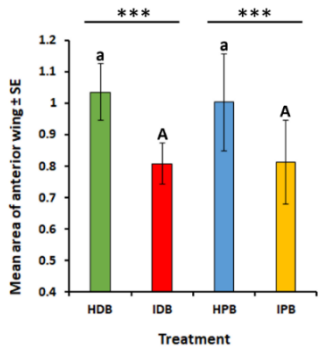
Changes in morphology related to flight and to VOC detection

Forewing area varied with virus infection of the banana plants, independent of genotype (Tukey contrasts: z=-6.19, p<0.001; p=5.19, p<0.001) (Fig. 4A), and did not vary with genotype, independent of infection status (Tukey contrasts: z=-0.14, p=1; z=-0.87, p=0.82) (Fig. 4A). For both genotypes, aphids collected from healthy banana plants (non-viruliferous aphids) had larger wings than aphids collected from infected banana plants (viruliferous aphids) (Fig. 4A). At the same time, the length of the posterior tibiae of alates varied with virus infection, independently of genotype (Tukey contrasts: z=-5.64, p=0.001; z=-4.26, p=0.001) (Fig.4B), and did not vary at all with genotype, independently of infection status (Tukey contrasts: z=0.29, p=0.99; z=-1.66, p=0.35) (Fig. 4B). For both genotypes, alates from healthy banana plants (non-viruliferous aphids) had longer hind tibiae than aphids collected from infected banana plants (viruliferous aphids) (Fig.4B), indicating a greater body size on healthy plants. There was a strong linear correlation between hind tibia size and forewing area in all four treatments. Thus, 71.79%, 64.01%, 90.38% and 75.15% of the variance in forewing area from HDB ($y = 0.757x + 0.2116$, $R^2 = 0.71$, t=6.76, p<0.001), IDB ($y = 0.98x - 0.064$, $R^2 = 0.64$, t=5. 58, p<0.001), HPB ($y = 1.188x - 0.23$, $R^2 = 0.90$, $p < 0.001$, t=13), and IPB ($y = 1.801x - 0.67$, $R^2 = 0.75$, p<0.001, t= 7.37) can be explained by body size (in terms of hind tibia length) (Fig. 5A).

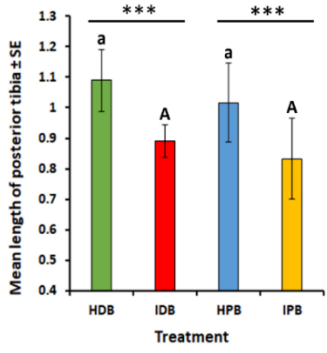
Concerning rhinaria on the antennae of aphids reared on both banana genotypes when infected (viruliferous aphids), the number of SR did not vary with virus acquisition (Tukey contrasts: z=-1.23, p=0.61;

p=1.80 p=0.24) (Fig. 4B), but did vary with genotype, independent of infection status (Tukey contrasts: z=-2.97, p<0.001; z=-3.62, p=0.003) (Fig. 4C); alates reared on plantain having a higher number of SR than aphids reared on dessert banana plants (Fig. 4C).

A)


***
***
a
A
a
A
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
Mean area of anterior wing ± SE
HDB
IDB
HPB
IPB
Treatment

B)


***
***
a
A
a
A
1.3
1.2
1.1
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
Mean length of posterior tibia ± SE
HDB
IDB
HPB
IPB
Treatment

C)

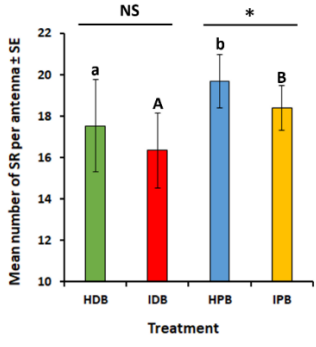

NS
*
a
A
b
B
22
20
18
16
14
12
10
Mean number of SR per antenna ± SE
HDB
IDB
HPB
IPB
Treatment

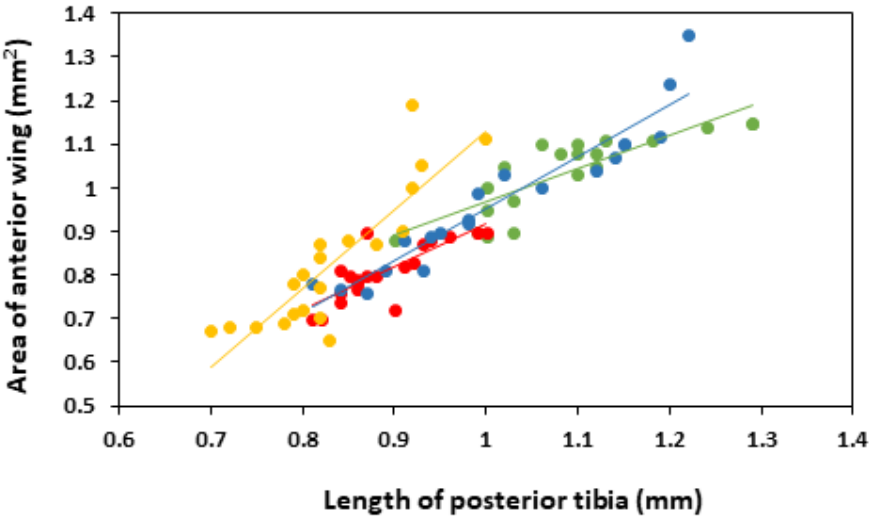
Fig. 4. Effect of BBTV on (A) average forewing area (mm^2); (B) average length of hind tibiae (mm); and (C) average number of SR on antennae (mm) of aphid reared on the four kind of banana plants: HDB: healthy dessert banana; IDB: infected dessert banana; HPB: healthy plantain banana; IPB: infected plantain banana. Means with standard deviations, observed in each case over twenty replicates, are shown. Statistical results (GLM): NS indicate non-significant results ($p > 0.05$), stars indicate significant differences ($p < 0.05$) between infection statuses (for each genotype) and different letters indicate significant differences ($p < 0.05$) between genotypes (for each infection status).

There was a strong linear correlation between hind tibia size and aphid forewing area in all four treatments. Thus, 71.79%, 64.01%, 90.38% and 75.15% of the variance in forewing area from aphids raised on HDB ($y = 0.757x + 0.2116$, $R^2 = 0.71$, $t=6.76$, $p<0.001$), IDB ($y = 0.98x - 0.064$, $R^2 = 0.64$, $t=5.58$, $p<0.001$), HPB ($y = 1.188x - 0.23$, $R^2 = 0.90$, $p < 0.001$, $t=13$), and IPB ($y = 1.801x - 0.67$, $R^2 = 0.75$, $p<0.001$, $t= 7.37$) can be explained by body size (in terms of hind tibia length).

Regarding the number of SR, there was a linear but weak correlation between the size of the hind aphid tibia and the total number of their antennae SR in all four treatments. Thus, 24.7%, 26.23%, 20.69% and 38.93% of the variance in the number of SR from aphids raised on HDB ($y = 10.775x + 5.8165$, $R^2 = 0.247$, $t=2.43$, $p=0.025$), IDB ($y = 17.273x + 0.9773$, $R^2 = 0.26$, $t=2.53$, $p=0.0025$), HPB ($y = 5.184x + 13.801$, $R^2 = 0.20$, $t=4.148$, $p=0.024$), and IPB ($y = 18.127x + 3.3094$, $R^2 = 0.38$,

t=3.387, p=0.0032) can be explained by the size of the body of the alate aphids (Fig. 5B).

A)



B)

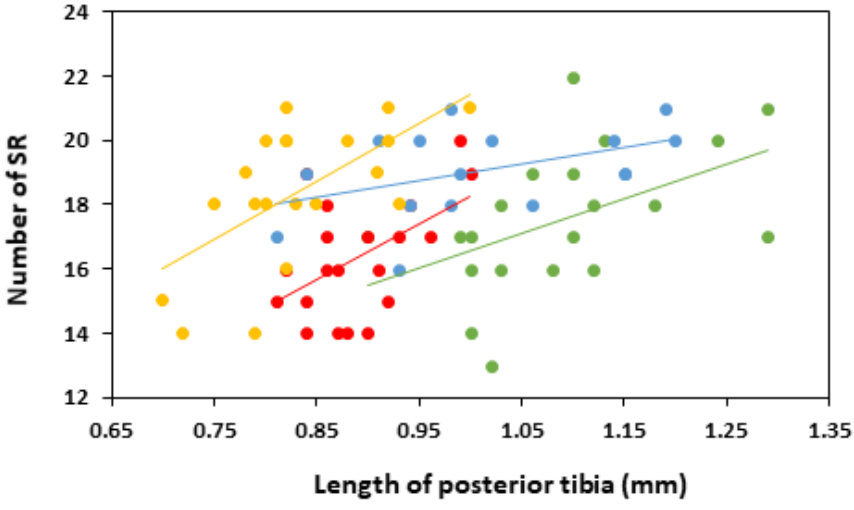


Fig. 5. Linear correlation (n=10) between (A) forewing area and hind tibia length, (B) total number of SR on antennae and hind tibia length of *P. nigronervosa* alates, collected from healthy dessert banana plants (green), infected dessert banana plants (red), healthy plantain banana plants (blue), and infected plantain banana plants (yellow). HDB: healthy dessert banana; IDB: infected dessert banana; HPB: healthy plantain banana; IPB: infected plantain banana.

Discussion

In the present study, we evaluated the direct effect of BBTV acquisition on the selection behaviour of banana plant by *P. nigronervosa*, and on the wing size, tibia size and number of antennal SR of alates. We found that when reared on healthy plants, *P. nigronervosa* was more attracted to infected dessert banana than to healthy dessert banana, and to infected plantain banana than to healthy plantain banana plant, while when reared on an infected plant, alates were more attracted to healthy dessert banana than to infected dessert banana plants but similarly to healthy plantain banana and infected plantain banana plants. The preference of *P. nigronervosa* for infected banana plants therefore tends to be reversed after BBTV acquisition. This increases the probability of virus transmission after its acquisition on desert banana only. In various pathosystems, it is observed that virus spread can be consistently accelerated if vector preferences are dynamic, such that vectors preferentially settle and feed on infected plants until they have acquired the virus, after which they preferentially settle and feed on uninfected plants (Roosien *et al.*, 2013). These results are consistent with the 'vector manipulation hypothesis (VMH)' which states that plant

pathogens enhance their spread to new hosts through their effects on mobile vectors (Mayer *et al*., 2002; Ingwell *et al*., 2012, Roosien *et al*., 2013). The preference of an aphid vector of phytovirus towards their hosts is therefore dynamic depending on whether it is in the pre- or post-acquisition period (Medina-Ortega *et al*., 2009; Ingwell *et al*., 2012; Eigenbrode *et al*. 2018). It has been shown, for example, that non-viruliferous *R. padi* prefer BYDV-infected wheat plants over sham-inoculated plants, but aphids preferred uninfected plants after having acquired BYDV (Ingwell *et al*., 2012).

The effects of the virus on phenotypes show a remarkable degree of convergence between viruses whose transmission is favoured by the same vector behaviour. This convergence is based more on transmission mechanism than on phylogeny (Ingwell *et al*., 2012). These vector manipulation traits, dependent on the transmission mechanism, appear to be adaptive and not just by-products of infection (Mauck *et al*., 2012; Eigenbrode *et al*., 2018; Mauck & Chesnais, 2020). For example, non-persistently transmitted viruses bind transiently to insect mouthparts, and interactions in these pathosystems are likely to be limited to indirect effects on the vectors (Nault, 1997). In this strategy, the vector appears to be falsely attracted to the infected plant and then rapidly disperses (Mauck *et al*., 2010; Tungadi *et al*., 2017). To optimize its transmission and spread, the non-persistent virus induces a pull-push strategy from its vector to its host plant. In contrast, persistent transmission viruses attract their vectors more frequently and improve their performance on infected plants compared to non-persistent transmission viruses. In the persistent strategy, the virus

vector develops a strong affinity with the host plant. Virus acquisition requires sustained feeding in the phloem of the infected plant while the virus circulates within the insect to the salivary glands where the virions reside. These viruses are almost exclusively dependent on the vector for transmission (Koella *et al*., 1998). After acquisition, the insect remains a vector for life (Harris *et al*. 1977; Carmo-Sousa *et al*., 2014). Although they do not replicate in the vector, persistently transmitted viruses interact with the vector at the cellular level during movement between tissues and organs, with the potential to directly alter the physiology and behaviour of the vector (Nault, 1997). The effects of pathogens on vector biology and behaviour have been documented in several pathosystems (Hurd, 2003; Lefèvre & Thomas, 2008).

In this work, virus infection caused a decrease in the length of the hind tibiae and forewing area (but not the SR) of aphids reared on both genotypes. This suggests that BBTV infection has a negative impact on aphid growth. Viral infection of banana plants thus leads to a fecundity-body size trade-off trade-off in *P. nigronervosa*. This was also observed in the winged in chapter 6 of this thesis. Indeed, as in Chapter 6, during a viral infection, the aphid chooses to mobilise its energy reserves (lipids, fats and carbohydrates) solely for reproduction in order to be selected. Many studies have reported trade-offs between fecundity and other traits in insects (Zhang *et al*., 2009; Khuhro *et al*., 2014).

Here we believe that alterations in aphid behavior are primarily due to virus acquisition rather than the effect of the infected plant phenotype. This was confirmed in aphids which acquired the virus without contact

with infected plants but by feeding on a medium containing viral particles, thus circumventing the potential indirect effect of the plant, and attesting to a direct effect of a plant virus on the aphid vector (Ingwell *et al*., 2012). However, it is difficult at this level to demonstrate that the alteration of the physiology of the aphid is exclusively due to the direct effect of the virus on the vector, and not to the effect of acquisition of the virus, especially for a no – propagative virus like the BBTV. In fact, most plant phytoviruses do not replicate in the vector, so that these vectors are not pathogenic hosts, *sensu stricto*. Our model pathogen (BBTV) is a member of the *Nanoviridae*, transmitted by *P. nigronervosa* in a persistent, cirulative, non-propagative mode; and for which evidence of non-multiplication (replication and transcription) within the vector has never been observed (Bressan & Watanabe, 2011). Logically, this would imply that *P. nigronervosa* is not considered a pathogenic host of BBTV, *sensu stricto*. However, in a study by Sicard *et al*. (2015), aiming to clarify the molecular and cellular interactions between three aphids (*Acyrthosiphon pisum*, *Aphis craccivora* and *Myzus persicae*), and Faba bean necrotic stunt virus (FBNSV) (a multipartite virus and member of the *Nanoviridae* like BBTV), the authors had found that the transmission mechanisms revealed an unexpectedly intimate interaction that might not correspond to the canonical circular non-propagative transmission.

A specific mode of interaction between viruses and arthropod vectors has been widely described for plant viruses of the three families *Luteoviridae*, *Geminiviridae* and *Nanoviridae*, but never for other

viruses such as animal arboviruses (haematophagous). This so-called circulatory non-propagative transmission contrasts with the classical biological transmission of animal arboviruses in that the corresponding viruses are thought to cross the cellular barriers of the vectors, from the intestinal lumen to the haemolymph and salivary glands, without expressing any of their genes and without replicating (Mehta *et al*., 1994 ; Franz *et al*., 1998 ; Czosnek *et al*., 2001 ; Sinisterra *et al*., 2005 ; Brault *et al*., 2007 ; Díaz-Pendón *et al*., 2010 ; Blanc *et al*., 2014). By following the genetic composition of viral populations during the life cycle of *Faba bean necrotic stunt virus* (FBNSV) (genus Nanovirus), the authors demonstrated reproducible genetic changes during the transit of the virus through the body of the aphid vector. These changes are not consistent with the view that viruses only pass through the body of their arthropod vectors and suggest more intimate interactions, challenging the current understanding of non-propagative circulatory transmission. The involvement of this additional factor indicates at least that the nanovirus-aphid relationship might be more complex than (or different from) that described for luteoviruses.

Our results, and those of previous studies (Ingwell *et al*., 2012; Moreno-Delafuente *et al*., 2013;) do not address the specific cellular and molecular mechanisms mediating the direct effects of plant viruses on their vectors. We therefore believe that understanding the direct effect of viruses on their vectors must also involve the cellular and molecular mechanisms specific to the aphid-virus interaction.

Although the number of studies dealing with direct effects or direct manipulation is starting to increase, this work is very recent and it is still too early to define a general view, to have a general paradigm on this subject.

Conclusion

In this work, we found that the acquisition of BBTV provokes change in aphid behaviour to its host plant while plant infection status leads to a decrease in the length of the hind tibia and forewing area. It appears that BBTV influence *P. nigronervosa* to favour its spread. In agreement with Ingwell *et al*. (2012), and Rajabaskar *et al*. (2014), these results confirm that virus acquisition can also reverse the relative preferences to settle on virus-infected versus healthy plants. This work contributes to the understanding that the responses of *P. nigronervosa* to VOC emitted by infected banana plants are dynamic, leading to disease progression. These results may help to develop a new ecological strategy to prevent the colonization of banana by *P. nigronervosa*, and thus avoid transmission of BBTV to banana plants.

Chapitre 8 :

Détermination de la prévalence de la bactérie *Wolbachia* en conditions naturelles et de son développement au sein du puceron *P. nigronervosa*

Préambule

Le *Banana bunchy top virus* (BBTV) est l'agent étiologique du banana bunchy top disease (BBTD), l'affection virale la plus dévastatrice du bananier au monde. Il est transmis aux bananiers par *Pentalonia nigronervosa* Coquerel, selon le mode persistant, circulatif et non-propagatif (Thomas & Iskra-Caruana, 2000 ; Chandrassekar *et al*., 2011 ; Qazi, 2016).

Les Chapitres 5, 6 et 7 de cette thèse ont permis de vérifier l'hypothèse de la manipulation vectorielle (VMH) sur l'interaction Bananier-*P. nigronervosa*-BBTV (Mayer *et al*., 2002 ; Ingwell *et al*., 2012, Roosien *et al*., 2013). Le présent chapitre (8) est une étude préliminaire visant à déterminer le rôle du symbionte obligatoire *Wolbachia* dans la transmission du BBTV, sachant que l'interaction hôte végétal-puceron-virus est supposée impliquer un quatrième type de partenaire : les symbiontes bactériens hébergés dans le corps du vecteur (Gray *et al*., 2014 ; Pinheiro *et al*., 2015). Dans un premier temps, l'idée est de déterminer la prévalence de la bactérie *Wolbachia* en conditions naturelles au sein du puceron *P. nigronervosa*, afin de vérifier l'aspect obligatoire de la symbiose. Cet aspect sera complété par une étude de la localisation de la bactérie dans le puceron. L'ensemble correspond à

l’acquisition de données préliminaires, indispensables à une étude plus poussée à venir sur les relations entre *Wolbachia* et la transmission virale chez *P. nigronervosa*.

Article n°4:

Prevalence and localization of *Wolbachia* in the banana aphid *Pentalonia nigronervosa* in east Democratic Republic of Congo and Burundi.

(Preliminary work)

Ignace SAFARI MURHUBUBA[1, 3*], François Renoz[1], Claude BRAGARD[2], Thierry HANCE[1]

[1]Biodiversity Research Centre, Earth and Life Institute, UCLouvain, Croix du sud 4-5/L7.07.04 1348,1348 Louvain-la-Neuve, Belgium; [2]Applied microbiology, Earth and Life Institute, UCLouvain, Croix du sud 2/L7.05.03, 1348 Louvain-la-Neuve; [3]Faculté des Sciences Agronomiques, Université Catholique de Bukavu, Bukavu, Democratic Republic of the Congo.

Abstract

Many insects are associated with inherited symbiotic bacteria that may be important drivers of their evolutionary ecology. The diversity of these inherited symbionts has been well documented in aphids, which harbour an obligate nutritional symbiont, *Buchnera aphidicola*, and may also be associated with facultative symbionts, including *Wolbachia* symbionts. Recent observations indicate that *Wolbachia* symbionts are unusually widespread in the banana aphid *Pentalonia nigronervosa*, the main vector of *Banana Bunchy Top Virus* (BBTV), the world's most devastating viral disease of banana. This preliminary study aims to investigate the prevalence of *Wolbachia* in *P.*

nigronervosa and to determine is localization inside the aphids to determine its potential obligatory character in relation with BBTV transmission. First, a molecular identification of *Wolbachia* in *P. nigronervosa* samples collected in east DR Congo (South-Kivu, Tshopo and Bas-Uele) and Burundi (Bujumbura and Cibitoke), as well as in a clonal line created in the laboratory (viruliferous and non-viruliferous), was carried out to confirm the prevalence of *Wolbach*ia in *P. nigronervosa* from in these regions. In addition, tissue tropism analysis by fluorescence in situ hybridization (FISH) was performed to localize *Wolbachia* in *P. nigronervosa* tissues. We found that *Wolbachia* was present in only 52.27% of the samples collected in the field. Furthermore, it infects a wide variety of host tissues but not bacteriocytes harbouring *Buchnera aphidicola*. This preliminary work reveals that *Wolbachia* is a facultative endosymbiont in *P. nigronervosa* and does not have a co-nutritional role like *B. aphidicola*.

Keywords: bacterial mutualism, banana aphid, *Banana bunchy top virus*, bacteriocytes, *Buchnera aphidicola*, *Wolbachia*

Introduction

Aphids are economically important plant pests that cause damage to crop and ornamental plant species by feeding on plant sap and transmitting plant viruses. Of approximately 5,000 aphid species, about 100 have been identified as important agricultural pests (Emden and Harrington, 2017). The banana aphid, *Pentalonia nigronervosa* Coquerel *(Hemiptera*: *Aphididae*), is the vector of *Banana bunchy top*

virus (BBTV), the most serious viral disease of banana worldwide (Chandrasekar *et al*., 2011), sometimes resulting in 100% yield loss (Quzi, 2016).

Pentalonia nigronervosa is also well known to harbor *Wolbachia* symbionts in addition to the obligate nutritional symbiont *Buchnera aphidicola* (De Clerck *et al*., 2014,2015). These α-proteobacteria of the order Rickettsiales are arguably the most widespread maternally transmitted endosymbionts in the animal kingdom (Kaur *et al*., 2021; Warren *et al*., 2008). They are particularly prevalent in arthropods where they can use sophisticated mechanisms to propagate through insect populations (Kaur *et al*., 2021). Most *Wolbachia* symbionts described so far manipulate host reproduction by promoting favorable female sex through four mechanisms: cytoplasmic incompatibility, male death, parthenogenesis, and feminization. However, *Wolbachia* symbionts may also be associated with other phenotypes, including the influence of the host insect's vectorial capacity to transmit viruses (Kaur et al., 2021; Hedges et al., 2008). While virus-*Wolbachia* interactions have been studied primarily in some blood-feeding insects (Dutra *et al*., 2010; Bian *et al*., 2010), little is known about these interactions in phloem-feeding insects. *Wolbachia* symbionts are notoriously rare in these insects, but recent findings suggest that *Wolbachia* may be used to control insect-borne plant virus diseases (Gong *et al*., 2020). Because *Wolbachia* has been recurrently detected in *P. nigronervosa*, this aphid species represents a species of interest to study the interactions between *Wolbachia* symbionts and plant viruses in a phytophagous insect.

This work is a preliminary study to determine the role of endosymbionts in the Banana plant-*P. nigronervosa*-BBTV interaction. We limited ourselves to determining the prevalence of *Wolbachia* in a viruliferous and non-viruliferous clonal population of *P. nigronervosa*, and in field-collected samples of *P. nigronervosa* in DR Congo and Burundi. We also conducted laboratory experiments to determine the tissue tropism of *Wolbachia* symbionts during the development of *P. nigronervosa*.

Methods

Collection and identification of aphids

Pentalonia nigronervosa aphids (apterous adult) were collected from banana plants (*Musa* ssp) during a sampling campaign in the African Great Lakes region, including the Democratic Republic of Congo (four sites: Walungu, Kabare, Kisangani and Buta) and the Republic of Burundi at the beginning of the calendar year 2022 (two sites: Bujumbura and Cibitoke). Thus, 44 colonies (samples) from 6 sites were considered in this aphid field collection (Table 1). Each sample was composed of 15 to 20 apterous adult aphids from the same colony, stored in a vial containing 95% ethanol and kept at 4°C until use in Belgium.

Table 1. Distribution of samples between sites and site characteristics

	Country	City	Number of sites	Site characteristics
1	Burundi	Bujumbura	6	The economic capital of the country, which until 2018 was the political capital.
2	Burundi	Cibitoke	6	Capital of the province of the same name, located in the northwest of Burundi.
3	DR Congo	Bukavu (Walungu)	5	Decentralised administrative entity located in the South-West of Bukavu.
4	DR Congo	Bakawu (Kabare)	8	Deconcentrated administrative entity located northwest of Bukavu.
5	DR Congo	Kisangani	13	Capital of the province of Tshopo, located in the North-East of the DR Congo, crossed by the equator.
6	DR Congo	Buta	6	Capital of the province of Bas-Uele, located in the north-east of the DR Congo, and extending into the equatorial forest.

Establishment of *Wolbachia*-infected clonal lines

The clonal line of *P. nigronervosa* (clone Kivu) used in these experiments was initially obtained from a parthenogenetic female collected from a healthy banana tree in the province of South Kivu (Democratic Republic of Congo), and continuously reared on live banana plants (plantain and dessert, infected and uninfected), planted on potting soil. The aphid-banana complex was maintained in small-

mesh net cages (200×100×100 cm), placed in an air-conditioned chamber at 25±2°C, 40±5% relative humidity, and an artificial photoperiod of 12 hours/12 hours.

Diagnosis of *B. aphidicola* and *Wolbachia* in *P. nigronervosa*

In these tests, diagnosis targeting *B. aphidicola* and *Wolbachia* was performed by PCR on the aphid clone obtained and reared in the laboratory, as well as on field-collected samples. The identification of *B. aphidicola* was used as a control, as this endosymbiont is obligatory in aphids (De Clerck *et al*., 2014, 2015). Partial 16S ribosomal DNA (rDNA) sequences of the symbionts were amplified for each aphid strain using the direct primer 16SA1_nt1 (5′-AGAGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3′) and (5'-TTCCAGTGTGGCTGGTTA-3') for *B. aphidicola*, and (5′-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3′) and (5′-CTTCTGTGAGGTACCGTCATTATC-3') for *Wolbachia*. For both endosymbionts, PCR assays were performed in a final volume of 15 µL, containing 7.375 µL of H_2O, 3 µl of buffer, 0.8 µL of MgCl2, 1.2 µL of dNTP, 0.75 µL of each primer, 0.125 µL of Taq DNA polymerase (Roche) and 1.5 µL of DNA polymerase. The thermocycling profile was as follows: an initial step of 94 °C for 2 min, followed by 30 cycles of 94 °C for 1 min, 58 °C for 1 min and 70 °C for 2 min and a final step of 70 °C for 7 min.

Histological observations (location of symbionts in vivo)

To establish the general tissue tropism of *Wolbachia* symbionts in whole aphids (pupal and adult stages), fluorescence in situ hybridization (FISH) was performed as previously described (Koga et al., 2009), applying tissue dissection (salivary glands, digestive tract and embryos). The following oligonucleotide probes were used for in situ hybridization: Cy5-ApisP2a (5′-Cy5-CCTCTTTTGGGTAGATCC-3′) targeting *B. aphidicola* 16S rRNA (Koga *et al*., 2003) and Cy3-W2 (5'-Cy3 CTTCTGTGAGTACCGTCATTATC-3') targeting 16S rRNA of *Wolbachia* (Raquin *et al*., 2015). After this incubation period, the samples were washed and observed under a Zeiss LSM 710 confocal microscope equipped with the Airyscan detector.

Preliminary results

PCR identification

In these tests, identification of *B. aphidicola* and *Wolbachia* by PCR revealed the presence of both endosymbionts in all aphids of the clonal lines established in the laboratory, both on healthy (dessert and plantain) and infected (dessert and plantain) banana plants. In addition, all aphids collected in the field contained *B. aphidicola*, but not all contained *Wolbachia* (Table 2).

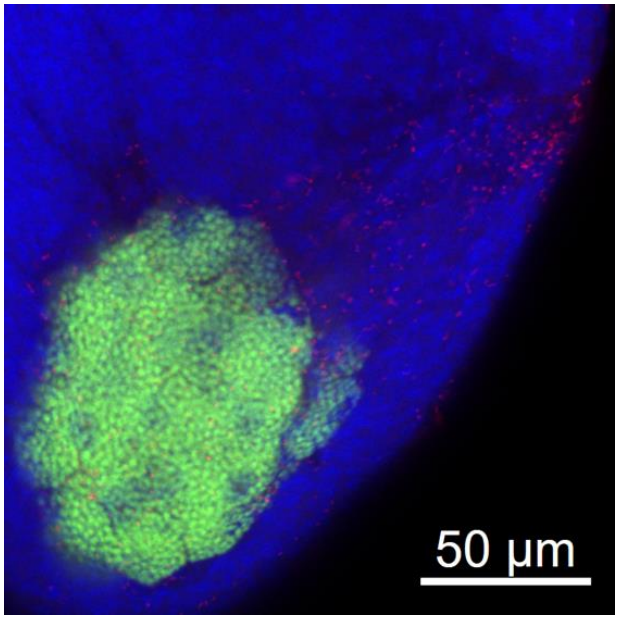
Table 2. Prevalence of *Wolbachia* in aphid collection sites in DR Congo and Burundi

Country	Location	Number of samples	Percentage (%)
Burundi	Cibitoke	6 of 6	100
	Bujumbura	3 of 6	50
DR Congo	Walungu	1 of 5	20
	Kabare	2 of 8	25
	Kisangani	8 of 13	61.5
	Buta	3 of 6	33.33
Mean			52.27

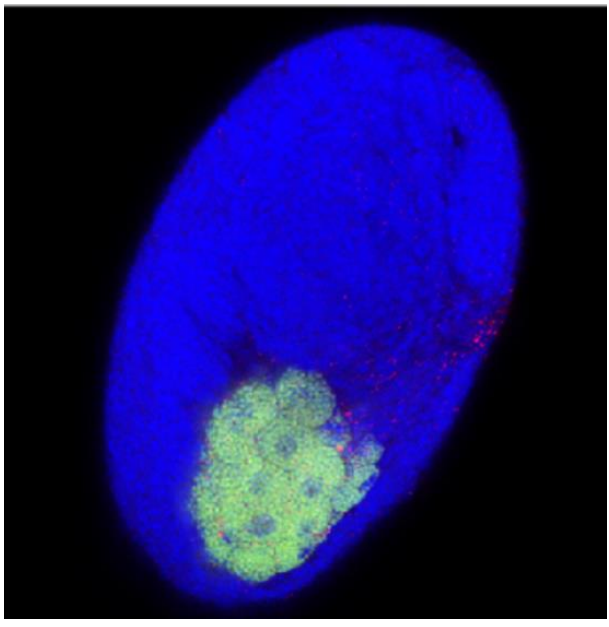
The results in table 2 show that *Wolbachia* is not an obligate symbiont in *P. nigronervosa*.

Histological observations

A)



B)



C)

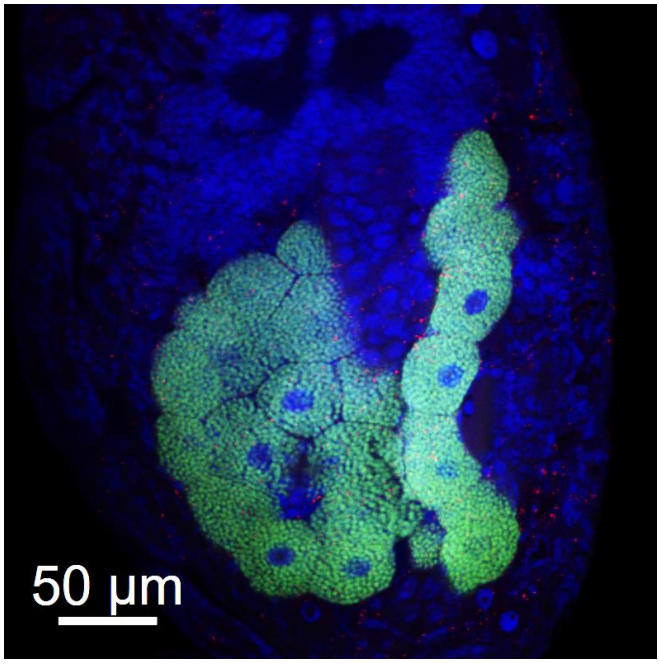


Fig. 1. Fluorescence in situ hybridization (FISH) of *Wolbachia* (red: Cyanine 3), and *B. aphidicola* (green: Cyanine 5) in an embryo of *P. nigronervosa* bacteriocytes with a blue-labelled nucleus confining an organ called Bacterium. Photos: Renoz & Safari Murhububa, 2022

In Figure 1, bacteriocytes (cells that contain endosymbionts) are clearly visible with their nuclei colored blue. They are filled by the obligate symbiont *Buchnera aphidicola* in green. The red dots correspond to the presence of *Wolbachia*. It means that during embryogenesis, *Wolbachia* invades the hemolymph in a disparate manner and is not internalized into the bacteriocytes that harbor *B. aphidicola*.

Discussion

In this work, we have clearly shown that the presence of *Wolbachia* was highly variable depending on the sampling regions, between 20 and 100%. Such a pattern calls into question the obligatory nature of the association. Moreover, the absence of *Wolbachia* in bacteriocytes, which are the cells that mediate metabolic exchanges between notional symbionts and the insect host, suggests that this endosymbiont does not have a nutritional role in *P. nigronervosa*. Our results are not consistent with those of De Clerck *et al*. (2014; 2015), who suggest that *Wolbachia* would be a nutritional co-obligate symbiont in *P. nigronervosa*. In contrast, our results are consistent with the study of Manzano-Marín *et al*. (2020), who suggest that there is no evidence that *Wolbachia* is a nutritional coobligate endosymbiont in *P. nigronervosa*.

Regarding *B. aphidicola*, some viruses have been shown to bind to the haemolymph GroEL proteins produced by the *B. aphidicola* endosymbiont. This interaction seems to prevent the degradation of virus particles in the aphid haemocoele (van den Heuvel *et al*., 1994). However, there is no evidence of an interaction between the GroEL protein of *B. aphidicola* and BBTV (Watanabe and Bressan, 2013; Watanabe *et al*., 2016). Furthermore, preliminary results confirm that *B. aphidicola* remains an obligate symbiont in *P. nigronervosa* and has a nutritional role.

The role of *Wolbachia* in aphids remains unknown. However, it is possible that this facultative symbiont modifies host reproduction and

possibly interferes with the transmission of phytoviruses. These hypotheses are not yet proven. We would therefore like to pursue further research, for example using the clonal line we have established in the laboratory, to determine the role of *Wolbachia* in BBTV transmission. It is generally thought that virus proteins interact with insect, endosymbiont and plant proteins to directly and indirectly orchestrate virus movement in insects and plants to facilitate transmission (Gray *et al*., 2014).

Conclusion

This work is the first step in a study aimed at clarifying the role of the *Wolbachia-P. nigronervosa* interaction in the transmission of BBTV in banana. It shows that *Wolbachia* is a facultative symbiont in *P. nigronervosa* and does not have a nutritional role, as is the case for *B. aphidicola*. Further, more extensive experiments are needed to resolve this issue.

PARTIE III : DISCUSSION GÉNÉRALE, CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Chapitre 9 :
Discussion Générale

Les maladies virales du bananier et du plantain (*Musa* spp) causent des dégâts économiques majeurs chez les producteurs. Tel est le cas pour le Banana bunchy top disease (BBTD), qui est l'affection virale la plus dévastatrice des bananiers au monde, et dont l'agent étiologique est le *Banana bunchy top virus* (BBTV). Le virus est transmis par le puceron du bananier, *Pentalonia nigronervosa* Coquerel, selon le mode persistant, circulatif et non-propagatif, à partir de foyers d'infection crées après l'utilisation de matériel de plantation infecté (Thomas et *al*., 1994 ; Thomas & Iskra-Caruana, 2000 ; Anhalt & Almeida, 2008; Mukwa *et al*., 2014 ; Qazi, 2016). Cette thèse vise de clarifier l'interaction Bananier - *P. nigronervosa* - BBTV, liée à la transmission du BBTV aux bananiers, à travers une évaluation de l'effet du BBTV sur le comportement de *P. nigronervosa* vis-à-vis des bananiers (plantains et dessert), ainsi que sur les COV émis par ces bananiers (Chapitre 5) ; l'effet du BBTV sur les traits d'histoire de vie de *P. nigronervosa* élevés sur les bananiers (Chapitre 6) ; et l'effet de l'acquisition du BBTV sur le comportement et la physiologie de *P. nigronervosa* vis-à-vis des bananiers (Chapitre 7). Cela ouvrira des perspectives intéressantes pour une lutte biologique contre *P. nigronervosa*. Nous avons soutenu que la transmission vectorielle du BBTV aux bananiers répond à « L'hypothèse de Manipulation du vecteur » (« Vector Manipulation Hypothesis – VMH »), dans ce sens que BBTV manipule *P. nigronervosa* d'abord indirectement à travers la modification des caractéristiques phénotypiques du bananier, puis

directement en modifiant le comportement et la physiologie du vecteur, afin d'améliorer sa propagation vers des nouveaux bananiers (Mayer *et al*., 2002; Ingwell *et al*., 2012 ; Roosien *et al*., 2013).

De plus, comme l'interaction plante-hôte-vecteur-virus implique un quatrième partenaire, qui sont les symbiotes bactériens hébergés dans le corps du vecteur (Gray *et al*., 2014 ; Pinheiro *et al*., 2015), nous avons réalisé des travaux préliminaires pour évaluer le niveau d'implication des endosymbiontes associés à *P. nigronervosa* dans la transmission du BBTV (Chapitre 8). Dans un premier temps, l'idée était de déterminer la prévalence de la bactérie *Wolbachia* en conditions naturelles au sein du puceron *P. nigronervosa*, afin de vérifier l'aspect obligatoire de la symbiose. Cet aspect était complété par une étude de la localisation de la bactérie dans le puceron. L'ensemble nous a permis d'acquérir de données préliminaires, indispensables à une étude plus poussée à venir sur les relations entre *Wolbachia* et la transmission virale chez *P. nigronervosa*.

9.1. Principaux résultats

Plusieurs résultats importants ressortent des travaux menés au cours de cette thèse.

Dans le Chapitre 5, les bananiers infectés par BBTV (quel que soit le génotype) étaient plus attractifs pour *P. nigronervsa*, qu'il s'agisse des aptères ou des alates. Cela accroit la probabilité de transmission du virus. Les bananiers plantains étaient plus attractifs que les bananiers

dessert, quel que soit leur statut d'infection. Parallèlement, les bananiers infectés ont émis des profils de COV de même nature (mélange) que ceux des bananiers sains, mais en quantités beaucoup plus importantes. Cela explique la plus grande attractivité de *P. nigronervosa* pour les bananiers infectés, car en modifiant l'émission de COV par la plante, le virus crée des conditions favorables à sa propagation, sachant que la reconnaissance de la plante hôte par les pucerons restent essentiellement facilitées par les composés organiques volatils (COV) émis par les végétaux (Bernasconi *et al*., 1998 ; Pickett *et al*., 2013 ; Piesik *et al*., 2013), même si dans certaines situations, d'autres stimuli (couleur, mouvement, forme) semblent être impliqués (Döring, 2014 ; Leather, 2014). Toujours dans le Chapitre 5 de cette thèse, en ce qui concerne des COV communs entre les deux génotypes, les bananiers plantains ont produit des quantités plus élevées que les bananiers dessert. Cela explique la plus grande attractivité de *P. nigronervosa* pour les bananiers plantains. Un total de 16 COV (12 pour les bananiers dessert et 13 pour les bananiers plantains) ont été identifiés. Les composés qui semblent potentiellement impliqués dans l'attractivité des pucerons pour les bananiers sont : (E)-hex-2-énal, (E)-β-ocimène, (Z)-β-ocimène, (E)-β-farnésène, 6-méthyl-5-heptène-2-one, salicylate de méthyle, myrcène et nonanal, car la plupart d'entre eux sont communs aux deux génotypes, et ont déjà été signalés comme jouant un rôle dans l'interaction plante-insecte (Pherobase.com ; Stenberg *et al*., 2015),

Le Chapitre 6 a révélé une fécondité quotidienne par puceron supérieure sur le bananier plantain infecté que sur les autres types de bananiers, et inferieure sur les bananiers desserts sains que pour les autres types de

bananiers. En outre, les pucerons élevés sur le bananier dessert infecté avaient une longévité et un taux de survie inférieur à ceux des pucerons élevés sur d'autres types de bananier. Cela veut dire que l'infection virale du bananier dessert a un effet négatif sur la longévité et la survie de *P. nigronervosa*, alors que l'effet était neutre pour le bananier plantain. Également, l'infection virale des bananiers avait un effet positif sur l'augmentation de la population des pucerons et sur la production des alates uniquement sur le bananier plantain, alors que l'effet était neutre sur le bananier dessert. Quel que soit le statut d'infection, l'augmentation du nombre de pucerons et la production des alates étaient supérieures sur les bananiers plantains que sur les bananiers dessert. Dans ce Chapitre, l'infection virale a entraîné une diminution de la longueur des tibias postérieurs des pucerons élevés sur les deux génotypes, tout en augmentant la productivité (fécondité quotidienne par puceron). Il existe donc un compromis entre la fécondité et la longueur de tibia (proxy de la taille), induit par l'infection virale. La table de survie et de fécondité construite a révélé un taux de croissance intrinsèque (r) plus élevé pour les pucerons élevés sur les bananiers infectés que pour ceux élevés sur les bananiers sains. Aussi, contrairement au temps de doublement (DT), les pucerons avaient un taux de reproduction net (Ro) plus élevé sur le plantain infecté, et un temps de génération (T) plus faible sur le bananier dessert infecté que sur tout autre traitement. Les résultats du Chapitre 6 montrent donc que le BBTV induit des changements dans les caractéristiques phénotypiques des bananiers qui améliorent chez *P. nigronervosa* des performances associées à sa transmission.

Dans le Chapitre 7, il a été constaté que la préférence des alates de *P. nigronervosa* pour les bananiers infectés était inversée après l'acquisition du BBTV. Avant l'acquisition, *P. nigronervosa* était plus attiré par les bananiers infectés (quel que soit le génotype), et après l'acquisition du virus, il est plus attiré par le bananier dessert sain que par le bananier dessert infecté, et de façon similaire entre les bananiers plantain sain et plantain infecté. Par ailleurs, toujours dans le Chapitre 7, l'infection virale a provoqué une diminution de la longueur des tibias postérieurs, ainsi que de la surface d'ailes antérieures des alates élevés sur les deux génotypes, tandis que le nombre des rhinanies secondaires (SR) sur les antennes n'a changé qu'avec le génotype. Il y avait un plus grand nombre de SR sur les antennes des alates élevés sur les bananiers plantains (sains et infectés) que ceux élevés sur les bananiers dessert (sains et infectés). Ceci serait dû à des paramètres non pris en compte dans ce travail. Nous avons cependant observé que le nombre de SR augmente dans le même sens que la croissance de la population et l'apparition des alates (voir chapitre 7).

Dans le chapitre 8 de cette thèse, tous les pucerons collectés sur terrain (à l'Est de la RD Congo et au Burundi) contenaient *B. aphidicola*, mais tous ne contenaient pas *Wolbachia*. Aussi, pendant l'embryogenèse, *Wolbachia* envahit l'hémolymphe de manière disparate et n'est pas internalisée dans les bactériocytes qui hébergent *B. aphidicola*. Cela atteste que *Wolbachia* est un endosymbionte facultatif chez *P. nigronervosa* et n'a pas de rôle nutritionnel, comme c'est le cas pour *B. aphidicola*. Les résultats du chapitre 8 sont en contradiction avec ceux de De Clerc *et al*. (2014 ; 2015), qui suggèrent que *Wolbachia* serait un

symbiote co-obligatoire nutritionnel chez *P. nigronervosa*. En revanche, ces résultats sont cohérents avec l'étude de Manzano-Marín *et al*. (2020), qui suggère qu'il n'y a pas de preuve que *Wolbachia* soit un endosymbionte co-obligatoire nutritionnel chez *P. nigronervosa*.

Le chapitre 8 de cette thèse est un travail préliminaire visant à déterminer le rôle de *Wolbachia* associé à *P. nigronervosa* dans la transmission du BBTV, et fera donc l'objet de recherches ultérieures. Pour cette raison, les résultats de ce chapitre (8) ne seront pas discutés dans cette section "Discussion générale " de cette thèse.

9.2. Manipulation indirecte du *P. nigronervosa* par BBTV via la modification du bananier

Chez les plantes, l'effet indirect des agents pathogènes sur leurs vecteurs peut se situer au niveau du comportement du vecteur et/ou de sa performance (Eigenbrode *et al*., 2018). Dans notre pathosystème, l'effet du BBTV sur *P. nigronervosa*, à travers la modification du génotype du bananier, s'exerce à la fois sur le comportement et la performance.

Le Chapitre 5 révèle une forte préférence de *P. nigronervosa* pour les bananiers infectés par rapport aux bananiers sains (quel que soit le génotype), ainsi que pour les bananiers plantains par rapport aux bananiers dessert (quel que soit le statut d'infection). Cela suggère que l'infection du BBTV influence le comportement du puceron de bananier, ce qui favorise la transmission du virus. Le Chapitre 5 révèle

également une augmentation des émissions de COV des bananiers, induite par l'infection du BBTV et le génotype. Ainsi, chez les deux génotypes, le BBTV induit des modifications dans caractéristiques phénotypiques des bananiers et les pousse à produire des COV plus attractifs pour *P. nigronervosa*. D'après l'étude d'Eigenbrode *et al*. (2002), le plant de pomme de terre infecté par *Potato leafroll virus* (PLRV) montre un profil de COV modifié, ce qui entraîne une plus grande attraction des pucerons.

Dans le Chapitre 6, l'infection virale a amélioré la fécondité journalière, mais a provoqué la diminution de la taille (en termes de longueur du tibia postérieur) des pucerons sur les deux génotypes. Cela devrait normalement améliorer la croissance de la population et la fréquence de la production des alates sur les deux génotypes, puisque les pucerons alates sont obtenus lorsque la densité de la population de pucerons augmente fortement (Braendle *et al*., 2006 ; Williams & Dixon, 2007). Cependant, la croissance de la population de pucerons ainsi que la production des alates n'étaient améliorées avec l'infection virale que sur le bananier plantain, et non sur le bananier dessert. Le taux de survie et la longévité des pucerons très faibles sur le bananier dessert infectées contrebalancent le développement de la population de pucerons et l'apparition d'alates. La croissance de la population des pucerons et l'apparition des alates favorisent l'épidémiologie du virus, puisque la transmission vectorielle des agents pathogènes des plantes dépend non seulement du comportement, mais aussi de l'abondance de leurs vecteurs (Eigenbrode *et al*., 2018). Il est en effet établi, selon l'espèce de plante-hôte, le mode de transmission du virus et le type de vecteur,

que les effets indirects des phytovirus sur la préférence, la croissance et la reproduction de leurs vecteurs peuvent être bénéfiques (Maris *et al*., 2004 ; Srinivasan *et al*., 2006), neutres (Hodge & Powell, 2008 ; Wijkamp *et al*., 1996), ou préjudiciables (Hodge & Powell, 2008 ; Mauck *et al*., 2010a ; Eigenbrode *et al*., 2018).

Les agents pathogènes présentant des modes de transmission similaires, et donc qui bénéficient vraisemblablement de modèles similaires de l'interaction hôte-vecteur, devraient également présenter une convergence significative de leurs effets sur les phénotypes de plante-hôte (Mauck *et al*., 2012 ; Eigenbrode *et al*., 2018). En effet, pour les virus à transmission persistante, cas du BBTV, le vecteur viral est susceptible de développer une forte affinité avec la plante hôte. L'acquisition du virus nécessite une alimentation soutenue dans le phloème de la plante infectée (4 heures minimum pour le BBTV), le temps que le virus circule à l'intérieur de l'insecte jusqu'aux glandes salivaires où résident les virions. Dans ce cas, l'infectiosité du puceron peut durer longtemps, souvent même jusqu'à sa mort comme c'est le cas chez *P. nigronervosa* (Lepoivre, 2003 ; Raccah & Fereres, 2009 ; Gray *et al*., 2014). Ce n'est pas le cas pour les virus non (ou semi-) persistants, comme le CMV, où le vecteur semble être faussement attiré par la plante infectée, puis se disperse rapidement (Mauck *et al*., 2010ab ; Tungadi *et al*., 2017). Le vecteur transmet immédiatement le virus après un temps d'acquisition très court, de quelques secondes à quelques minutes (Harris *et al*., 1977). Les virus non-persistants peuvent être « perdus » si les vecteurs restent sur la plante-hôte infectée et initient une alimentation soutenue dans le phloème (Wang & Ghabrial, 2002; Ng &

Falk, 2006). La durée d'alimentation nécessaire à l'acquisition des virus à transmission persistante étant importante, la plupart d'entre eux améliorent la qualité de la plante-hôte pour les vecteurs et donc les traits liés au fitness des vecteurs (i.e. survie, fécondité et longévité améliorées) (Mauck *et al*., 2012). Ils induisent aussi des modifications des signaux visuels et olfactifs émis par la plante-hôte, et qui d'améliorent l'attraction et la rétention du vecteur (Bosque-Pérez & Eigenbrode, 2011 ; Mauck *et al*., 2012). Ces différences ont donc des implications importantes sur les interactions plantes-hôtes/vecteurs et la transmission des virus.

D'une manière générale, quel que soit le mode de transmission, les plantes infectées par des phytovirus ont tendance à libérer des COV qui sont plus attractifs pour les vecteurs (Shi *et al*., 2021). La différence réside dans la régulation des systèmes de défense des plantes. En mode non persistant, les infections virales induisent de manière significative les réponses de défense des plantes, ce qui incite probablement les vecteurs à disperser et transmettre les virus en peu de temps. En mode persistant (ou semi-), les infections virales réduisent (ou suppriment) les réponses de défense des plantes, manipulent les traits des plantes pour devenir des sites d'alimentation, ce qui conduit à une augmentation de la population de vecteurs et facilite la transmission du virus pendant les épidémies de vecteurs (Shi *et al*., 2021).

9.3. Manipulation directe du *P. nigronervosa* par BBTV

Dans le Chapitre 7 de cette thèse, l'inversion de la préférence de *P. nigronervosa* pour les bananiers infectés vers une préférence pour les

bananiers sains serait due à l'effet de l'acquisition du virus sur le vecteur. En effet, la manipulation directe des vecteurs par les phytovirus nécessite une co-évolution étroite au sein de la relation tripartite hôte-virus-vecteur et est donc efficace uniquement pour des associations très spécifiques de cette tripartite (Mauck *et al*., 2014b). Dans le cas particulier des virus persistants, les phytovirus doivent circuler dans l'insecte-vecteur avant de pouvoir compléter leur transmission à la plante hôte, voir même se multiplier (souvent dans plusieurs organes tels que l'intestin et les glandes salivaires) en ce qui concerne les phytovirus persistants propagatifs. En revanche, la plupart des phytovirus végétaux ne se répliquent pas dans le vecteur, de sorte que ces vecteurs ne sont pas des hôtes pathogènes, *sensu stricto*. Notre pathogène modèle (BBTV) est un membre des *Nanoviridae*, transmis par *P. nigronervosa* selon un mode persistant, cirulatif et non-propagatif ; dont les preuves de non-multiplication (réplication et transcription) à l'intérieur du vecteur n'ont jamais été observées (Bressan & Watanabe, 2011). Logiquement, cela insinuerait que *P. nigronervosa* ne serait pas considéré comme un hôte pathogène du BBTV. Cependant, dans une étude de Sicard *et al*. (2015), visant à clarifier les interactions moléculaires et cellulaires entre trois pucerons (*Acyrthosiphon pisum*, *Aphis craccivora* et *Myzus persicae*), et *Faba bean necrotic stunt virus* (FBNSV) (un virus multipartite et membre des *Nanoviridae* comme le BBTV), les auteurs avaient constaté que les mécanismes de transmission révélaient une interaction intime inattendue qui pourrait ne pas correspondre à la transmission canonique circulaire non-propagative. Cela justifie les résultats du Chapitre 7 où

l'acquisition du BBTV affecte directement la physiologie et le comportement de *P. nigronervosa*.

9.4. Dynamique des effets du BBTV et des réponses de *P. nigronervosa*

Nos résultats (Chapitres 5, 6 et 7) montrent que le mécanisme de transmission du BBTV aux bananiers correspond à une dynamique (ou succession) des effets du BBTV sur *P. nigronervosa*. D'abord, pendant la période pré-acquisition, on a l'installation préférentielle des non-virulifères de *P. nigronervosa* sur des bananiers infectés, basée principalement sur des indices olfactifs (augmentation des COV) (Chapitre 5), suivi d'une augmentation de la croissance de la population de pucerons et de la production d'alates sur les bananiers infectés (en particulier sur le bananier plantain) quelques générations après l'établissement, en réponse à l'augmentation des capacités reproductives sur les bananiers infectés, et enfin pendant la période post-acquisition, on a la colonisation préférentielle des bananiers non-infectés par les alates virulifères (Chapitre 7). Ce changement de comportement devra faciliter la propagation du BBTV, puisque la préférence des non-virulifères de *P. nigronervosa* pour les bananiers infectés sur base d'indices olfactifs favorisera l'acquisition, tandis que la préférence/ colonisation des virulifères de *P. nigronervosa* pour les bananiers non-infectés favorisera la transmission du virus. Cela a été démontré avec les pucerons porteurs de deux *Luteoviridae* (*Potato leafroll virus* - PLRV et *Barley yellow dwarf virus* - BYDV), qui s'installant préférentiellement sur des plantes non-infectées tandis que les pucerons

non-virulifères préfèrent les plantes infectées (Rajabaskar *et al*., 2014). Cet effet a également été observé chez les pucerons qui ont acquis le virus sans contact avec les plantes infectées mais par alimentation sur un milieu contenant des particules virales, permettant de s'affranchir de l'effet indirect potentiel de la plante, ce qui a permis de certifier l'effet direct d'un phytovirus sur le comportement du puceron vecteur (Ingwell *et al*., 2012). Dans cette thèse, l'infection virale a provoqué une diminution de la taille des pucerons élevés sur les deux génotypes, tout en augmentant la productivité (fécondité quotidienne par puceron). L'infection du BBTV aux bananiers entraîne donc un compromis fécondité-taille du corps chez *P. nigronervosa*, aussi bien chez les aptères (en termes de longueur des tibias postérieurs : Chapitre 6), que chez alates (en termes de longueur des tibias postérieurs et de surface des ailes antérieures : Chapitre 7). En effet, lors d'une infection virale, le puceron mobilise ses réserves énergétiques (lipides, graisses et hydrates de carbone) uniquement pour la reproduction afin d'être sélectionné. De nombreuses études ont rapporté des compromis entre la fécondité et d'autres traits chez les insectes (Zhang *et al*., 2009 ; Khuhro *et al*., 2014 ; Ren *et al*., 2015). Il est donc certain que l'altération du comportement de *P. nigronervosa* est due à l'effet direct de l'acquisition du virus, tandis que l'altération de sa physiologie (longueur des tibias postérieurs et surfaces d'aile antérieure) est due à l'effet du virus sur les caractéristiques phénotypiques liées à la qualité nutritionnelle du bananier vis-à-vis de *P. nigronervosa*.

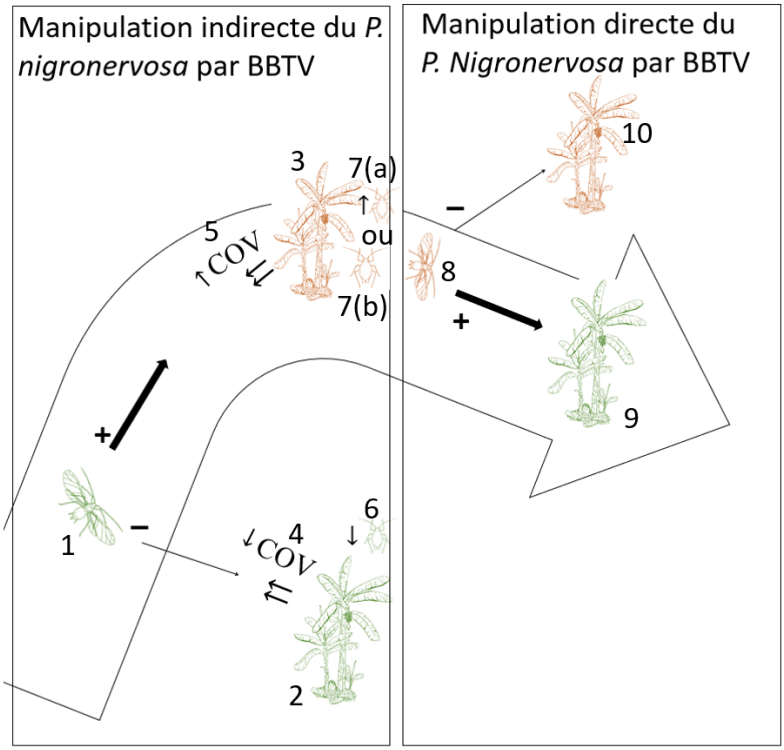


Figure 14. Processus schématique de la manipulation des bananiers par le BBTV

1 : Pucerons ailés non-virulifères, (+) : plus attirés par les bananiers infectés (Plantains et dessert) que par les bananiers sains (Plantains et dessert).

2 et 9 : Bananiers sains (Plantain et dessert).

3 et 10 : Bananiers infectés (Plantain et dessert).

4 : Bouquet de COV émis par les bananiers sains (Plantain et dessert), (↓) en quantité inférieure à celui émis par des bananiers infectés (Plantain et dessert).

5 : Bouquet de COV émis par les bananiers infectés (Plantain et dessert), (↑) en plus grande quantité par rapport à celui émis par le bananier sains (Plantain et dessert).

6 : Pucerons aptères élevés sur des bananiers sains, (↓) avec une augmentation de la population moins rapide par rapport aux pucerons aptères élevés sur les bananiers infectés.

7 : Pucerons aptères élevés sur des bananiers infectés (plantain et dessert). (a : ↑) avec une augmentation plus rapide de la population sur le plantain infecté que sur le plantain sain ; (b) avec une augmentation de la population similaire sur les bananiers dessert infectés et dessert sains.

8 : Pucerons ailés non virulifères, plus attirés par les bananiers sains (Plantain et dessert).

9.5. Interaction entre infection du BBTV et Génotype des bananiers

La transmission vectorielle des phytopathogènes peut être dynamique en fonction du stade de croissance de la plante-hôte ou de la sévérité de la maladie (Eigenbrode *et al., 2018*). Les plants de bananier utilisés dans les expériences de cette thèse étaient encore jeunes, de même âge (au stade de 4 à 6 feuilles, ≈ 50 cm de hauteur), préparés de la même manière (en ce qui concerne la collecte, le transport, la multiplication, l'irrigation, etc), et maintenus dans les même conditions (sous une température de 25 ± 2°C, une humidité relative de 40 ± 5 % et une photopériode artificielle de 12 h/12 h). Les bananiers infectés utilisés, de chaque génotype, étaient sévèrement affectées au BBTV et issues

des mêmes souches parentales. En effet, le bananier étant une plante à multiplication végétative, les rejets issus d'une souche infectée sont à priori infectés et présentent des symptômes sévères d'infection de BBTV (Thomas & Iskra-Caruan, 1999 ; van Regenmortel *et al*., 2000).

Dans cette thèse, l'attractivité préférentielle des pucerons pour le bananier plantain, ainsi que l'augmentation des émissions de ce génotype, quel que soit le statut infectieux (Chapitre 5), étaient dues à la démarcation génotypique entre les variétés Cavendish et plantain Pacific (Simmonds, 1962; Lorenzen *et al*., 2010 ; Ploetz, 2015), ce qui sous-tend une différence dans leurs profils métaboliques (notamment les métabolites secondaires), tels que les COV, impliqués dans la communication à courte distance entre les insectes et leur environnement (Bernasconi *et al*., 1998 ; Piesik *et al*., 2013). De même, la fécondité plus élevée par âge de puceron, ainsi que le taux net de reproduction (Ro), sur le bananier plantain que sur le bananier dessert (Chapitre 6) (indépendamment du statut d'infection) seraient dus à la différence de composition des ressources internes entre les deux génotypes, en particulier le rapport entre les glucides et les acides aminés dans le phloème (Simmonds ,1962 ; Mauck *et al*., 2014a). Ce ratio n'a pas été évalué dans cette thèse. En revanche, dans le Chapitre 6, l'effet négatif du BBTV sur la longévité et le taux de survie de *P. nigronervosa* se trouvant sur des bananiers dessert était due à la détérioration excessive de la qualité des bananiers dessert par l'infection du virus, ce qui fait que la population de pucerons et la production des alates augmentent avec l'infection du virus uniquement sur les bananiers plantains. Les bananiers dessert sont en effet sujets à

de nombreuses maladies du fait de leur base génétique étroite (Abadie *et al*., 2003). Une forte sensibilité de la variété Cavendish au BBTV a d'ailleurs été reportée par les scientifiques (Su *et al*., 1992 ; Hooks *et al*., 2009). En effet, la variété Cavendish est un triploïde strict (AAA) appartenant à l'espèce *M. acuminata*, tandis que le plantain est un hybride triploïde (AAB) appartenant à l'espèce *M. paradisiaca* issu du croisement *M. acuminata* x *M. balbisiana* (Simmonds, 1962). Nos résultats sont cohérents avec ceux de Chesnais *et al.* (2019b), qui a observé que le puceron *My. persicae* préférait s'installer, se nourrir, et se reproduisait plus rapidement sur le génotype sauvage de cameline (*Camelina microcarpa*) infecté mais tolérant au *Turnip yellows virus* (TuYV), que sur le génotype cultivé (*C. sativa*) et de leur hybride F1, augmentant ainsi le nombre de pucerons virulifères. Nos résultats correspondent aussi avec l'étude récente de Ngatat *et al*. (2022), qui ont évalué la performance de *P. nigronervosa* sur les germoplasmes *Musa* de différentes compositions génétiques A et B. En général, les plants de bananiers dessert présentaient la plus faible densité de pucerons par plante par rapport aux plants de bananiers plantain. Cependant, les auteurs n'ont pas pris en compte l'effet du virus sur la performance des pucerons.

Certaines études suggèrent que la manipulation indirecte d'un vecteur par un pathogène peut dépendre des facteurs relatifs à diverses caractéristiques intrinsèques des vecteurs telles que l'efficacité de la transmission et le degré de spécialisation alimentaire (Hodgson, 1981 ; Tu *et al*., 2013 ; He *et al*., 2014). Il a été reporté que l''efficacité de la transmission du BBTV pour des individus de *P. nigronervosa* va de 46

à 67 %, selon le génotype (Magee, 1927 ; Wu & Su, 1990 ; Hu *et al*., 1996). Les résultats sur l'effet indirect du BBTV, via la modification du bananier (Chapitres 5 et 6), montrent clairement que l'hypothèse de la manipulation vectorielle s'applique mieux chez les bananiers plantains que chez les bananiers dessert, dans ce sens où la tolérance de bananier plantain au BBTV favorise la survie du virus dans les agrosystèmes, tandis que l'augmentation du nombre des pucerons, ainsi que la production des alates virulifères, plus rapide sur les bananiers plantains, favorise la propagation du virus. La co-évolution entre *P. nigronervosa* et les bananiers plantains est donc plus fine que celle entre *P. nigronervosa* et les bananiers dessert. Ainsi, par exemple, l'étude « Occurrence and Distribution of *Banana bunchy top virus* related Agro-Ecosystem in South Western, Democratic Republic of Congo (RDC) » menée par Mukwa *et al*. (2014) en République démocratique du Congo, a montré que les régions fortement infectées par BBTV sont celles à forte concentration de culture des hybrides interspécifiques, dont le bananier plantain. Nous pensons dans cette thèse que cela serait en partie due à la tolérance des bananiers plantains à la dégradation provoquée par BBTV par rapport aux bananiers desserts, mais aussi à la préférence de *P. nigronervosa* vis-à-vis des bananiers plantains. En revanche, dans le Chapitre 7 de cette thèse, le nombre des rhinaries secondaires sur les antennes a varié avec le génotype en faveur des pucerons en provenance des bananiers plantains. Il est observé que le nombre des rhinaries secondaires était supérieur sur les pucerons en provenance des bananiers plantains, que ceux en provenance des bananiers dessert (indépendamment du statut d'infection). D'autres

paramètres plus complexes seraient donc impliqués dans l'interaction hôte-phytovirus, non pris en compte dans cette thèse.

Il est important de noter que le matériel biologique (pucerons vivants) et le matériel végétal (bananiers) utilisés dans les chapitres 5, 6 et 7 de cette thèse proviennent de la province du Sud-Kivu à l'est de la RD Congo. En plus, lors de la collecte des bananiers infectés, les souches de BBTV n'ont pas été prises en compte. Nous pensons que cela n'influence pas les résultats globaux des chapitres 5, 6 et 7 de cette thèse.

9.6. Perspectives pour l'utilisation des COV contre *P. nigronervosa*

Si l'utilisation des produits phytopharmaceutiques est le principal moyen de lutte contre les insectes nuisibles, d'autres méthodes de lutte sont souvent disponibles ou en cours de développement, d'où l'émergence de la lutte intégrée. La gestion intégrée consiste en la combinaison raisonnée de toutes les méthodes de lutte, ayant une action régulatrice sur les nuisibles d'une culture, afin de les maintenir à un niveau faible et rendre économiquement tolérable leur seuil (Corbatz, 1999). Elle propose une alternative à la lutte chimique classique en maintenant les populations d'insectes (ou acariens) ravageurs à un faible niveau où ils ne provoquent pas de dégâts économiques (Penrose *et al*., 1994 ; Ryckewaert, 1995; Tilman, 2002 ; Edwards & Tchounwou, 2005). Parmi les stratégies de lutte intégrée, pour combattre les insectes nuisibles, l'utilisation de substances informatives pourrait être une

composante utile, pour manipuler le comportement de ces nuisibles (Bjostad *et al*., 1993). La lutte sémiochimique implique l'utilisation de composés naturels informatifs (phéromones ou composés allélochimiques) qui agissent pour repousser les insectes phytophages, réduire leur potentiel de reproduction ou attirer leurs ennemis naturels (Wyatt, 2018).

Dans ce sens, tous les COV identifiés dans cette thèse (Chapitre 5), sont connus, selon Pherobase.com, et Stenberg *et al*. (2015), pour jouer un rôle dans les interactions plantes-insectes, et la lutte contre les insectes. Les terpènes, constituant majeur des COV identifiés dans nos travaux, agissent dans la plupart des cas comme des sémiochimiques à longue distance entre les plantes et les insectes (Smith *et al*., 2018). Il existe des preuves, par exemple, que l'α-pinène, le β-pinène, le limonène (3 composés terpéniques identifiés dans notre travail), ainsi que le myrcène, sont toxiques et répulsifs pour les insectes (Smith, 1963, 1965 ; Byers *et al*., 1979 ; Lípez *et al*., 2011 ; Demeter *et al*., 2021), et peuvent donc être utilisés dans les agrosystèmes pour repousser les insectes phytophages. Ainsi, le puceron *Acvrthosiphon pisum* évite d'explorer et de se nourrir sur des feuilles de plantes-hôtes traitées au myrcène (Harrewijn *et al*., 2000). Il est également rapporté que le β-ocimène, un terpène dont les quantités augmentent en réponse à l'infestation de la plante par des herbivores, a un effet attractif sur les phytophages, comme le tétranyque à deux points *Tetranychus urticae* (Koch) (Arimura *et al*., 2004). En plus, le linalol, une allomone libérée par des plantes (les orchidées par exemple), attire certains hyménoptères pollinisateurs et parasitoïdes (Bergstrom,1985), tandis

que le (E)-β-farnésène, une phéromone d'alarme émise par les pucerons lorsqu'ils sont attaqués par des prédateurs ou des parasitoïdes (Francis, 2005), est couramment utilisé pour repousser les pucerons (Unsicker *et al*., 2009 ; Xu, 2018). Il peut aussi agir à très faible concentration comme phéromone d'agrégation, renseignant sur la qualité de la plante hôte (Verheggen *et al*., 2009). Les composés aliphatiques (nonanal et (E)-hex-2-énal) identifiés dans cette thèse (Chapitre 5) jouent également un rôle dans la relation plante-insecte. Ainsi, le nonanal, présent dans plusieurs huiles essentielles (Huet & Murail, 1972), est un élément majeur dans la reconnaissance et l'attraction du moustique *Culex pipiens quinquefasciatus* pour les humains et les oiseaux (Syed & Leal, 2009). Il est par ailleurs établi que le nonanal est présent sur le corps des femelles des parasitoïdes de *Cotesia glomerata*, et qui, en combinaison avec l'heptanal, également libéré par les femelles, augmente l'attractivité des mâles en vue de l'accouplement (Xu *et al*., 2018, 2020). Le (E)-hex-2-énal, quant à lui, est un " Green Leaf Volatiles " jouant un rôle aussi bien dans l'attraction de certains phytophages, comme la sauterelle *Melanoplus sanguinipes* (Hopkins & Young, 1990), que dans la localisation de la plante hôte par les prédateurs et parasitoïdes (Hoballah &Turlings, 2005 ; Shiojiri *et al*., 2006 ; Halitschke, *et al*., 2008). L'utilisation du salicylate de méthyle par une libération contrôlée dans une culture augmente l'attraction et la résidence des populations d'insectes utiles, y compris les auxiliaires des pucerons (James, 2003 ; James & Price, 2004). Une stratégie push-pull consistant à repousser les pucerons par le (E)-β-farnésène et à attirer les ennemis naturels par le salicylate de méthyle est l'un des modèles

convaincants d'utilisation de substances sémiochimiques dans la lutte contre les pucerons (Xu, 2018).

Même si l'utilisation des composés synthétiques montre son efficacité contre plusieurs insectes (Witzgall *et al*., 2008) et son application présente certains avantages (e.g. pas de perte de surface cultivée, possibilité d'utilisation sur des grandes exploitations), son emploi, notamment en plein champs, nécessite beaucoup de technicité (e.g. connaissance de la concentration adéquate, contrôle de la cinétique de diffusion, etc.) (Deletre *et al.*, 2016). Outre le fait que sa réalisation est délicate, le coût de cette technique est très élevé (Birkett & Pickett, 2003). Une approche consistant à utiliser des plantes efficaces, qui émettent naturellement les COV d'intérêt sur de longues périodes et jouant le rôle de diffuseurs naturels (Castro *et al.*, 2017) peut être bénéfique. Ces plantes peuvent alors être intercalées ou associées avec les bananiers. En plus, dans les agrosystèmes naturels en Afrique subsaharienne, les bananiers et les plantains sont généralement cultivés en association avec d'autres cultures telles que vivrières (haricots, maïs, etc.), maraichères (les légumes, etc.), et industrielles dans les forêts ou dans les jachères. Ce système de cultures associées a l'avantage de fournir aux agriculteurs une production diversifiée à différents moments de l'année (Lokossou *et al*., 2012; Dhed'a Djailo *et al*., 2019; Bangata Bitha Nyi Mbunzu *et al*., 2022).

En effet, l'association de cultures (le compagnonnage), est une stratégie ancienne, qui consiste à cultiver dans le même temps et le même espace deux ou plusieurs espèces végétales différentes (Gliessman, 1984;

Malézieux *et al.*, 2009). Les plantes utilisées pour cette stratégie sont dites des plantes « de service ». Ces sont des plantes secondaires, à valeur agronomique autre que strictement marchande (Parolin *et al.*, 2012a; Parker *et al.*, 2013), qui favorisent l'espèce végétale cultivée (Gliessman, 1984; Moreno & Racelis, 2015). Plusieurs types de plantes de service ont été définies dans la littérature en fonction des services et des avantages qu'elles offrent à la culture tels que la gestion des ravageurs, l'amélioration de la fertilité des sols, la diminution des adventices, la lutte contre les nématodes, etc. (Brennan, 2013). Les plantes de service ayant le potentiel de réduire les effets néfastes des pucerons peuvent donc être utilisées dans la lutte semiochimique.

Contrairement à une monoculture, les cultures mixtes permettent de réduire les attaques des plantes cultivées par les herbivores en réduisant leur nombre et en favorisant la présence de leurs ennemis naturels (Shrivastava *et al.*, 2010). Elles favorisent leur régulation (1) « *Bottom-up* » par la diminution de la disponibilité en ressource alimentaire et la complexité de localisation de la plante-hôte (densité réduite des plantes adéquates, diversité des stimuli olfactifs) et (2) « *Top-down* » en favorisant leur contrôle par l'action des ennemis naturels (Guerrieri & Digilio, 2008; Rosenblatt & Schmitz, 2016). Il s'agit donc du développement des approches écologiques comme la stratégie « *push-pull* » (répulsion-attraction) ou « *stimulo-deterrent diversionary strategies* (SDDS) » (Stratégie de détournement stimulant-dissuasif) (Malézieux *et al.*, 2009; Tang *et al.*, 2012; Pickett *et al.*, 2014; Eigenbrode *et al.*, 2016; Lamy *et al.*, 2017). Le principe majeur de cette stratégie est résumé dans son nom : éloigner le ravageur de la plante à

protéger et le diriger vers d'autres plantes sans intérêt agronomique. La composante « *Pull* » de cette stratégie est assurée par des COV attractifs des plantes-hôte (les plantes pièges plus attractives que la plante à protéger sont placées en bordure) (Ben Issa *et al.*, 2017b). La deuxième composante de cette stratégie (« *Push* ») permet de repousser et perturber l'installation des pucerons. Elle recourt à des COV répulsifs ou perturbateurs, qui pourraient impacter négativement le comportement et les performances des pucerons et l'empêcher de s'installer et de coloniser la culture à protéger (Kogel *et al.*, 2000; Maia & Moore, 2011). Les résultats obtenus dans cette thèse donnent des indications intéressantes et utilisables dans ce cadre pour sélectionner des plantes à fonctions répulsive ou attractive.

Chapitre 10 :

Conclusion et perspectives

Ce travail de thèse rapporte sur « Écologie chimique et perspective de gestion intégrée dans le pathosystème Bananier (*Musa* Spp) - *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (*Hemiptera* : *Aphididae*) - *Banana bunchy top virus* (BBTV) ». A l'issue de cette étude, nous retiendrons que (i) Les tests comportementaux ont révélé une plus forte attractivité des pucerons vers les bananiers infectés (indépendamment du génotype), et vers les bananiers plantains (indépendamment du statut infectieux). Parallèlement, l'identification des composés organiques volatils (COV) a révélé un total de 16 COV (12 pour le bananier dessert et 13 pour le bananier plantain), avec les émissions les plus élevées pour les bananiers plantains et pour les bananiers infectés. Les composés qui semblent être potentiellement impliqués dans l'attractivité des pucerons pour les bananiers sont les suivants : (E)-hex-2-énal, (E)-β-ocimène, (Z)-β-ocimène, (E)-β-farnésène, 6-méthyl-5-heptène-2-one, salicylate de méthyle, myrcène et nonanal. (ii) L'infection virale a amélioré la fécondité des pucerons sur les deux génotypes, tout en réduisant la longueur des tibias postérieurs et la surfaces des ailes antérieures, bien que la croissance de la population et la production des alates n'aient été améliorées par l'infection virale que chez les pucerons élevés sur le bananier plantain. (iii) Avant l'acquisition du BBTV, *P. nigronervosa* est plus attiré par les bananiers infectés, alors qu'après l'acquisition du virus, il est plus attiré par les bananiers sains.

Eu égard à ce qui précède, il ressort clairement de cette thèse que le processus de transmission du BBTV aux bananiers (*Musa* Spp)

correspond bien à l'hypothèse de manipulation vectorielle « Vector Manipulation Hypothesis (VMH) ». Avant son acquisition, le BBTV manipule indirectement *P. nigronervosa* via la modification des caractéristiques phénotypiques du bananier, à travers une attraction préférentielle du vecteur vers les bananiers infectés, causée par une augmentation d'émission de COV ; mais aussi par une amélioration des capacités reproductives (fécondité, développement démographique) du vecteur sur les bananiers infectés. Après acquisition, le virus manipule directement le vecteur à travers l'inversion de la préférence du vecteur pour les bananiers infectés par rapport aux bananiers sains.
D'un autre côté, des analyses PCR et de tropisme tissulaire (FISH) de pucerons collectés sur terrain attestent que *Wolbachia* est un endosymbionte facultatif chez *P. nigronervosa* et n'a pas de rôle nutritionnel, comme c'est le cas pour *B. aphidicola*.

Par ailleurs, cette thèse révèle que l'hypothèse de manipulation vectorielle par BBTV est plus applicable chez le bananier plantain que chez le bananier dessert en raison de la très faible croissance de la population de *P. nigronervosa* sur le bananier dessert infecté, causée par un très faible taux de survie et de longévité sur ce génotype. La survie du BBTV dans les agrosystèmes est donc plus favorisée par le bananier plantain que par le bananier dessert. Par conséquent, le bananier plantain constitue un réservoir potentiel de BBTV et de *P. nigronervosa* dans les agrosystèmes.

Plusieurs questions directement ou indirectement liées à la transmission vectorielle du BBTV aux bananiers restent sans réponse : (1) Parmi les

émissions de bananiers plantain et dessert, quels sont les COV individuels, ou leurs mélanges spécifiques, qui ont des effets attractifs ou répulsifs sur *P. nigronervosa*, et qui peuvent être utilisés dans la lutte sémiochimique contre *P. nigronervosa* dans une approche de gestion intégrée ? (2) quel serait l'impact du BBTV sur l'interaction multi-trophique Bananiers (*Musa* Spp)-*P. nigronervosa*-Parasitoïdes ?

10.1. Identification des COV individuels ou des mélanges spécifiques influençant le comportement de *P. nigronervosa*

Parmi les stratégies de lutte intégrée contre *P. nigronervosa*, l'utilisation de substances sémiochimiques (COV) est une composante utile, menant à la manipulation (ou la perturbation) du comportement du vecteur afin d'éviter la transmission du BBTV aux bananiers (Bjostad *et al*., 1993).

Tous les COV identifiés dans cette thèse (Chapitre 5) ont déjà été identifiés dans plusieurs autres espèces végétales génétiquement éloignées des bananiers (Pherobase.com), et qui ne sont pas plantes-hôtes de *P. nigronervosa*. En outre, les récepteurs périphériques des antennes de la plupart des insectes (y compris les pucerons) sont adaptés pour détecter les COV provenant de plantes appartenant à des taxons qui ne sont pas nécessairement des plantes-hôtes pour ces insectes (Visser *et al*., 1996 ; Toby *et al*., 2005). Nous pensons donc que *P. nigronervosa* détecte le bananier à partir d'une proportion particulière des constituants volatils spécifiques généralement distribués parmi les espèces de bananiers (*Musa* Spp), et non à partir de composés

spécifiques du genre *Musa* pris individuellement. D'ailleurs, des nombreuses études sur le comportement des insectes suggèrent que la composition du mélange de volatiles végétaux est cruciale, et que les mélanges spécifiques sont plus attractifs que des composés individuels (Natale *et al*., 2003 ; Toby *et al*., 2005). Par exemple, un simple mélange de trois composants de volatiles de pêches ((Z)-3-hexen-1-yl acétate, (Z)-3-hexen-1-ol, et benzaldéhyde) dans un rapport de 4:1, était attractif pour la femelle *Cydia molesta*, un ravageur des fruits, alors que les composants testés individuellement ne l'étaient pas (Natale *et al*., 2003).

Ainsi, l'attraction de *P. nigronervosa* à des composés synthétiques individuels, ainsi qu'à leurs mélanges pourra être déterminée en utilisant un olfactomètre à deux voies (Y), combiné à un flux d'air réglé à une pression de 2,5 à 3 bars et couplé à une table lumineuse (Voir "Two-way olfactometer" au Chapitre 5, Fig. 1), tandis que la répulsion de *P. nigronervosa* à ces composés pourra être testée en utilisant un olfactomètre linéaire (Figure 15), conformément au protocole d'Abtew *et al*. (2015), modifié par Dardouri *et al*. (2019).

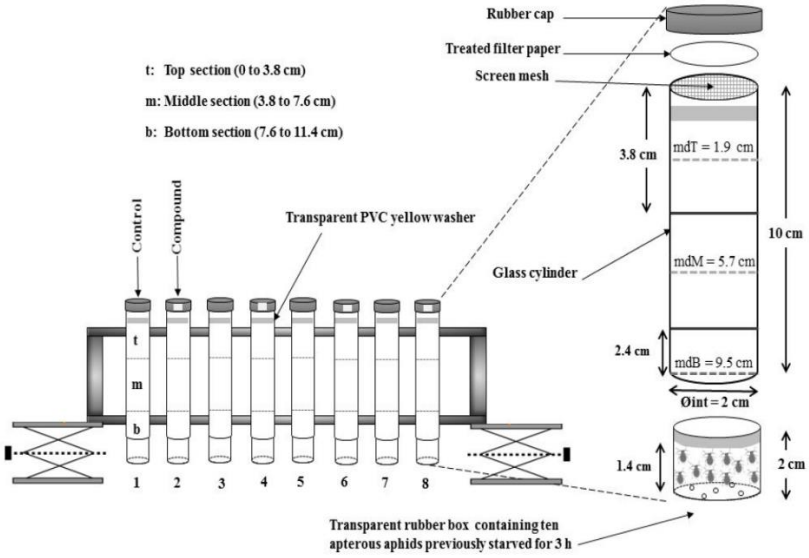


Figure 15. Représentation schématique de l'olfactomètre à tube vertical utilisé pour étudier la répulsion des pucerons vis-à-vis des COV individuels ou leurs mélanges. L'olfactomètre est constitué d'un cylindre en verre (L = 10 cm ; ID = 2 cm), fermé à son sommet par un grillage, un papier filtre traité par le COV individuel ou un mélange spécifique (à concentrations variables), et un bouchon en caoutchouc, dans cet ordre, et fermé en bas par une boîte en caoutchouc transparente perforée (L = 2 cm). L'olfactomètre était divisé en trois parties égales (3,8 cm par section). Une rondelle en PVC jaune transparent (épaisseur = 0,2 mm ; largeur = 0,5 cm) placée à l'extrémité de la section supérieure comme repère visuel, combinée au comportement géostatique négatif des pucerons, pousse naturellement la majorité des pucerons dans cette section (Dardouri *et al*., 2019).

La sensibilité des rhinaries antennaires de ces COV pourra également être évaluée par des enregistrements d'électroantennogrammes (EAG).

10.2. Effets du BBTV sur les parasitoïdes de *P. nigronervosa*

Les cascades trophiques sont définies comme des interactions fortes au sein des chaines alimentaires qui influencent les propriétés du système et incluent au moins deux niveaux trophiques (Pace *et al.,* 1999; Knight *et al.,* 2005). Les deux cascades trophiques « bottom-up » (régulation ascendante basée par exemple sur la disponibilité en nutriment) et « top-down » (régulation descendante basée notamment sur la présence d'ennemis naturels) peuvent influencer les interactions au niveau de la communauté mais aussi les dynamiques de population des espèces ravageurs (Hunter & Price, 1992; Forkner & Hunter, 2000; Polis *et al.,* 2000; Aquilino *et al*., 2005). Les études sur les interactions tri-trophiques Phytovirus-Pucerons-Ennemis naturels sont principalement concentrées sur les effets descendants « top-down ». Ces études laissent penser que les parasitoïdes de pucerons par exemple empêchent la dissémination des virus en limitant les populations de pucerons (Mackauer & Chow, 1986). Pourtant, il y a de plus en plus des preuves que la présence d'un parasitoïde dans l'environnement ou dans le corps de l'hôte peut améliorer la dispersion du virus en augmentant les déplacements des pucerons (Hodge & Powell, 2008 ; Hodge *et al*., 2011). En revanche, il est établi que les phytovirus peuvent modifier non seulement les effets directs des plantes sur le comportement des parasitoïdes via les COV émis, mais aussi des effets indirects des plantes infectées (via le puceron hôte), par exemple sur les traits d'histoire de vie du parasitoïde (Mauck *et al*., 2015 ; Joffrey *et al*., 2018). Le puceron du bananier *P. nigronervosa* est connu pour avoir divers parasitoïdes (exemple : *Lipolexis bengalensis* Tomanovi'c et Koci'c), prédateurs et champignons entomopathogènes comme

ennemis naturels (Tricahyati *et al*., 2022). Nous proposons ici un modèle visant à étudier l'effet du BBTV sur le niveau supérieur tel que les parasitoïdes, qui n'a pas été abordé dans cette thèse. Ces paramètres peuvent être mesurés selon Joffrey *et al*. (2018).

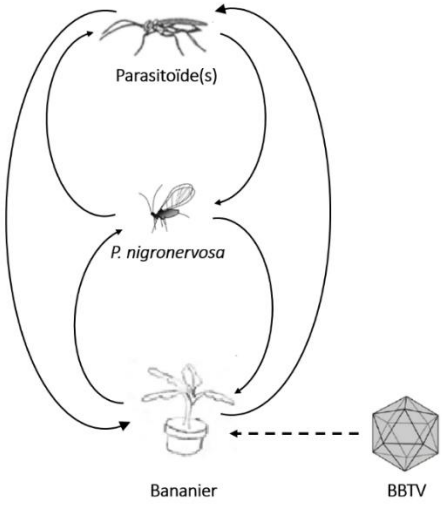


Figure 16. Effet du BBTV sur les relations tri-trophiques Bananier-*P. nigronervosa*-parasitoïde(s). Modifié à partir de Chesnais (2020).

10.3. Lutte contre *Banana bunchy top virus* et *Pentalonia nigronervosa*

Dans cette thèse, nous avons développé des perspectives prometteuses pour le contrôle biologique de *P. nigronervosa* en utilisant des composés organiques volatils (COV). Cela doit toutefois être utiliser dans le cadre d'une approche de gestion intégrée, consistant en une combinaison raisonnée de toutes les méthodes de lutte, ayant une action régulatrice sur les maladies et les ravageurs d'une culture, afin de les maintenir à un niveau faible et rendre économiquement tolérable leur

seuil (Corbaz, 1990). Compte tenu de la compréhension des contraintes de la culture du bananier en Afrique subsaharienne, les principales actions de la stratégie de gestion intégrée doivent être intégrées dans le cadre global de la lutte contre les ravageurs et les maladies dans ces pays.

A court terme, la lutte préventive incluant l'utilisation de matériel de plantation certifié sain, l'instauration d'une politique qui permettrait à l'agriculteur de produire lui-même ses plants localement, tout en limitant drastiquement les possibilités d'échanges et d'exploitation sans contrôle préalable de la qualité de plants. La mise en place d'une telle politique implique alors de développer, en amont, une production de plants suffisante pour répondre aux besoins du marché, d'où la nécessité de développer vraisemblablement des exploitations spécialisées dans la production de plants sains. La formation et l'apprentissage aux agriculteurs, à reconnaître les premiers symptômes de BBTV est aussi une piste intéressante dans le contexte de forte prévalence, pour autant qu'elle s'accompagne d'une politique qui favorise l'élimination des plants atteints de viroses. Dans les zones où le BBTV est déjà présent, il est important de détruire systématiquement les plantes symptomatiques et de remplacer les plantations, d'utiliser des brise-vents qui limiteront la dispersion du puceron vecteur et d'utiliser des ennemis naturels (parasitoïdes ou prédateurs) de *P. nigronervosa* (Voelkl *et al.*, 1990 ; Tricahyati *et al.*, 2022). En saison sèche, conseiller et encourager l'arrosage foliaire, afin de limiter les populations des pucerons vecteurs.

A moyen et long terme, les génotypes de *Musa* spp présentant une résistance apparente au BBTV, et ceux ayant une moindre sensibilité à la croissance des populations de pucerons offrent des options pour prendre en compte la résistance aux pucerons et au BBTV dans les programmes de sélection des bananiers et des plantains (Ngatat *et al.*, 2022). Ces programmes de recherche doivent faire la lumière sur le rôle potentiel du génome B dans la résistance au BBTV chez le bananier (Espino *et al*., 1992 ; Ngatat *et al*., 2017, 2022).

PARTIE IV : RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abadie C, Bakry F, Carlier J, Iskra-Caruana ML, Cote F, Ganry J, Lescot T, Marie P et Sarah JL (2003) Bananes forever. Dossier du mois Février. *FruitTrop* 99: 4-11. http://agritrop.cirad.fr/513109/.

Abtew A, Subramanian S, Cheseto X, Kreiter S, Garzia GT, Martin T (2015) Repellency of Plant Extracts against the Legume Flower Thrips *Megalurothrips sjostedti* (*Thysanoptera*: *Thripidae*). *Insects* 6(3): 608-625.

Aljanabi SM, Martinez I (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res* 25:4692–4693.

Allmann S, Baldwin IT (2010) Insects betray themselves in nature to predators by rapid isomerization of Green Leaf Volatiles. *Science* 329:1075–1078. https://doi.org/10.1126/science.1191634.

Alvarez AE, Garzo E, Verbeek M, Vosman B, Dicke M, Tjallingii, WF (2007) Infection of potato plants with potato leafroll virus changes attraction and feeding behaviour of *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 125(2): 135-144.

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

Anhalt MD, Almeida RPP (2008) Effect of temperature, vector life stage and plant access period on transmission of *banana bunchy top virus* to banana. *Archive of Virology* 153 : 135-146.

Aquilino KM, Cardinale BJ, Ives AR (2005) Reciprocal effects of host plant and natural enemy diversity on herbivore suppression: an empirical study of a model tritrophic system. *Oikos* 108: 275–282.

Arias P, Dankers C, Lie P, Pikauskas P (2003) L'économie mondiale de la banane de 1985-2002. Service des matières et des produits tropicaux et horticoles (ESCR) Division des produits et du commerce international. FAO, Rome, Italie.

Arimura G-I, Ozawa R, Kugimiya S, Takabayashi J, Bohlmann J (2004) Herbivore-induced defense response in a model legume. Two-spotted spider mites induce emission of (E)-ocimene and transcript accumulation of (*E*)-ocimene synthase in *Lotus japonicus*. Plant Physiol 135:1976–1983.

Auclair JL (1963) Aphid Feeding and Nutrition. *Annual Review of Entomology* 8:(1) 439-490. doi: 10.1146/annurev.en.08.010163.002255.

Baker PF (1960) Aphid behavior on healthy and on yellows-virus-infected sugar beet. *Ann. Appl. Biol.* 48:384–91.

Baldwin IT (2010) Plant volatiles. *Curr Biol* 20(9): R392-397.

Bangata Bitha Nyi Mbunzu JC, Mobambo Kitume Ngongo P (2022) Évaluation de la productivité de cinq cultivars de bananiers associés aux légumineuses arborescentes à Kinshasa, RD Congo. Rev. Mar. *Sci. Agron. Vét.* 10(4): 461-468.

Baumann P (2005) Biology of bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sapsucking insects. *Annu. Rev. Microbiol*. 59, 155–189

Beetham PR, Harding RM, Dale JL (1999) *Banana bunchy top virus* DNA-2 to 6 are monocistromic. *Archives of virology* 144 : 89-105.

Belliure B, Janssen A, Maris PC, Peters D, Sabelis MW (2005) Herbivore arthropods benefit from vectoring plant viruses. *Ecol Lett* 8:70–79.

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

Ben Issa R, Gautier H, Gomez L (2017a) Influence of neighbouring companion plants on the performance of aphid populations on sweet pepper plants under greenhouse conditions. *Agricultural and Forest Entomology* 19(2): 181-191.

Ben Issa R, Gomez L, Gautier H (2017b) Companion Plants for Aphid Pest Management. *Insects* 8(4): 112-131.

Berenbaum MR (1995) The chemistry of defense: theory and practice. Proc Natl Acad Sci 92:2–8.

Bergstrom G (1985) Relations chimiques entre les Orchidées et leurs pollinisateurs. *Bulletin de la Société entomologique de France* 90(5-8) :1223-1228

Berhal C, De Clerck C, Fauconnier ML, Levicek C, Boullis A, Kaddes A, Jijakli HM, Verheggen F, Massart S (2017) First characterisation of volatile organic compounds emitted by banana plants. *Nat Publ Group* 1:1–7. https://doi.org/10.1038/srep46400

Bermingham J, Wilkinson TL (2009) Embryo nutrition in parthenogenetic viviparous aphids. *Physiological Entomology* 34(2): 103-109.

Bernasconi ML, Turlings TCJ, Ambrosetti L, Bassetti P, Dorn S (1998) Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. Entomol Exp Appl 87:133–142

Bestmann HJ, Winkler L, Von Helversen O (1997) Headspace analysis of volatile flower scent constituents of bat-pollinated plants. *Phytochemistry* 46 : 1169–1172

Bhadra P, Agarwala BK (2010) A comparison of fitness characters of two host plant-based congeneric species of the banana aphid, *Pentalonia nigronervosa* and *P. caladii*. *Journal of insect science* 10(140) : 1-18 available online : insectscience.org/10.140.

Bian G, Xu Y, Lu P, Xie Y, Xi Z (2010) The Endosymbiotic Bacterium Wolbachia Induces Resistance to Dengue Virus in Aedes aegypti. *PLOS Pathog* 6:e1000833.

Birkett MA, Pickett JA (2003) Aphid sex pheromones: from discovery to commercial production. *Phytochemistry* 62(5): 651-656. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00568-X.

Bjostad LB, Hibbard BE, Cranshaw SC (1993) Application of Semiochemicals in Integrated Pest Management Programs. *Pest Control with Enhanced Environmental Safety* 14 : 199-218. DOI : 10.1021/bk-1993-0524.ch014

Blackman RL, Eastop VF (1994) Aphids on the world's trees: an identification and information guide. CAB International in association with The Natural History Museum. London.

Blackman RL, Eastop VF (2000) Aphids on the world's crops: an identification and information guide. 2nd éd. John Wiley & Sons Ltd., England. S

Blanc S, Michalakis Y, Blanc S, Michalakis (2016) Manipulation of hosts and vectors by plant viruses and impact of the environment. *Current Opinion in Insect Science*, 16 : 36–43.

Blomme G, Ploetz R, Jones D, De Langhe E, Price N, Gold C, Geering A, Viljoen A, Karamura D, Pillay M, Tinzaara W, Teycheney P-Y, Lepoint P, Karamura E, Buddenhagen I (2013) A historical overview of the appearance and spread of *Musa* pests and pathogens on the African continent: highlighting the importance of clean Musa planting materials and quarantine measures. *Annals of Applied Biology* 162 : 4-26.

Blua M, Perring T (1992) Alatae production and population increase of aphid vectors on virus-infected host plants. *Oecologia*, 92 : 65-70.

Bosque-Pérez NA, Eigenbrode SA (2011) The influence of virus-induced changes in plants on aphid vectors: Insights from luteovirus pathosystems. *Virus Research* 159: 201-205. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.04.020.

Boullis A, Fassotte B, Sarles L, Lognay G, Heuskin S, Vanderplanck M, Bartram S, Haubruge E, Francis F, Verheggen FJ (2017) Elevated Carbon Dioxide Concentration Reduces Alarm Signaling in Aphids. *J Chem Ecol* 43(2): 164-171.

Boullis A, Francis F, Verheggen FJ (2015) Climate Change and Tritrophic Interactions: Will Modifications to Greenhouse Gas

Emissions Increase the Vulnerability of Herbivorous Insects to Natural Enemies? *Environmental Entomology* 44(2): 277-286.

Bouman KH (2001) Impact de la culture du bananier sur l'environnement : influence des sytsèmes de culture bananier sur l'érosion, le bilan hydrique et les pertes en nutriments sur un sol volcanique de Martinique, cas des sols brun rouille à halloysites. Thèse de doctorat, Ensam, France.

Braendle C, Davis GK, Brisson JA, Stern DL (2006) Wing dimorphism in aphids. Heredity 97, 192–199. https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800863

Bragard C, Caciagli P, Lemaire O, Lopez-Moya JJ, 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. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102346.

Branco M, Pereira JS, Mateus E, Tavares C, Paiva MR (2010) Water stress affects *Tomicus destruens* host pine preference and performance during the shoot feeding phase. *Annals of Forest Science* 67(6): 608-608.

Brault V, Uzest M, Monsion B, Jacquot E, Blanc S (2010) Aphids as transport devices for plant viruses. *Comptes Rendus Biologies*, 333 : 524–538.

Brennan EB (2013) Agronomic aspects of strip intercropping lettuce with alyssum for biological control of aphids. *Biological Control* 65(3): 302-311.

Bressan A, Watanabe S (2011) Immunofluorescence localisation of *Banana bunchy top virus* (family Nanoviridae) within the aphid

vector, *Pentalonia nigronervosa*, suggests a virus tropism distinct from aphid-transmitted luteoviruses. *Virus Research* 155 (2):520-525. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2010.12.005.

Bridge J, Fogaine R, Speijer P (1997) Les nématodes parasites des bananiers. In Parasites et ravageurs de *Musa*. Fiche technique No 2, INIBAP, 4p.

Bromley AK, Anderson M (1982) An electrophysiological study of olfaction in the aphid *Nasonovia ribisnigri*. *Entemologia Experimentalis et Applicata* 32: 101-110.

Brossut R (1996). Phéromones. La communication chimique chez les animaux. Paris : CNRS éditions, 143.

Bruce TJA (2014) Glucosinolates in oilseed rape: secondary metabolites that influence interactions with herbivores and their natural enemies. *Annals of Applied Biology* 164(3): 348-353.

Bruce TJA, Birkett MA, Blande J, Hooper AM, Martin JL, Khambay B, Prosser I, Smart LE, Wadhams LJ (2005a) Response of economically important aphids to components of *Hemizygia petiolata* essential oil. *Pest Management Science* 61(11): 1115-1121.

Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock CM (2005b) Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science* 10(6): 269-274.

Brun J (1963) La cercosporiose du bananier en Guinée. Etude de la phase ascosporée de *Mycosphaerella musicola* Leach. Thèse de doctorat ès science. Orsay, Paris, France.

Bruneau JC (2009) New provinces of the Democratic Republic of Congo. Territorial construction and ethnicities. *Journal of political geography and geopolitics*.

Bruno D, Grossi G, Salvia R, Scala A, Farina D, Grimaldi A, Zhou JJ, Bufo SA, Vogel H, Grosse-Wilde E, Hansson BS, *Falabella P* (2018) Sensilla Morphology and Complex Expression Pattern of Odorant Binding Proteins in the Vetch Aphid *Megoura viciae* (*Hemiptera*: *Aphididae*). *Front Physiol* 9: 777.

Burns RM, Dale HJL (1995) The genome organization of *Banana bunchy top virus*: analysis of six DNAss components. *J Gen Virol* 76:1471–1482.

Buyckx EJE (1962) Précis de maladies et insectes nuisibles rencontrés sur les plantes cultivées au Congo, au Rwanda et au Burundi. I.N.E.A.C. Bruxelles. *Hors série*. 708p.

Byers JA, Wood DL, Browne LE, Fish R, Piatek B, Hendry LB (1979) Relationship between a host plant compound, myrcene and pheromone production in the bark beetle, *Ips paraconfusus*. *J Insect Physiol* 25:477–482.

CABI (2021) Invasive species compendium https://www.cabi.org/isc/.

CABI (2022a) Banana bunchy top virus (bunchy top of banana). https://www.cabi.org/isc/datasheet/8161. Accessed on 16-February-2022.

CABI (2022b) *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (banana aphid) http://www.cabi.org/isc/datasheet/39598. Accessed on 16-February-2022.

Cao HH, Wang SH, Liu TX (2014) Jasmonate- and salicylate-induced defenses in wheat affect host preference and probing behavior but not performance of the grain aphid, *Sitobion avenae*. *Insect Sci* 21(1): 47-55.

Carey JR (1993) Applied demography for biologists with special emphasis on insects. Oxford University Press, New York.

Carmo-Sousa M, Moreno A, Garzo E, Fereres A (2014) A non-persistently transmitted-virus induces a pull-push strategy in its aphid vector to optimize transmission and sprea. *Virus Res* 186:38–46. https://doi.org/10.1016/j.virusres. 2013.12.012.

Carmo-Sousa M, Moreno A, Plaza M, Garzo E, Fereres A (2016) *Cucurbit aphid-borne yellows virus* (CABYV) modifies the alighting, settling and probing behaviour of its vector *Aphis gossypii* favouring its own spread. *Ann Appl Biol* 169:284–297.

Casteel CL, Falk BW (2016) Plant Virus-Vector Interactions: More Than Just for Virus Transmission. *Current Research Topics in Plant Virology* (eds A. Wang & X. Zhou), pp. 217–240. inbook, Springer International Publishing, Cham.

Castro AM, Tapias J, Ortiz A, Benavides P, Góngora CE (2017) Identification of attractant and repellent plants to coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 164(2): 120-130.

Chabannes M, Baurens FC, Duroy PO, Bocs S, Vernerey M-S, Rodier-Goud M, Barbe V, Gayral P, Iskra-Caruana ML (2013) Three infectious viral species lying in wait in the banana genome. *J. Virol*. 87(15):8624–8637.

Chakraborty S, Barman M, Samanta S, Roy M, Tarafdar J (2021) Effect of *Banana Bunchy Top Virus* on the Heat Shock Protein Genes of *Pentalonia nigronervosa* during Temperature Susceptibility and Its Effect on Virus Transmission. Agronomy 11(9):1866. https://doi.org/10.3390/agronomy11091866.

Champion J (1963) Le bananier. Maisonneuve et Larose, Paris, France, 263pp

Chandrassekar A, Kalaiponnani K, Elayabalan S, Kumar KK, Angappan K, Balasubramanian P (2011) Screening of *Banana bunchy top virus* through multiplex PCR approach. *Arch Phytopathol Plant Prot* 44:1920–2192. https://doi.org/10.1080/03235408.2010.522820.

Chapman RF, Bernays EA, Simpson SJa (1981). Attraction and repulsion of the aphid, Cavariella aegopodii, by plant odors. *Journal of Chemical Ecology* 7(5): 881-888.

Chaudhry Z, Fujimoto S, Satoh S, Yoshioka T, Hase S, Ehara Y (1998) Stimulated ethylene production in Tobacco (*Nicotiana Taba- cum* L., Cv. Ky 57) leaves infected systemically with *Cucumber Mosaic Virus* yellow strain. Plant Sci 131:123–130

Chesnais Q (2016) Intégration de la Cameline au sein des agro-écosystèmes : des relations multi-trophiques complexes. Université de Picardie Jules Verne, France.

Chesnais Q, Couty A, Uzest M, Brault V, Ameline A (2019a) Plant infection by two different viruses induce contrasting changes of vectors fitness and behavior. *Insect Sci* 26:86–96. https://doi.org/10.1111/1744-7917.12508.

Chesnais Q, Mauck QE, Bogaert F, Bamière A, Catterou MF, Brault V, Tepfer M, Ameline A (2019b) Virus effects on plant quality and vector behavior are species specific and do not depend on host physiological phenotype. *J Pest Sci* 92:791–804.

Choh Y, Shimoda T, Ozawa R, Dicke M, Takabayashi J (2004) Exposure of lima bean leaves to volatiles from herbivore-induced conspecific plants results in emission of carnivore attractants: active or passive process? *Journal of Chemical Ecology* 30(7).

Colvin J, Omongo CA, Govindappa MR, Stevenson PC, Maruthi MN, Gibson G, Seal SE, Muniyappa V (2006) Host-plant viral infection effects on arthropod-vector population growth, development and behaviour: management and epidemiological implications. *Adv Virus Res* 67:419-52. doi: 10.1016/S0065-3527(06)67011-5. PMID: 17027686.

Corbaz R (1990) Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses polytechniques et Universitaire Romande, Lausane, Suisse.

D'acier AC, Cruaud A, Artige E, Genson G, Clamens A-L, Pierre E, Hudaverdian S, Simon J-C, Jousselin E, Rasplus J-Y (2014) DNA Barcoding and the Associated PhylAphidB@se Website for the Identification of European Aphids (Insecta: *Hemiptera*: *Aphididae*). PLOS ONE 9:e97620.

D'HontA , Denoeud F, Aury J-M, Baurens F-C, Carreel F, Garsmeur O, Noel B, Bocs S, Droc G, Rouard M, Da Silva C, Jabbari K, Cardi1 C, Poulain J, Souquet M, Labadie K, Jourda C, Lengelle J, Rodier-Goud,M, Alberti A, Bernard M, Correa M, Ayyampalayam S, Mckain MR, Leebens-Mack J, Burgess D,

Freeling M, MbeguieA-Mbeguie D, Chabannes M, Wicker T, Panaud O, Barbosa J, Hribova E, Heslop-Harrison P, Habas R, Rivallan R, Francois P, Poiron C, Kilian A, Burthia D, Jenny C, Bakry B, Brown S, Guignon V, Kema G, Dita M, Waalwijk C, Joseph S, Dievart A, Jaillon O, Leclercq J, Argout X, Lyons E, Almeida A, Jeridi1 M, Dolezel J, Roux N, Risterucci A-M, Weissenbach J, Manuel Ruiz M, Glaszmann JC, Francis Quetier F, Yahiaoui1 N, Wincker P (2012) The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. Nature, 488 : 213-219.

Dale JL (1987) Banana Bunchy Top: An Economically Important Tropical Plant Virus Disease, p. 301–325. In Maramorosch, K, Murphy, FA, Shatkin, AJ (eds.), Advances in Virus Research. Academic Press.

Daly HV (1985) Insect morphometrics. *A. Rev. Ent*. 30: 414.

Dardouri T, Gautier H, Ben Issa R, Guy Costagliola, Gomez L (2019) Repellence of *Myzus persicae* (Sulzer): evidence of two modes of action of volatiles from selected living aromatic plants. *Pest Management Science* 75(6) : 1571-1584

Darshanee HC, Ren H, Ahmed N, Zhang ZF, Liu YH, Liu TX (2017) Volatile-Mediated Attraction of Greenhouse Whitefly Trialeurodes vaporariorum to Tomato and Eggplant. *Front Plant Sci* 8: 1285.

Darwin C (1859) On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life. Londres

De Backer L, Megido RC, Fauconnier ML, Brostaux Y, Francis F, Verheggen F (2015) *Tuta absoluta*-induced plant volatiles: attractiveness towards the generalist predator *Macrolophus pygmaeus*. Interact Arthropode-Plante 9:465–476. https://doi.org/10.1002/9780470015902.A0021525.a0000760.pub2.

De Clerck C, Fujiwara A, Joncour P, Léonard S, Félix M-L, Francis F, Jijakli MH, Tsuchida T, Massart S (2015) A metagenomic approach from aphid's hemolymph sheds light on the potential roles of co-existing endosymbionts. *Microbiome* 3:63.

De Clerck C, Tsuchida T, Massart S, Lepoivre P, Francis F, Jijakli MH (2014) Combination of Genomic and Proteomic Approaches to Characterize the Symbiotic Population of the Banana Aphid (Hemiptera: Aphididae). *Environ Entomol* 43:29–36.

De Luca F, Troccoli A, Duncan LW, Subbotin SA, Waeyenberge L, Coyne DL, Brentu FC, Inserra RN (2012) *Pratylenchus speijeri* n. sp. (*Nematoda*: *Pratylenchidae*), a new rootlesion nematode pest of plantain in West Africa. *Nematology*, 14(8) : 987-1004.

De Saint Moulin L (2010) Villes et organisation de l'espace en République Démocratique du Congo. Paris : L'Harmattan.

De Waele D, Davide RD (1998) Nématodes à galle de bananiers plantains. In INIBAP, 2001, Parasites et ravageurs de Musa, Fiche technique N°3.

Deletre E, Schatz, B, Bourguet D, Chandre F, Williams L, Ratnadass A, Martin T (2016) Prospects for repellent in pest control: current developments and future challenges. *Chemoecology* 26(4): 127-142.

Delvaux B (1995) Soils. In S. Gowen, eds., Bananas and Plantains Chapman and Hall, London, p230-257.

Demeter S, Lebbe O, Hecq F, Nicolis SC, Kenne Kemene T, Martin H, Fauconnier M-L, Hance T (2021) Insecticidal Activity of 25 Essential Oils on the Stored Product Pest, *Sitophilus granarius*. *Foods* 10(2):200. https://doi.org/10.3390/foods10020200.

Dhed'a Djailo B, Adheka Giria J, Onautshu Odimba D., Swennen R (2019) La culture des bananiers et plantains dans les zones agroécologiques de la République Démocratique du Congo. Presse Universitaire UNIKIS, Kisangani, 72.

Dhed'a Djailo B, Moango M, Swennen R (2011) La culture de bananiers et bananiers plantains en République démocratique du Congo, support didactique. Media St Paul, Kinshasa, République démocratique du Congo.

Dhed'a Djailo B, Swennen R, Moango Manga A, Blomme G (2009) Contribution à l'amélioration de la culture des bananiers plantains dans la région forestière Nord-est du bassin du Congo. CIALCA II. Technical Progress Report 15. 101p. http://www.stanleyville.be/documents/LaculturedesbananiersetbananiersplantainsenRepubliqueDemocratiqueduCongo.pdf (consulté le 5-6-2016).

Dixon AFG., Kindlmann P, Leps J, Holman J (1987) « Why there are so few species of aphids, especially in the tropics ». *American Naturalist*: 580–592.

Dolan MC, Panella NA (2011) A Review of Arthropod Repellents. In Recent Developments in Invertebrate Repellents, Vol. 1090, 1-19 (Eds G. E. Paluch and J. R. Coats).

Dong F, Fu X, Watanabe N, Su X, Yang Z (2016) Recent Advances in the Emission and Functions of Plant Vegetative Volatiles. *Molecules* 21(2): 124.

Döring TF (2014) How aphids find their host plants, and how they don't. *Ann Appl Biol* 165:3–26.

Döring TF, Röhrig K (2016) Behavioural response of winged aphids to visual contrasts in the field. *Annals of Applied Biology* 168(3): 421-434.

dos Santos RC, Peñaflor MFGV, Sanches PA, Nardi C, Bento JMS (2015) The effects of *Gibberella zeae*, Barley Yellow Dwarf Virus, and co-infection on Rhopalosiphum padi olfactory preference and performance. *Phytoparasitica* 44(1): 47-54.

Douglas A (1998) Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria B. aphidicola. *Annu. Rev. Entomol.* 43 : 17–37.

Dowiya NB, Rweyemamu CI, Maerere AP (2009) Banana (*Musa* spp. Colla) cropping systems, production constraints and cultivar preferences in eastern Democratic Republic of Congo. *J Anim Plant Sci* 4(2):341–356.

Duay JAM, Miller RH, Wall GC, Pike KS, Foottit RG (2014) *Pentalonia nigronervosa* Coquerel and *Pentalonia caladii* van der Goot (*Hemiptera* : *Aphididaae*) and their relationship to *banana bunchy tpo virus* in Micronesia. Pacific science, 68, n° 15p.

Dudareva N, Klempien A, Muhlemann JK, Kaplan I (2013) Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytologist* 198(1): 16- 32.

Dudareva N, Negre F, Nagegowda DA, Orlova I (2006) Plant Volatiles: Recent Advances and Future Perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences* 25(5): 417-440.

Durieux D, Verheggen FJ, Vandereycken A, Joie E,. Haubuge E (2010) L'écologie chimique des Coccinelles. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. 14(2) : 351-367.

Dutra HLC, Rocha MN, Dias FBS, Mansur SB, Caragata EP, Moreira LA (2016) Wolbachia Blocks Currently Circulating Zika Virus Isolates in Brazilian Aedes aegypti Mosquitoes. Cell Host Microbe 19:771–774.

Eastop VF (1966) A taxonomic study of Australia Aphidoidea (*Homoptera*). *Australian Journal of zoology*. 14 : 399-592.

Eden-Green SJ (1994) La maladie du sang du bananier. In INIBAP, 2001. Maladies de Musa, Fiche technique N° 3, 2p.

Edwards FL, Tchounwou P (2005) Environmental toxicology and health effects associated with methyl parathion exposure—a scientific review. Int J Environ Res Public Health 2(3):430–441 Eigenbrode SD, Ding H, Shiel P, Berger PH (2002) Volatiles from potato plants infected with *potato leafroll virus* attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (*Homoptera: Aphididae*). *Proc R Soc Lond B* 269:455–460.

Eigenbrode SD, Birch ANE, Lindzey S, Meadow R, Snyder WE, Pocock M (2016) REVIEW: A mechanistic framework to improve understanding and applications of pushpull systems in pest management. Journal of Applied Ecology 53(1): 202-212.

Eigenbrode SD, Bosque-Pérez NA, Davis TS (2018) Insect-borne plant pathogens and their vectors: ecology, evolution, and complex interactions. *Annu Rev Entomol* 63:169–191.

Eigenbrode SD, Ding H, Shiel P, Berger PH (2002) Volatiles from potato plants infected with *potato leafroll virus* attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (*Homoptera: Aphididae*). *Proc Biol Sci* 269 : 455-460.

Emden HF van, Harrington R (2017) Aphids as Crop Pests, 2nd Edition. CABI.

Espino RC, Magnaye LV, Johns AP, Juanillo C (1992) Evaluation of Philippine banana cultivars for resistance to bunchy top and fusarium wilt. *In* Proceedings of the International Symposium on Recent Developments in Banana Cultivation Technology, Pingtung, Taiwan, 14–18 December 1992; Valmayor, R.V., Hwang, S.C., Ploetz, R., Lee, R.C., Roa, N.V., Eds.; INIBAP/ASPNET: Los Baños, Philippines, 1993; pp. 89–102.

Facknath S & Lalljee B (2008) Study of Various Extracts of Ayapana triplinervis for their Potential. *Tropicultura*, 26 (2) : 119-124.

Facundo HVdeV, Garruti DS, Cordenunsi BR, Lajolo FM (2013) Isolation of volatiles compounds in banana by HS-SPME: optimization for the whole fruit and pulp. *Int. J. Biosci. Biochem. Bioinforma*. 3, 110–115.

FAO (2020) Banana Market Review Preliminary Results; FAO: Rome, Italy, 2021; 21, Available online: https://www.fao.org/3/cb5150en/cb5150en.pdf (accessed on 8 February 2022).

FAOSTAT (2016) Agricultural productions indices. http://www.faostat.org.

FAOSTAT (2020) Agricultural productions indices. www.faostat.org.

Fereres A, Araya JE, Housley TL (1990) Carbohydrate composition of wheat infected with barley yellow dwarf virus. *Journal of Plant Disease Protection*, 97: 600–608.

Fereres A, Moreno A (2009) Behavioral aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. *Virus Res*, 141 :158-168.

Fereres A, Raccah B (2015) Plant virus transmission by insects. Encyclopedia of life sciences

Fernandez-Grandon GM, Woodcock CM, Poppy GM (2013) Do asexual morphs of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*, utilise the aphid sex pheromone? Behavioural and electrophysiological responses of My. persicae virginoparae to (4aS,7S,7aR)-nepetalactone and its effect on aphid performance. *Bulletin of Entomological Research* 103(4): 466-472.

Ferreira AS, Trujillo EE, Ogata YD (1997) *Banana bunchy to virus*. Plant Disease. University of Hawaii at Manao, Cooperative Extension Service Plant. PD-12.

Foottit RG, Maw HEL, Pike KS, Miller RH (2010) The identity of *Pentalonia nigronervosa* and *P. caladii* van der Goot (*Hemiptera*: *Aphididae*) based on molecular and morphometric analysis. *Zootaxa* 2358 : 25-38.

Forkner RE, Hunter MD (2000) What goes up must come down? Nutrient addition and predation pressure on oak herbivores. *Ecology* 81: 1588–1600.

Fountain MT, Baroffio C, Borg-Karlson A-K, Brain P, Cross JV, Farman DI, Hall DR, Ralle B, Rendina P, Richoz P, Sigsgaard L, Storberget S, Trandem N, Wibe A (2017) Design and deployment of semiochemical traps for capturing Anthonomus rubi Herbst (*Coleoptera*: *Curculionidae*) and *Lygus rugulipennis* Poppius (*Hetereoptera*: *Miridae*) in soft fruit crops. *Crop Protection* 99: 1-9.

Francis F, Vandermoten S, Verheggen F, Lognay G, Haubruge E (2005) Is the (E)-β-farnesene only volatile terpenoid in aphids*?, J Appl Entomol*, 129 : 6-11.

Fukatsu T (1994) Endosymbiosis of aphids with microorganisms: a model case of dynamic endosymbiotic evolution. *Plant Species Biol*. 9: 145–154.

Fukatsu T, Nikoh N (1998) Two intracellular symbiotic bacteria from the mulberry psyllid Anomoneura mori (Insecta, Homoptera). *Appl. Environ. Microbiol*. 64: 3599–3606.

Gahama J (1987) Le Burundi sous l'administration belge : la période sous mandat (1919-1939), Paris, Harmattan, 465p.

Garret A, Kerlan C, Thomas D (1996) Ultrastructural study of acquisition and retention of potato leafroll luteovirus in the alimentary canal of its aphid vector, *Myzus persicae* Sulz. *Arch Virol*. 141(7) :1279-92.

Gatsinzi F (1987) Les Principales Maladies et Ravageurs du Bananier au sein de la CEPGL in Séminaire sur les maladies et ravageurs

des principales cultures vivrières d'Afrique centrale. Iraz, CTA, Bujumbura.

Ghag SB, Shekhawat UKS, Ganapathi TR (2015) Fusarium wilt of banana: biology, epidemiology and management. *Int. J. Pest Manag*. 61, 250–263. doi: 10.1080/09670874.2015.1043972.

Ghosh A, Das A, Vijayanandraj S, Mandal B (2016) Cardamom bushy dwarf virus infection in large cardamom alters plant selection preference, life stages, and fecundity of aphid vector, *Micromyzus kalimpon- gensis* (*Hemiptera*: *Aphididae*). *Environ. Entomol*. 45:178–84.

Gildow F (1980) Increased production of alatae by aphids reared on oats infected with *barley yellow dwarf virus. Ann Entomol Soc Am* 73 : 343-347.

Giordanengo P, Brunissen L, Rusterucci C, Vincent C, van Bel A, Dinant S, Girousse C, Faucher M, Bonnemain J (2010) Compatible plant-aphid interactions: how aphids manipulate plant responses. *C R Biol* 333(6-7): 516-523.

Gliessman, e. R. (1984) Multiple cropping systems: a basis for developing an alternative agriculture. In Innovative biological technologies for lesser developed countries, 69-86 (Ed O. o. T. Assessment). Washington D.C: U.S. Congress.

Gold CS, Messieaen S (2000) Charançon du bananier Cosmopolites Sordidus. Parasites et ravageurs de Musa. *Infomusa* 6(2): 19-21.

Gong JT, Li Y, Li TP, Liang Y, Hu L, Zhang D, Zhou CY, Yang C, Zhang X, Zha SS, Duan XZ, Baton LA, Hong XY, Hoffmann AA, Xi Z (2020) Stable Introduction of Plant-Virus-Inhibiting

Wolbachia into Planthoppers for Rice Protection. *Curr Biol* 30:4837-4845.e5.

Gray S, Cilia M, Ghanim M (2014) Circulative, “non propagative” virus transmission: an orchestra of virus-, insect-, and plant-derived instruments. *Adv Virus Res* 89:141–199.

Gret (2002) Memento de l’agronome. Cirad, CTA, Montpellier, France.

Guerrieri E, Digilio MC (2008) Aphid-plant interactions: a review. *Journal of Plant Interactions* 3(4): 223-232.

Guerrieri E, Digilio MC (2008) Aphid-plant interactions: a review. *Journal of Plant Interactions* 3(4): 223-232.

Guo J, Hatt S, He K, Chen J, Francis F, Wang Z (2017) Nine facultative endosymbionts in aphids. A review. *Journal of Asia Pacific Entomology* 20 : 794 - 801. https://doi.org/10.1016/j.aspen.2017.03.025.

Guyot V, Rajeswaran R, Chu HC, Karthikeyan C, Laboureau N, Galzi S, Lyna LFT Mukwa, Krupović M, Kumar PL, Iskra-Caruana M-L, Pooggin MM (2022) A newly emerging alphasatellite affects banana bunchy top virus replication, transcription, siRNA production and transmission by aphids. *PLoS Pathog* 18(4): e1010448. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010448.

Haddad R, Khan R, Takahashi YK, Mori K, Harel D, Sobel N (2008) A metric for dorant comparison. *Nat Methods* 5(5): 425-429.

Hafner GJ, Harding RM, Dale JL (1995) Movement and transmission of *Banana bunchy top virus* DNA component one in banana. *J Gen Virol* 76:2279–2285.

Haldane JBS (1932) The causes of evolution. Longmans Green, London, UK.

Hales FD, Wilson ACC, Sloane MA, Simon J-C, le Gallic J-F, Sunnucks P (2002) « Lack of detectable genetic recombination on the X chromosome during the parthenogenetic production of female and male aphids ». *Genetical research* 79 (3): 203-209.

Halitschke R, Stenberg JA, Kessler D, Kessler A, Baldwin IT (2008) Shared signals—alarm calls from plants increase apparency to herbivores and their enemies in nature. *Ecol Lett* 11:24–34.

Hallem EA, Carlson JR (2006) Coding of odors by a receptor repertoire. *Cell* 125(1): 143-160.

Han B, Zhang Q-H, Byers JA (2012) Attraction of the tea aphid, Toxoptera aurantii, to combinations of volatiles and colors related to tea plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 144: 258–269https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2012.01303.x.

Hance T (1998) Les attaques de pucerons, qu'en sait-on ? les sillon Belge-Variété de Maïs, suppl. du 6 mars 1998 p.42-55.

Hance T, Nibelle D, Lebrun P, Van Impe G, Van Hove C (1994) Selection of Azolla forms resistant to the water lily aphid, *Rhopalosiphum nymphaeae* Susceptibility of Azolla forms to *Rhopalosiphum nymphaeae*. *Entomologia experimentalis et applicata*, 70(1): 19-25.

Hardie J, Visser JH, Piron PGM (1995) Peripheral odour perception by adult aphid forms with the same genotype but different host-plant preferences. *J Insect Physiol* 41:91–97.

Harding RM, Burns TM, Dale JL (1991) Virus-like particles assiociated with banana bunchy top desease contain small single-stranded DNA. *Journal of General virology* 72: 225-230.

Harish S, Kavino M, Kumar N, Balasubramanian NP, Samiyappan R (2009) Induction of defense-related proteins by mixtures of plant growth promoting endophytic bacteria against Banana bunchy top virus. *Biological control* 51 : 16-25.

Harrewijn P, van Oosten AM, Piron PG (2000) Natural Terpenoids as Messengers: A multidisciplinary study of their production, biological functions and practical applications. Springer Science & Business Media.

Harris FK (1977) An ingestion-egestion hypothesis of non-circulative virus transmission. *Aphids As Virus Vectors*, pp165-220.

Harris KF, Pesic-Van Esbroeck Z, Duffus JE (1996) Morphology of the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (*Homoptera*, *Aleyrodidae*) relative to virus transmission. *Zoomorphology*, 116, 143–156.

Hatano E, Kunert G, Weisser WW (2010) Aphid wing induction and ecological costs of alarm pheromone emission under field conditions. *PLoS One* 5(6): e11188.

Hayward AC (1983) Pseudomonas solanacearum: bacterial wilt and moko disease. In: Plant bacterial diseases (Ed. by Fahy, P.C.; Persley, G.J.), pp. 129-135. Academic Press, Sydney, Australie.

Hazell SP, Gwynn DM, Ceccarelli S, Fellowes MDE (2005) Competition and dispersal in the pea aphid: clonal variation and correlations across traits. *Ecological Entomology* 30: 293–298.

He X, Xu H, Gao G, Zhou X, Zheng X, Sun Y, Yang Y, Tian J, Lu Z (2014) Virus-Mediated Chemical Changes in Rice Plants Impact the Relationship between Non-Vector Planthopper *Nilaparvata lugens* Stål and Its Egg Parasitoid *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang (ed Y Zhang). *PLoS ONE*, 9, e105373.

Heddi A, Grenier A-M, Khatchadourian C, Charles H Nardon P (1999) Four intracellular genomes direct weevil biology: nuclear, mitochondrial, principal endosymbiont, and Wolbachia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96: 6814–6819.

Hedges LM, Brownlie JC, O'Neill SL, Johnson KN (2008) Wolbachia and Virus Protection in Insects. *Science* 322:702–702.

Hendel-Rahmanim K, Masci T, Vainstein A, Weiss D (2007). Diurnal regulation of scent emission in rose flowers. *Planta* 226: 1491–1499.

Herrbach E (1985) Rôle des semiochimiques dans les relations pucerons-plantes II - Les substances allelochimiques. *Agron EDP Sci* 5:375–384.

Hill DS (1983) Agricultural insects and pests of the topics and their control. Cambridge University Press. 2nd edition, p203.

Hoballah ME, Turlings TCJ (2005) The Role of Fresh versus Old Leaf Damage in the Attraction of Parasitic Wasps to Herbivore-Induced Maize Volatiles. *J Chem Ecol* 31:2003–2018.

Hodge S, Hardie J, Powell G (2011) Parasitoids aid dispersal of a nonpersistently transmitted plant virus by disturbing the aphid vector. *Agricultural and Forest Antomology* 13 (1): 83-88. https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2010.00493.

Hodge S, Powell G (2008) Do Plant Viruses Facilitate Their Aphid Vectors by Inducing Symptoms that Alter Behavior and Performance?, *Environmental Entomology*, 37 (6): 1573–1581. https://doi.org/10.1603/0046-225X-37.6.1573.

Hodgson CJ (1981) Effects of infection with the cabbage black ringspot strain of turnip mosaic virus on turnip as a host to *Myzus persicae* and Brevicoryne brassicae. *Annals Applied Biology*, 98: 1–14.

Hogenhout SA, Ammar ED, Whitfield AE, Redinbaugh MG (2008) Insect Vector Interactions with Persistently Transmitted Viruses. *Annual Review of Phytopathology* 46:1, 327-359.

Holmes JC, Bethel WM in Behavioral Aspects of Parasite Transmission (eds Canning E. U., & Wright C. A.) 123-149 (Academic Press, 1972).

Holopainen JK (2008) Importance of olfactory and visual signals of autumn leaves in the coevolution of aphids and trees. *Bioessays* 30(9): 889-896.

Holopainen JK, Gershenzon J (2010) Multiple stress factors and the emission of plant VOC. *Trends in Plant Science* 15(3): 176-184.

Holopainen JK, Semiz G, Blande, JD (2009) Life-history strategies affect aphid preference for yellowing leaves. *Biol Lett* 5(5): 603-605.

Hooks CR, Wang KH, Pradhan NC, Manandhar R, Wright MG, Vorsino AJ (2011) Population distribution and density of *Pentalonia nigronervosa* (*Hemiptera*: *Aphididae*) within banana mats: influence of plant age and height on sampling and management. *Journ. Econ. Entomol.*,104(3): 947-55.

Hooks CRR , Wright MG , Kabasawa DS, Manandhar R, Almeida RPP (2008) Effect of banana bunchy top virus infection on morphology and growth characteristics of banana. *Ann Appl Biol* 153 : 1–9.

Hooks CRR, Manandhar R, Perez EP, Wang KH, Almeida RPP (2009) Comparative Susceptibility of Two Banana Cultivars to *Banana Bunchy Top Virus* Under Laboratory and Field Environments. *Journal of Economic Entomology* 102 (3): 897–904. https://doi.org/ 10.1603 / 029.102.0306.

Hopkins TL, Young H (1990) Attraction of the grasshopper, Melanoplus sanguinipes, to host plant odors and volatile components. *Entomologia, Experimentalis, et Applicata* 56 (3): 249-258. https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1990.tb01403.x.

Hu JS, Wang M, Sether D, Xie W, Leonhard KW (1996) Use of polymerase chain reaction (PCR) to study transmission of banana bunchy top virus by the banana aphid (*Pentalonia nigronervosa*). *Ann Appl Biol* 128 : 55-64. https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1996.tb07089.x.

Huet R, Murail MC (1972) L'huile essentielle d'orange de type "Guinee" *Fruits* 27 (4).

Hullé M, Ighil ET-A, Robert Y, Monnet Y (1999) Les pucerons des plantes maraîchères. Cycles biologiques et activités de vol. INRA édit.

Hunter MD, Price PW (1992) Playing Chutes and Ladders : Heterogeneity and the Relative Roles of Bottom-Up and Top-Down Forces in Natural Communities. *Ecology* 73: 724–732.

Hurd H (2003) Manipulation of medically important insect vectors by their parasites. *Annu. Rev. Entomol*. 48, 141-161.

Ighil E T-A, Debryver C-A, Chaubet B, Hullé M (2011) Les pucerons de grandes cultures : cycle biologiques et activité de sol. Edition Acta. 136 pages.

Ingwell LL, Eigenbrode SD, Bosque-Perez NA (2012) Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. *Science* 2:578. DOI: 10.1038/srep00578.

Iskra-Caruana ML (2003) *Banana bunchy top virus* – BBTV, Analyse du risque Phytosanitaire (ARP), CIRAD, BAN-v1, 31p.

Ismail M, van Baaren J, Briand V, Pierre J-S, Vernon P, Hance T (2014) Consequences of low temperature storage of Aphidius ervi . *BioContro*l 59: 139–148. https://doi.org/10.1007/s10526-013-9551-x.

Jacome L, Lepoivre P, Marin D, Ortiz R, Romero R, Escalant J (2002) *Mycosphaerella* Leaf Spot Diseases of Banana: Present Status and Outlook.

Jakobs R, Muller C (2018). Effects of intraspecific and intra-individual differences in plant quality on preference and performance of monophagous aphid species. *Oecologia* 186(1): 173-184.

James DG (2003) Field Evaluation of Herbivore-Induced Plant Volatiles as Attractants for Beneficial Insects: Methyl Salicylate and the Green Lacewing, Chrysopa nigricornis. *J Chem Ecol* 29: 1601–1609. https://doi.org/10.1023/A:1024270713493.

James DG, Price TS (2004) Field-testing of methyl salicylate for recruitment and retention of beneficial insects in grapes and hops. *J Chem Ecol* 30:1613–1628.

Janzen DH (1966) Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution* 20: 249–275.

Jensen SG, Van Sambeek JW (1972) Differential effects of *barley yellow dwarf virus* on the physiology of tissues of hard red spring wheat. *Phytopathology* 62:290–293.

Jimenez-Martinez ES, Bosque-Perez NA, Berger PH, Zemetra RS, Ding H, Eigenbrode SD (2004) Volatile cues influence the reponse of *Rhopalosiphum padi* (*Homoptera*: *Aphididae*) to Barley yellow dwarf virus-infected transgenic and untransformed wheat. *Environ Entomol* 33(5):1207–1216. https://doi.org/10.1603/0046-225X-33.5.1207.

Joffrey M, Chesnais Q, Spicher F, Verrier E, Arnaud Ameline A, Couty A (2018) Plant virus infection influences bottom-up regulation of a plant-aphid-parasitoid system. *J Pest Sci* 91, 361–372. https://doi.org/10.1007/s10340-017-0911-7.

Johnson B, Birk PR (1960) Studies on wing polymorphism in aphids. I. The developmental process involved in the production of the different forms. *Ibid*. 3: 327-39.

Jones DR (2000) Diseases of Banana, Abacá and Enset. CABI Publishing. Wallingford, Oxon, UK. 544pp.

Jousselin E, Cœur d'Acie A, Vanlerberghe-Masutt F, Duron O (2013) Evolution and diversity of Arsenophonus endosymbionts in aphids. *Molecular Ecology* 22, 260–270. Doi: 10.1111/mec.12092.

Kagy V, Mille C, Mademba-Sy F (2000) Le puceron du bananier *Pentalonia nigronervosa* Coquerel (*Homoptera* : *Aphididae*) l'insecte vecteur de la maladie virale du bunchy top, protection phytosanitaire des cultures fruitières en Nouvelles Calédonie. Fiche technique n°3.5, Nouvelle Calédonie.

Kangire A (1998) Fusarium wilt (Panama disease) of exotic bananas and wilt of East African highland bananas (Musa, AAA-EA) in Uganda. Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de PhD. Department of Agriculture, Reading University. 304pp.

Karamura E, Kayobyo G, Blomme G, Benin S, Eden-Green SJ, Markham R (2006) Impacts of BXW epidemic on livelihood of rural communities in Uganda. In Saddler, G., J. Elphinstone, J. Smith (eds) Abstract Book of the 4 th International Bacterial Wilt Symposium. p57.

Kassambara A, Mundt F (2017) Package 'factoextra'. Extract and visualize the results of multivariate data analyses, 76.

Kassanis B, Govier DA (1971) The Role of the Helper Virus in Aphid Transmission of Potato Aucuba Mosaic Virus and Potato Virus C. *Journal of General Virology* 13: 221–228.

Kaur R, Shropshire JD, Cross KL, Leigh B, Mansueto AJ, Stewart V, Bordenstein SR, Bordenstein SR (2021) Living in the endosymbiotic world of Wolbachia: A centennial review. *Cell Host Microbe* 29:879–893.

Kema GHJ, Drenth A, Dita M, Jansen K, Vellema S, Stoorvogel JJ (2021) Editorial: Fusarium Wilt of Banana, a Recurring Threat to Global Banana Production. *Front. Plant Sci*. 11:628888. doi: 10.3389/fpls.2020.628888.

Kennedy JS, Cabine CO, Kershaw WJS (1959) Host finding by aphids in the field : Aphids fabae scop. (*gynoparae*) and *Brevicoryne brassicae* (L.), with a re-appraisal of the role host finding behaviour in virus spread. *Annual Applied Biology* 47: 424-444.

Kennedy JS, Day MF, Eastop VF (1962) A Conspectus of Aphids as Vectors of Plant Viruses. Commonwealth Institute of Entomology, London, United Kingdom.

Khuhro NH, Biondi A, Desneux N. Zhang L, Zhang Y, Chen H (2014) Trade-off between flight activity and life-history components in *Chrysoperla sinica* . *BioControl* 59 : 219–227. https://doi.org/10.1007/s10526-014-9560-4.

King MQ, Adams MJ, Carstens EB, Lefkowitz EJ (2012) Virus taxonomy: Classification and Nomenclature of viruses. 9th Report of International Committee on Taxonomy of viruses. London, UK.

Knight TM, McCoy MW, Chase JM, McCoy KA, Holt RD (2005) Trophic cascades across ecosystems. *Nature*, 437: 880–883.

Koella JC, Sorensen FL, Anderson RA (1998) The malaria parasite, Plasmodium falciparum, increases the frequency of multiple feeding of its mosquito vector, *Anopheles gambiae*. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B. Biol. Sci.* 265: 763–768.

Koga R, Tsuchida T, Fukatsu T (2003) Changing partners in an obligate symbiosis: a facultative endosymbiont can compensate for loss of the essential endosymbiont *Buchnera* in an aphid. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 270:2543–2550.

Koga R, Tsuchida T, Fukatsu T (2009) Quenching autofluorescence of insect tissues for in situ detection of endosymbionts. *Appl Entomol Zool* 44:281–291.

Kogel WJD., Visser JH, Toi RWHMV (2000) Repellent odours to protect crops from aphids. *Agro Food Industry Hi-Tech* 11 (6).pp.42-44. ref.7.

Kollmann M, Minoli S, Joël B, Uwe H, Schachtner J, Tagu D, Anton S (2011) Revisiting the anatomy of the central nervous system of a hemimetabolous model insect species: the pea aphid *Acyrthosiphon pisum*. *Cell and Tissue Research* 343(2): 343–355.

Koul O (2008) Phytochemicals and Insect Control: An Antifeedant Approach. *Critical Reviews in Plant Sciences* 27(1): 1-24.

Kumar LP, Selvarajan R, Iskra- Caruana M-L, Chabannes M, Hanna R(2015) Biology, etiology and control of virus diseases of banana and plantain. *Adv Virus Res* 91:229–269.

Kumar PL, Hanna R, Alabi OJ, Soko MM, Oben TT, Vangu GHP, Naidu RA (2011) *Banana bunchy top virus* in sub-Saharan African : Investigations on virus distribution and diversity. *Virus Research* 159 : 171-182.

Kummert J, Lepoivre P (2003) Les virus et viroïdes phytopathogènes. Dans Phytopathologie. Sous la direction de P. Lepoivre. De Boeck Université, Bruxelles, Belgique, p.41-78.

Kwa M (2003) Activation de bourgeons latents et utilisation de fragments de tige du bananier pour la propagation en masse de plants en conditions horticoles in vivo. *Fruits* 58:315–328. https://doi.org/10.1051/fruits:2003018.

Kwa M (2009) La culture et la multiplication des plants de bananier (*Musa* sp.), Connaissances et techniques de base. CARBAP, RD Congo. 13 p.

Lamy F, Dugravot S, Cortesero AM, Chaminade V, Faloya V, Poinsot D (2018) One more step toward a push-pull strategy combining both a trap crop and plant volatile organic compounds against the cabbage root fly *Delia radicum*. *Environ Sci Pollut Res Int*. 25 : 29868–29879.

Lamy FC, Poinsot D, Cortesero A-M, Dugravot S (2016) Artificially applied plant volatile organic compounds modify the behavior of a pest with no adverse effect on its natural enemies in the field. *Journal of Pest Science* 90(2): 611-621.

Lassoudière A (2007) Le bananier et sa culture. Ed. Quae, 383p, Versailles, France, 383p.

Lassoudière A (2012) Le bananier, un siècle d'innovations techniques. Ed Quae, 380p, Versailles, France.

Le Roux V, Dugravot S, Campan E, Dubois F, Vincent C, Giordanengo P (2008) Wild Solanum Resistance to Aphids: Antixenosis or Antibiosis? *Journal of Economic Entomology* 101(2): 584-591.

Leather SR (2014) What attracts aphids—Kennedy, Booth and Kershaw (1961): host finding by aphids in the field III. Visual attraction—a top 20 paper in the Annals of Applied Biology. *Ann Appl Biol* 165:1–2. https://doi.org/10.1111/aab.12140.

Lefèvre T, Koella JC, Renaud F, Hurd H, Biron DG, Thomas F (2006) New prospects for research on manipulation of insect vectors by pathogens. PLoS.

Lefèvre T, Thomas F, (2008) Behind the scene, something else is pulling the strings: Emphasizing parasitic manipulation in vector-borne diseases. *Infect. Genet. Evol.* 8 (4) : 504–519.

Legeay S, Clere N, Apaire-Marchais V, Faure S, Lapied B (2018) Unusual modes of action of the repellent DEET in insects highlight some human side effects. *Eur J Pharmacol* 825: 92-98.

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.

Lenth R, Singmann H, Love J, Buerkner P, Herve M (2018) Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. R package version, 1(1) 3.

Lepoivre P (2003) Phytopathologie. Ed. De Broek. 427p.

Lescot T (2004 Banane : Production, commerce et variétés. *Fruitrop* (Ed. Française) 118 : 5-9.

Lifake ML, Kazanbga GM, Hance T (2018) Évaluation de la diversité des Aphididae et leurs ennemis naturels enculture de bananier à proximité de plantes de bordure. *Rev. Mar. Sci. Agron*. 6 (4): 575-580.

Lípez MF, Cano-Ramírez C, Shibayama M, Zúñiga G (2011) α-pinene et myrcene induce ultrastructural changes in the midgut of *Dendroctonus valens* (*Coleoptera*: *Curculionidae*: *Scolytinae*). *Ann Entomol Soc Am* 104:553–561. https://doi.org/10.1603/AN10023.

Llandres AL, Almohamad R, Brevault T, Renou A, Tereta I, Jean J, Goebel FR (2018) Plant training for induced defense against

insect pests: a promising tool for integrated pest management in cotton. *Pest Manag Sci*.

Lockhart BEL (2002) Management of viral diseases of banana, Acorbat. In Memorias reunion 15, Colombia, pp.217-221.

Lockhart BEL, Jones DR (2000) Banana Streak. In D.R. Jones (éd.), Diseases of banana, abaca and enset. CAB International, Wallingford, UK, pp 263-274.

Lokossou B, Affokpon A, Adjanohoun A, Dan CBS, Mensah GA (2012) Evaluation des variables de croissance et de développement du bananier plantain en systèmes de culture associée au Sud Bénin, *Bulletin de la recherche agronomique du Bénin*. p.1–8.

Lorenzen J, Tenkouano A, Bandyopadhyay R, Vroh B, Coyne D, Tripathi L (2010) Overview of banana and plantain (*Musa* spp.) Improvement in Africa: past and future. *Acta Hortic* 879:595–603.

Loreto F, Ciccioli P, Cecinato A, Brancaleoni E, Frattoni MDT (1996) Influence of Environmental Factors and Air Composition on the Emission of [alpha]-Pinene from *Quercus ilex*. Leaves. *Plant Physiology* 110(1): 1317–1322.

Lung MCY, Pirone TP (1974) Acquisition Factor Required for Aphid Transmission of Purified Cauliflower Mosaic Virus. Virology, 60 : 260–264.

Lwoff A (1957) The Concept of Virus. *Journal of General Microbiology* 17: 239–253.

Macias W, Mink GI (1969) Preference of green peach aphids for virus-infected sugarbeet leaves. *J. Econ. Entomol.* 62:28–29.

Mackauer M, Michaud JP, Volkl W (1996) Host choice by *aphdiid parasitoids* (*Hymenoptera*: *Aphidiidae*): Host recognition, host quality, and host value. *The Canadian Entomologist* 128: 959–980.

Maffei ME (2010) Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. *South African Journal of Botany* 76(4): 612-631.

Magee CJ (1927) Investigation on the Bunchy Top Disease of the Banana. Council for Scientific and Industrial Research Bulletin, Melbourne. 86 pp.

Magnusson A, Skaug H, Nielsen A, Berg C, Kristensen, K, Maechler, M, Brooks, M (2017) glmmTMB: Generalized linear mixed models using template model builder. R package version 0.1. 3.

Malézieux E, Crozat Y, Dupraz C, Laurans M, Makowski D, Ozier-Lafontaine H, Rapidel B, Tourdonnet S, Valantin-Morison M (2009) Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 29(1): 43-62.

Mamoci E, Cavoski I, Andres MF, Díaz CE, Gonzalez-Coloma A (2012) Chemical characterization of the aphid antifeedant extracts from Dittrichia viscosa and Ferula communis. *Biochemical Systematics and Ecology* 43: 101-107.

Manzano-Marín A (2020) No evidence for Wolbachia as a nutritional co-obligate endosymbiont in the aphid *Pentalonia nigronervosa*. Microbiome 8 : 72. https://doi.org/10.1186/s40168-020-00865-2.

Marin M, Koko V, Duletić-Laušević S, Marin PD, Rančić D, Dajic-Stevanovic Z (2006) Glandular trichomes on the leaves of

Rosmarinus officinalis: Morphology, stereology and histochemistry. *South African Journal of Botany* 72(3): 378-382.

Mau RFL, Kessing JLM, Tenbrick VL, Hara AH (2000) *Pentalonia nigronervosa* (Coquerel). Crop Knoledge Master, 0202.2000, University of Hawaii, 3p.

Mauck KE, Bosque-Pérez NA, Eigenbrode SD, De Moraes C, Mescher MC (2012) Transmission mechanisms shape pathogen effects on host-vector interactions: evidence from plant viruses (ed C Fox). *Funct Ecol* 26:1162–1175. https://doi.org/10.1111/j.1365-2435. 2012.02026.x.

Mauck KE, Chesnais Q (2020) A synthesis of virus-vector associations reveals important defciencies in studies on host and vector manipulation by plant viruses. *Virus Res* 285:197957. https://doi. org/10.1016/j.virusres.2020.197957.

Mauck KE, Chesnais Q, Shapiro LR, Seven C (2018) Evolutionary determinants of host and vector manipulation by plant viruses. *Adv Virus Res* 101:189–250. https://doi.org/10.1016/bs.aivir. 2018.02.007.

Mauck KE, De Moraes CM, Mescher MC (2010a) Deceptive chemical signals induced by a plant virus attract insect vectors to inferior hosts. PNAS 107(8):3600–3605. https://doi.org/10.1073/pnas. 0907191107.

Mauck KE, De Moraes CM, Mescher MC (2014a) Biochemical and physiological mechanisms underlying effects of Cucumber mosaic virus on host-plant traits that mediate transmission by aphid vectors. *Plant, Cell & Environment*, 37 : 1427–1439.

Mauck KE, De Moraes CM, Mescher MC (2014b) Evidence of Local Adaptation in Plant Virus Effects on Host-Vector Interactions. *Integrative and Comparative Biology* 54 : 193–209.

Mauck KE, De Moraes CM, Mescher MC (2015) Infection of host plants by Cucumber mosaic virus increases the susceptibility of *Myzus persicae* aphids to the parasitoid *Aphidius colemani*. *Sci Rep* 5:10963.

Mauck KE, De Moraes CM, Mescher MC (2010b) Effects of *Cucumber mosaic virus* infection on vector and non-vector herbivores of squash. *Commun Integr Biol*, 3 : 579-582.

Mayer RT, Inbar M, McKenzie C, Shatters R, Borowicz V, Albrecht U, Powell CA, Doostdar H (2002) Multitrophic interactions of the silverleaf whitefly, host plants, competing herbivores, and phytopathogens. *Arch Insect Biochem Physiol*, 51 : 151-169.

Mbunzu BBN, Ngbengbu N, Ngongo MK (2019). Evaluation du potentiel de prolifération d'explants de différentes dimensions de bananier plantain (*Musa* sp. cv. AAB) par la macropropagation en conditions semi contrôlées. *Revue Africaine d'Environnement et d' Agriculture* 2(2): 25-31.

McElhany P, Real LA, Power AG (1995) Vector preference and disease dynamics: a study of Barley yellow dwarf virus. Ecology, 76 : 444-457.

Medina-Ortega KJ, Bosque-Pérez NA, Ngumbi E, Jiménez-Martínez ES, Eigenbrode SD (2009) *Rhopalosiphum padi* (*Hemiptera*: *Aphididae*) Responses to Volatile Cues From Barley Yellow

Dwarf Virus–Infected Wheat, *Environmental Entomology*, 38 (3) : 836–845, https://doi.org/10.1603/022.038.0337.

Mercier J-L, Errard C, Frérot B (201 3) L'identité chimique des insectes. In Sauvion, N., P-A. Calatayud, D. Thiéry and F. Marion-Poll (Eds). Interactions Insectes – Plantes.

Meutchieye F (2009) Fiche Technique de multiplication des bananiers par la méthode de PIF. SECAAR, Lomé, Togo. p. 15.

Mink GI (1993) Pollen-transmitted and seed-transmitted viruses and viroids. *Annual Review of Phytopathology*, 31: 375–402.

Miyazaki M (1987) « Morphology of aphids ». In Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control A, 2:1–25. Elsevier. A. K. Minks & P. Harrewijn.

Mobambo P, Staver C, Hauser S, Dheda B, Vangu G (2010) An Innovation Capacity Analysis to identify Strategies for improving plantain and banana (*Musa* spp.) productivity and value addition in the Democratic Republic of Congo. *Acta Hort* 879:821–828.

Montcel TH (1987) Plantain bananas. The tropical agriculturalist, CTA. 106p.

Montllor CB, Gildow FE (1986) Feeding responses of two grain aphids to barley yellow dwarf virus-infected oats. *Entomol Exp Appl*. 42 : 63–69.

Moore J, Gotelli NJ (1990) in Parasitism and Host Behaviour (eds Barnard C. J., & Behnke J. M.) 193–233 (Taylor & Francis Ltd., 1990). Poulin R (1995) “Adaptive” changes in the behaviour of parasitized animals: A critical review. *Int. J. Parasitol*. 25, 1371–1383.

Moran NA (1990) « Aphid life cycles: two evolutionary steps ». *The American Naturalist* 136 (1): 135–138.

Moran NA (1992) « the evolution of aphid life cycles ». *Annual Review of Entomology* 37: 321-348.

Moran NA, Munson MA, Baumann P, Ishikawa H (1993) « A Molecular Clock in Endosymbiotic Bacteria Is Calibrated Using the Insect Hosts ». *Proceedings of the Royal Society of London*. Series B: *Biological Sciences* 253 (1337): 167-171.

Moreno CR, Racelis AE (2015) Attraction, Repellence, and Predation: Role of Companion Plants in Regulating *Myzus persicae* (Sulzer) (*Hemiptera*: *Aphidae*) in Organic Kale Systems of South Texas. *Southwestern Entomologist* 40(1): 1-14.

Moreno-Delafuente A, Garzo E, Moreno A, Fereres A (2013) A Plant Virus Manipulates the Behavior of Its Whitefly Vector to Enhance Its Transmission Efficiency and Spread (ed M Ghanim). PLoS ONE, 8, e61543.

Muirhead IF, Jones DR (2000) Anthracnose. pp.199- 203. In Diseases of Banana, Abacá and Enset (D.R. Jones, ed.). CABI Publishing. Wallingford, UK.

Mukwa FTL (2020) Les virus du bananier et plantain (*Musa* spp.) en République démocratique du Congo : occurrence, identification de nouveaux virus et diversité génétique. Prom.: Bragard, Claude; Iskra-Caruana, Marie-Line ; Kalonji-Mbuyi Wa Mbombo, Adrien. http://hdl.handle.net/2078.1/178072.

Mukwa LFT , Gillis A, Vanhese V, Romay G, Galzi S, Laboureau N, Kalonji-Mbuyi A, Iskra-Caruana L, Bragard C (2016). Low genetic diversity of Banana bunchy top virus, with a sub-regional

pattern of variation, in Democratic Republic of Congo. *Virus Genes*. Springer US, 52(6): 900-905. https://doi.org/10.1007/s11262-016-1383-1.

Mukwa LFT, Muengula M, Zinga I, Kalonji A, Iskra-Caruana ML, Bragard C (2014) Occurrence and distribution of *Banana bunchy top virus* related Agro-Ecosystem in South Wewtern, Democratic Republic of Congo. *Am J Plant Sci* 5:647–658. http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2014.55079.

Murdie G (1969) Some causes of size variation in the pea aphid, *Acyrthosiphon pisum* Harris, *Ecol. Entomol*., 121: 423-442.

Mutyambai DM, Bruce TJ, van den Berg J, Midega CA, Pickett JA, Khan ZR (2016) An indirect defence trait mediated through igg-induced maize volatiles from neighbouring plants. *PLoS One* 11(7): e0158744.

Natale D, Mattiacci L, Hern A, Pasqualini E, Dorn S (2003) Response of female *Cydia molesta* (*Lepidoptera: Tortricidae*) to plant derived volatiles. *Bull Entomol Res* 93:335–342.

Nault (1997). Arthropod transmission of plant viruses: A new synthesis. *Ann. Entomol. Soc. Am*. 90, 521–541.

Nault L, Ammar E-D (1989) Leafhopper And Planthopper Transmission Of Plant Viruses. *Annual Review of Entomology*, 34, 503–529.

Nelson SC, Ploetz RC, Kepler AK (2006) Species Profile for pacific Island Agroforestry. Musa species (Banana and plantain). Traditional Trees of Pacific Islands: Their Culture, Environment, and Use edited by Craig R. Elevitch 72.

Nerio LS, Olivero-Verbel J, Stashenko E (2010) Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology* 96 101 (1): 372-378.

Ng JCK, Falk BW (2006) Virus-Vector Interactions Mediating Nonpersistent and Semipersistent Transmission of Plant Viruses. *Annual Review of Phytopathology* 44:1, 183-212.

Ngatat S, Hanna R, Kumar PL, Gray SM, Cilia M, Ghogomu RT, Fontem DA (2017) Relative susceptibility of *Musa* genotypes to banana bunchy top disease in Cameroon and implication for disease management. *Crop Prot.* 101 : 116–122.

Ngatat S, Hanna R, Lienou J, Ghogomu RT, Nguidang SPK, Enoh AC, Ndemba B, Korie S, Fotso Kuate A, Nanga Nanga S, Fiaboe KKM, Kumar PL (2022) *Musa* Germplasm A and B Genomic Composition Differentially Affects Their Susceptibility to Banana Bunchy Top Virus and Its Aphid Vector, *Pentalonia nigronervosa*. *Plants*. 2022; 11(9):1206. https://doi.org/10.3390/plants11091206.

Nordlund DA, Lewis WJ (1976) Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Jorn. Chem. Ecol*. 2 : 211-220.

Norris DM (1990) Repellents. In Handbook of Natural Pesticides, Vol. Insect Attractants and Repellents, 135-149 (Ed E. D. Morgan). Boca Raton: CRC Press.

Nottingham SF, Hardie J (1993). Flight behavior of the black bean aphid, Aphis fabae, and the cabbage aphid, Brevicoryne brassicae, in host and nonhost plant odor. *Physiological Entomology* 18, 389–394.

Nottingham SF, Hardy J, Dawson GW, Hick AJ, Pickett JA, Wadhams LJ, Bécasse CM (1991) Behavioral and electrophysiological responses of aphids to host and nonhost plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 17(6): 1231-1242.

Nyine M, Uwimana B, Swennen R, Batte M, Brown A, Christelová P, Hřibová E, Lorenzen J, Doležel J (2017) Trait variation and genetic diversity in a banana genomic selection training population. *PLoS One*, 12(6), e0178734.

Oliver KM, Degnan PH, Burke GR, Moran NA (2010) Facultative symbionts in aphids and the horizontal transfer of ecologically important traits. *Annu. Rev. Entomol*. 55, 247–266.

Pace ML, Cole JJ, Carpenter SR, Kitchell JF (1999) Trophic cascades revealed in diverse ecosystems. *Trends in Ecology and Evolution* 14: 483–488.

Padmanaban B, Sathiamoorthy S (2001) Le charançon du pseudotronc du bananier Odoiporus longicollis. Parasites et ravageurs de *Musa*. Fiche technique N° 5.

Pallas V, Garcı JA (2011) How do plant viruses induce disease ? Interactions and interference with host components. *Journal of General Virology* 92 : 2691–2705.

Panis B (2009) Cryoconservation de matériel génétique de bananier. Guide techniques, Biodiversity International, Montpellier, France. 48p.

Pant B, Bai T, Du C, Baidya S, Magar PB, Manandhar S, Shrestha J, Dita M, Rouard M, Fu G, Zheng S-J (2023) Molecular Diagnosis and Vegetative Compatibility Group Analysis of Fusarium Wilt

of Banana in Nepal. *Journal of Fungi* 9(2):208. https://doi.org/10.3390/jof9020208.

Park KC, Hardie J (1998) An improved aphid electroantennogram. Journal of Insect Physiology 44, 919–928.

Park KC, Hardie J (2002) Functional specialisation and polyphenism in aphid olfactory sensilla. *Journal of Insect Physiology* 48 : 527–535.

Parker JE, Snyder WE, Hamilton GC, Rodriguez-Saona C (2013) Companion Planting and Insect Pest Control.

Parolin P, Bresch C, Desneux N, Brun R, Bout A, Boll R, Poncet C (2012a) Secondary plants used in biological control: A review. *International Journal of Pest Management* 58(2): 91-100

Patel V, Chevignon G, Manzano-Marín A, Brandt JW, Strand MR, Russell JA, Oliver KM (2019) Cultivation-assisted genome of *Candidatus Fukatsuia symbiotica*; the enigmatic "X-type" symbiont of aphids. *Genome Biology and Evolution* 11(12): 3510-3522.

Peccoud J, Simon J-C, von Dohlen C, Coeur d'acier A, Plantegen-est M, Vanlerberghe-Masutti F, Jousselin E (2010) Evolution- ary history of aphid-plant associations and their role in aphid diversification. *C R Biol* 333:474–487. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.03.004.

Penrose L, Thwaite WG, Bower CC (1994) Rating index as a basis for decision making on pesticide use reduction and for accreditation of fruit produced under integrated pest-management. *Crop Prot* 13(2):146–152.

Penuelas J, Staudt M (2010) BVOC and global change. *Trends Plant Sc*i 15(3): 133-144.

Peterson C, Coats J (2001) Insect repellents-past, present and future. *Pesticide Outlook* 12(4): 154-158.

Pettersson J, Tjallingii WF, Hardie J (2007) Host-plant Selection and Feeding In Aphids-As-Crop-Pests, 87-113 (Ed H. H. VanEmden, R). CABI publishing-c a b int, cabi publishing, wallingford 0x10 8de, oxon, england.

Pherobase. Pherobase. http://www.pherobase.com/. Accessed 6 Janvier 2021.

Pichersky E, Gershenzon, a. J (2002). The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology* 5 (3):237-243.

Picimbon J-F (2002) Les péri-récepteurs chimiosensoriels des insectes. *médecine/sciences* 18(11): 1089-1094.

Pickett JA, Allemann RK, Birkett MA (2013) The semiochemistry of aphids. *Nat Prod Rep* 30:1277–1283.

Pickett JA, Bruce TJA, Glinwood RT (2017) Chemical Ecology. In Aphids as crop pests, Vol. 2, 177 (Ed H. F. v. Emden, Harrington, R.). Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI.

Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (1992) The chemical ecology of aphids. *Annual Review of Entomology* 37: 67-90.

Pickett JA, Woodcock CM, Midega CAO, Khan ZR (2014) Push–pull farming systems. Current Opinion in Biotechnology 26: 125-132

Piesik D, Pańka D, Jeske M, Wenda-Piesik A, Delaney KJ, Weaver DK (2013) Volatile induction of infected and neighbouring

uninfected plants potentially influence attraction/repellence of a cereal herbivore. *J Appl Entomol* 137:296–309.

Pinheiro PV, Kliot A, Ghanim M, Cilia M (2015) Is there a role for symbiotic bacteria in plant virus transmission by insects?. *Current Opinion in Insect Science*, 8 : 69-78.

Pinili MS, Nagashima I, Dizon TO, Natsuaki KT (2013) Cross-Transmission and New Alternate Hosts of *Banana bunchy top virus*. *Trop. Agr. Develop*. 57（1）: 1-7.

Ploetz RC (2015) Management of Fusarium wilt of banana: a review with special reference to tropical race 4. Crop Prot 73:7–15. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.01.007.

Ploetz RC, Pegg KG (2000) Fusarium wilt. Pp. 143-159 in Diseases of Banana, Abacá and Enset (D.R. Jones, ed.). CABI Publishing. Wallingford, UK.

Ploetz RC, Thomas JE, Slabaugh WR (2003a) Diseases of Banana and Plantain. In Diseases of Tropical Fruit Crops. Edited by Randy C. PLOEZT, CAB International, Wallingford, UK, pp 73-134.

Polis GA, Sears ALW, Huxel GR, Strong DR, Maron J (2000) When is a trophic cascade a trophic cascade? *Trends in Ecology & Evolution* 15: 473–475.

Poulin R (1994) The evolution of parasite manipulation of host behaviour: A theoretical analysis. *Parasitology* 109(S1), S109-S118. doi:10.1017/S0031182000085127.

Powell G, Maniar PS, Pickett JA, Hardie J (1999) Aphid responses to non-host epicuticular lipids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 115–123.

Powell G, Tosh CR, Hardie J (2006) « Host plant selection by aphids: Behavioral, Evolutionary, and Applied Perspectives ». *Annual Review of Entomology* 51 (1): 309- 330.

Pritchard J, Vickers LH (2017) Aphids and Stress. In Aphids as crop pests, Vol. 2, 132 (Ed H. F. v. Emden, Harrington, R.). Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI.

Prota N, Bouwmeester HJ, Jongsma MA (2014) Comparative antifeedant activities of polygodial and pyrethrins against whiteflies (*Bemisia tabaci*) and aphids (*Myzus persicae*). *Pest Manag Sci* 70(4): 682-688.

Qazi J (2016) Banana bunchy top virus and the bunchy top disease. *J. Gen. Plant Pathol*. 82 : 2–11.

Quiroz APJ, Pickett JA, Wadhams LJ, Niemeyer HM (1997) Semiochemicals mediating spacing behavior of bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* feeding on cereals. *Journal of Chemical Ecology* 23: 2599–2607.

R Core T (2022) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Rabatel A, Febvay G, Gaget K, Duport G, Baa-Puyoulet P, Sapountzis P, Bendridi N, Rey M, Rahbé Y, Charles H, Calevro F, Colella S (2013) Tyrosine pathway regulation is host-mediated in the pea aphid symbiosis during late embryonic and early larval development. *BMC Genomics* 14(1): 235.

Raccah B, Fereres A (2009) Plant virus transmission by insects. In: Encyclopedia of life sciences (ELS). Wiley, Chichester.

Rajabaskar D, Bosque-Pérez NA, Eigenbrode SD (2014) Preference by a virus vector for infected plants is reversed after virus acquisition. *Virus Research* 186: 32-37. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.11.005.

Rajan P (1981) Biology of *Pentalonia nigronervosa* f. caladii van der Goot, vector of Okatteo disease of cardamom. *Journal of plantation crops* 9 : 34-41.

Rana GK, Singh Y, Mishra SP, Rahangdale HK (2018) Potential use of banana and its by-products: A review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 7(6): 1827-1832.

Raquin V, Valiente Moro C, Saucereau Y, Tran F-H, Potier P, Mavingui P (2015) Native Wolbachia from Aedes albopictus Blocks Chikungunya Virus Infection In Cellulo. PLoS ONE 10:e0125066.

Reisenman CE, Lei H, Guerenstein PG (2016) Neuroethology of Olfactory-Guided Behavior and Its Potential Application in the Control of Harmful Insects. *Front Physiol* 7: 271.

Ren Gw, Wang Xf, Chen D, Wang Xw, Fan Xj, Liu Cd (2015) *Potato virus* Y-infected tobacco affects the growth, reproduction, and feeding behavior of a vector aphid, My. persicae (*Hemiptera*: *Aphididae*). *Appl Entomol Zool* 50, 239–243. https://doi.org/10.1007/s13355-015-0328-9.

Robson JD, Wright MG, Almeida RPP (2006) Within-Plant Distribution and Binomial Sampling of *Pentalonia nigronervosa* (*Hemiptera*: *Aphididae*) on Banana, *Journal of Economic Entomology*, 99 (6) : 2185–2190. https://doi.org/10.1093/jee/99.6.2185.

Robson JD, Wright MG, Almeida RPP (2007) Biology of Pentalonia nigronervosa (*Hemiptera, Aphididae*) on banana using different rearing methods. *Environmental Entomology* 36 (1): 46-52.

Ronald FL, Martin Kessing JL, Tenbrink VL, Hara AH (2012) *Pentalonia nigronervosa* (Coquerel). Extension entomology α university of Hawai – CTAHR Integrated Pest management Programm. http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/pentalon.htm.

Roosien BK, Gomulkiewicz R, Ingwell LL, Bosque-Pérez NA, Rajabaskar D, Eigenbrode SD (2013) Conditional vector preference aids the spread of plant pathogens: results from a model. *Environ Entomol*, 42: 1299-1308.

Rosenblatt AE, Schmitz OJ (2016) Climate Change, Nutrition, and Bottom-Up and Top-Down Food Web Processes. *Trends Ecol Evol* 31(12): 965-975.

Ruther J, Kleier S (2005) Plant-plant signaling: ethylene synergizes volatile emission in: *Zea mays* induced by exposure to (Z)- 3-hexen-1-ol. *J Chem Ecol* 31:2217–2222. https://doi.org/10. 1007/s10886-005-6413-8.

Ryckewaert P (1995) Programme cultures horticoles : opération lutte intégrée en cultures maraîchères. Rapport synthétique 1994. Conclusions générales et perspectives sur la lutte intégrée. Le Lamentin : CIRAD-FLHOR, 10 p.

Sadom L, Tomekpé K, Folliot M, Côte F-X (2010) Comparaison de l'efficacité de deux méthodes de multiplication rapide de plants de bananier à partir de l'étude des caractéristiques agronomiques

d'un hybride de bananier plantain (*Musa* spp.). *Fruits*, 65: 3–9 DOI: 10.1051/fruits/2009036.

Safari Murhububa IS, Tougeron K, Bragard C, Fauconnier M-L, Basengere EB, Masamba JW, Hance T (2021) Banana Tree Infected with *Banana Bunchy Top Virus* Attracts *Pentalonia nigronervosa* Aphids Through Increased Volatile Organic Compounds Emission. *J Chem Ecol* 47(8), 755-767. https://doi.org/10.1007/s10886-021-01298-3.

Sarah J-L, Pinochet J, Stanton J (1996) Résistance à la fusariose, aux maladies foliaires causées par les *Mycosphaerella* spp. et aux nématodes, Guide technique INIBAP N°7, 57p.

Sauge M-H, Grechi I, Poëssel J.-L (2010) Nitrogen fertilization effects on *Myzus persicae* aphid dynamics on peach: vegetative growth allocation or chemical defence? *Entomologia Experimentalis et Applicata* 136(2): 123-133.

Sauge M-H, Kervella J, Pascal T (1998) Settling behaviour and reproductive potential of the green peach aphid Myzus persicae on peach varieties and a related wild Prunus. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 89(1): 233–242.

Savory FR, Ramakrishnan U (2015). Cryptic diversity and habitat partitioning in an economically important aphid species complex. *Infect Genet Evol* 30:230–237.

Schmuker M, de Bruyne M, Hahnel M, Schneider G (2007) Predicting olfactory receptor neuron responses from odorant structure. *Chemistry Central Journal* 1: 11. https://doi.org/10.1186/1752-153X-1-11.

Schoelz JE, Stewart LR (2018) The role of viruses in the phytobiome. *Annual Review of Virology*, 5, 93-111.

Schoofs H (1997) The origin of embryogenic cell in *Musa*. Doctoraat proefschrift, Nr 330 an de Faculteit Landbawkundige in toegepaste biologische wetenschoppen van de K.U. Leuven.

Schwarzkopf A, Rosenberger D, Niebergall M, Gershenzon J, Kunert G (2013) To feed or not to feed: plant factors located in the epidermis, mesophyll, and sieve éléments influence pea aphid's ability to feed on legume species. *PLoS One* 8(9): e75298.

Shapiro L, De Moraes CM, Stephenson AG, Mescher MC (2012) Pathogen effects on vegetative and floral odours mediate vector attraction and host exposure in a complex pathosystem. *Ecol Lett* 15:1430–1438.

Sharman M, Thomas JE, Skabo S, Holton TA (2008) Abacá bunchy top virus, a new member of the genus Babuvirus (family *Nanoviridae*). *Arch Virol* 153:135–147.

Shi X, Zhang Z, Zhang C, Zhou X, Zhang D, Liu Y (2021) The molecular mechanism of efficient transmission of plant viruses in variable virus–vector–plant interactions. *Horticultural Plant Journal* 7(6):501-508. https://doi.org/10.1016/j.hpj.2021.04.006.

Shigenobu S, Hattori HWM, Sakaki Y, Ishikawa H (2000) Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids B. aphidicola sp. *APS. Nature* 407, 81–86.

Shimwela MS, Mahuku G, Mbanzibwa DR, Mkamilo G, Mark D, Mosha HI, Pallangyyo B, Fihavango M, Oresanya A, Ogunsanya P, Kumar PL (2022) First Report of *Banana Bunchy Top Viru*s in

Banana and Plantain (*Musa* spp.) in Tanzania. Plant Disease 106 (4).

Shiojiri K, Kishimoto K, Ozawa R (2006) Changing green leaf volatile biosynthesis in plants: An approach for improving plant resistance against both herbivores and pathogens. *PNAS* 103 (45): 16672-16676. https://doi.org/10.1073/pnas.0607780103.

Shiragi H, Baque A, Nasiruddin K (2010) Eradication of *Banana bunchy top virus* (BBTV) through meristem culture of infected plant banana cv. Sabri. *Horticult Environ Biotechnol* 51:212–221.

Shrivastava G, Rogers M, Wszelaki A, Panthee DR, Chen F (2010) Plant Volatiles Based Insect Pest Management in Organic Farming. *Critical Reviews in Plant Sciences* 29(2): 123-133.

Sicard A, Zeddamb J-L, Yvona M, Michalakisc Y, Gutiérreza S, Blanca S (2015) Circulative Nonpropagative Aphid Transmission of Nanoviruses: an Oversimplified View. *Journal of Virology* 89(19) : 9719-9726. https://doi.org/10.1128/JVI.00780-15.

Simmonds NW (1962) The evolution of the bananas. Tropical Science Series. Longmans, London (GBR). 170p.

Sisterson MS (2008) Effects of insect-vector preference for healthy or infected plants on pathogen spread: insights from a model. *J Econ Entomol* 101:1–8.

Smart LE, Aradottir GI, Bruce TJA (2014) Role of Semiochemicals in Integrated Pest Management, Academic Press, p93-109. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398529-3.00007-5.

Smith PJ (1963) A bio-ecological study of the aphids, *Rhopalosiphum maidis*, *Longiunguis sacchari* and *Schizaphis graminum* on grain

sorghum. Unpublished report. T-Pr. 158. Department of Agricultural Technical Services, Pretoria.

Smith RH (1965) Effect of monoterpene vapors on the western pine beetle. *J Econ Entomo* 58:509–510.

SNSA (1995) Rapports annuels des statistiques agricoles 1994 en République Démocratique du Congo. Service National des Statistiques Agricoles. Ministère de l'Agriculture, Kinshasa.

Srinivasan R, Alvarez JM, Eigenbrode SD, Bosque-Perez NA (2006) Influence of hairy nightshade *Solanum sarrachoides* (Sendtner) and *Potato leafroll virus* (*Luteoviridae*: Polerovirus) on the host preference of *Myzus persicae* (Sulzer) (*Homoptera*: *Aphididae*). *Environ. Entomol.* 35:546–53. https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.2.546.

Stafford CA, Walker GP, Ullman DE (2011) Infection with a plant virus modifies vector feeding behavior. *PNAS* 108 (23): 9350-9355. doi: 10.1073/pnas.1100773108.

Stainton D, Martin DP, Muhire BM, Lolohea S, Halafihi M, Lepoint P, Blomme G, Crew KS, Sharman M, Kraberger S, Dayaram A, Walters M, Collings DA, Mabvakure B, Lemey P, Harkins GW, Thomas JE, Varsani A (2015) The global distribution of *Banana bunchy top virus* reveals little evidence for frequent recent, human-mediated long distance dispersal events. *Virus Evol* 1(1):vev009. https://doi.org/10.1093/ve/vev009.

Stam JM, Kroes A, Li Y, Gols, R, van Loon JJ, Poelman EH, Dicke M (2014) Plant interactions with multiple insect herbivores : from community to genes. *Annu Rev Plant Biol* 65: 689-713.

Stenberg JA, Heil M, Åhman I, Björkman C (2015) Optimizing crops for biocontrol of pests and disease. *Trends Plant Sci* 20:698–712.

Storer JR, Powell G, Hardie J (1996) Settling responses of aphids in air permeated with non-host plant volatiles. *Entomol. Exp. Appl.* 80 : 76-8.

Stover RH (1962) Fusariose (maladie de Panama) des bananiers et autres espèces de Musa. 1962 pp.vi.

Su HJ, Wu RY, Tsao LY (1992) Ecology of banana bunchy top virus desease. In: Proceedings of the international symptosium on recent development in banana cultivation technology. INIBAP-ASPNET, Los Bonos, Philippines, p 308–312.

Swain T (1977) Secondary compounds as protective agents. *Plant Physiology* 28: 479-501.

Swain T (1977) Secondary compounds as protective agents. Plant Physiology 28: 479-501.

Swennen R, Vuylsteke D (2001) Bananier. In Raekemaekers R.H., eds., Agriculture en Afrique tropicale, DGCI, Bruxelles, Belgique. p.611-637.

Syed Z, Leal WS (2009) Acute olfactory response of Culex mosquitoes to a human- and bird-derived attractant. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(44):18803–18808.

Sylvester ES (1956) Beet yellows virus transmission by the green peach aphid. *Journal of Economic Entomology*, 49, 789–800.

Sylvester ES (1980) Circulative and propagative virus transmission by aphids. *Annu Rev Entomol.* 25 : 257–286.

Tariq M, Wright DJ, Rossiter JT, Staley JT (2012). Aphids in a changing world : testing the plant stress, plant vigour and pulsed

stress hypotheses. *Agricultural and Forest Entomology* 14(2): 177-185.

Thangavelu R, Mustaffa MM (2010) First report on the occurrence of a virulent strain of Fusarium wilt pathogen (Race-1) infecting Cavendish (AAA) group of bananas in India. *Plant Dis* 94 : 1379

Tholl D, Lee S (2011) Terpene Specialized Metabolism in Arabidopsis thaliana. *Arabidopsis Book* 9: e0143.

Thomas F, Adamo S, Moore J (2005) Parasitic manipulation: where are we and where should we go? *Behav Proc* 68(3):185–199.

Thomas J E, Dietzgen RG (1991) Purification, charactérization and sérological detection of virus-like particles associated with banana bunchy top desease in Australia. *Journal of Géneral virology* 72 : 217-224.

Thomas JE, Iskra Caruana M-L (1999) Bunchy top. In D.R. Jones (ed) : Deseases of, abaca and enset. London, CABI, pp 241-253.

Thomas JE, Iskra-Caruana ML (2000) Bunchy top. In Diseases of Banana, Abaca and Ensete, Edited by D.R. Jones. CAB International, Wallingford, UK: 241-253.

Thomas JE, Iskra-Caruana ML, Jones DR (1994) Maladies des Musa – Le bunchy top du Bananier. Fiche technique N° 4. INIBA, Montpellier, France, 2p.

Tilman D, Cassman KG, Matson PA, Naylor R, Polasky S (2002) Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418(6898), 671-677.

Timchenko T, Bernadi F (2007) Nanoviruses, small plant viruses: similarities and differences with geminiviruses. *Virology* 11:27–42.

Toby JAB, Wadhams LJ, Woodcock CM (2005) Insect host location a volatile situation. *Trends Plant Sci* 10:269–274.

Tollens E (2004) Les défis : Sécurité alimentaire et cultures de rente pour l'exportation – Principales orientations et avantages comparatifs de l'agriculture en R.D. Congo. Working Paper, n° 86, Département d'Economie Agricole et de l'Environnement, Katholieke Universiteit Leuven.

Tomova BS, Waterhouse JS, Doberski J (2005) The effect of fractionated Tagetes oil volatiles on aphid reproduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 115: 153–159.

Tricahyati T, Suparman, Irsan C (2022) Natural enemies of *Pentalonia nigronervosa*, vector of *Banana Bunchy Top Virus*. *Biodiversitas* 3(7): 3675-3684.

Tripathi L, Mwangi M, Abele S, Aritua V, Tushemereirwe WK, Bandyopadhyay R (2009) Xanthomonas Wilt, A Threat to Banana Production in East and Central Africa. *Plant Disease* 93 (5) : 440-451.

Tsuchida T, Koga R, Shibao H, Matsumoto T, Fukatsu T (2002) Diversity and geographic distribution of secondary endosymbiotic bacteria in natural populations of the pea aphid, Acyrthosiphon pisum. Mol. Ecol. 11: 2123–2135.

Tu Z, Ling B, Xu D, Zhang M, Zhou G (2013) Effects of southern rice black-streaked dwarf virus on the development and fecundity of its vector, *Sogatella furcifera*. *Virology Journal* : 10, 145.

Tungadi T, Groen SC, Murphy AM, Pate AE, Iqbal J, Toby J, Bruce A, Cunniffe NJ, Carr JP (2017) *Cucumber mosaic virus* and its 2b protein alter emission of host volatile organic compounds but not

aphid vector settling in tobacco. *Virol* J 14 (91). https://doi.org/10.1186/s12985-017-0754-0.

Ueda H, Kikuta Y, Matsuda K (2012) Plant communication: mediated by individual or blended VOC? *Plant signaling & behavior* 7(2): 222-226.

Unsicker SB, Kunert G, Gershenzon J (2009) Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores. *Current Opinion in Plant Biology* 12:479–485. doi 10.1016/j.pbi.2009.04.001.

van den Heuvel J.F.J.M., Verbeek M, Vanderwilk F (1994) Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of Potato leafroll virus by *Myzus persicae*. Journal of General Virology, 75 (1994), pp. 2559-2565

van Emden HF (1973) Aphid host plant relationships, some recent studies. ln: A. D. Lowe: Perspectives in aphid biology. *Bull Entomol Soc N Z* 2:54–64.

van Giessen WA, Fescemyer HW, Burrows PM, Peterson JK, Barnett OW (1994) Quantification of electroantennogram responses of the primary rhinaria of *Acyrthosiphon pisum* (Harris) to C4–C8 primary alcohols and aldehydes. *Journal of Chemical Ecology* 20: 909–927.

van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Carstens EB, Estes MK, Lemon SM, Maniloff J, Mayo MA, McGeoch DJ, Pringle CR and Wickner RB (2000) Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. In: Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney and Tokyo, Academic Press.

Vandenput R (1981) Les principales cultures en Afrique centrale. Les presses de l'imprimerie Lesaffre, Tournai, Belgique.

Verheggen FJ, Haubruge E, De Moraes CM, Mescher MC (2009) Social enviroment infuences aphid production of alarm pheromone. *Behav Ecol* 20:283–288.

Vilca Mallqui KS, Vieira JL, Guedes RNC, Gontijo LM (2014) Azadirachtin-Induced Hormesis Mediating Shift in Fecundity-Longevity Trade-Off in the Mexican Bean Weevil (*Chrysomelidae*: *Bruchinae*). *Journal of Economic Entomology*, Volume 107 (2): 860-866. https://doi.org/10.1603/EC13526.

Visser JH, Piron PGM (1995) Olfactory antennal responses to plant volatiles in apterous virginoparae of the vetch aphid *Megoura viciae Entomologia Experimentalis et Applicata* 77(1): 37-46.

Visser JH, Piron PGM (1998) Odour response profiles in aphids differentiating for species, clone, form and food. Proceedings of Experimental and Applied Entomology, Netherlands Entomological Society Amsterdam 8: 115–130.

Visser JH, Piron PGM, Hardie J (1996) The aphids' peripheral perception of plant volatiles. In: Städler E, Rowell-Rahier M, Bauer R (eds) Proceedings of the 9th international symposium on insect-plant relationships. Series entomologica, 53, Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1720-0_8.

Voegtlin D, Villalobos W, Sánchez MV, Saborío G, Rivera C (2003) A guide to the winged aphids of Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 51 – Supplement 2. 228p.

Voelkl W, Stechmann DH, Stary P (1990) Suitability of five species of Aphidiidae (*Hymenoptera*) for the biological control of the

banana aphid *Pentalonia nigronervosa* Coq. (*Homoptera*, *Aphididae*) in the South Pacific. *Tropical Pest Management*, 36: 249-257.

Völk W, Stechmann DH, Stary P (1990) Stability of five species of aphididae (*homoptera*) for the banana aphid P*entalonia nigronervosa* Coquerel (*Homoptera*, *Aphididae*) in the South Pacific. *Tropical Pest Management* 36 (3) :249-257.

Vyas A, Kim SK, Giacomini N, Boothroyd JC, Sapolsky RM (2007) Behavioral changes induced by Toxoplasma infection of rodents are highly specific to aversion of cat odors. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 104 : 6442–6447.

Walangululu MJ, Matara MR, Bahati L, Niyongere C, Lepoint P, Blomme G (2010) Assessing the spread and seasonal influence of fruit peel disease and banana bunchy top disease in South Kivu, Eastern DR-Congo. Tree Fort Sci Biotechnol 4(46):52.

Wang RY, Ghabrial SA (2002) Effect of aphid behavior on efficiency of transmission of Soybean mosaic virus by the soybean-colonizing aphid, Aphis glycines. *Plant Dis*. 86:1260- 1264.

Wardlaw CW (1961) Banana diseases including plantains and abaca. Longmans, London, UK.

Watanabe S, Borthakur D, Bressan A (2013) Lack of evidence for an interaction between *Buchnera* GroEL and *Banana bunchy top virus* (*Nanoviridae*), Virus Research 177 (1): 98-102. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.06.002.

Watanabe S, Borthakur D, Bressan A (2016) Localization of *Banana bunchy top virus* and cellular compartments in gut and salivary

gland tissues of the aphid vector *Pentalonia nigronervosa*. *Insect Science* 23: 591–602. DOI 10.1111/1744-7917.12211.

Watanabe S, Bressan A (2013) Tropism, compartmentalization and retention of *banana bunchy top virus* (*Nanoviridae*) in the aphid vector *Pentalonia nigronervosa*. *Journal of General Virology* 94: 209–219.

Watanabe S, Greenwell AM, Bressan A (2013) Localization, concentration and transmission efficiency of banana bunchy top virus in four asexual lineages of *Pentalonia* aphids. *Viruses* 5 : 558-575.

Watson MA, Roberts FM (1939) A comparative study of the transmission of hyocyamus virus 3, potato virus Y and cucumber virus by the vector *Myzus persicae* (Sulz), *M. circumflexus* (Buckton) and *Macrosiphum gei* (Koch). *Proceedings of the Royal Society B* 127 : 543–576.

Webster B (2012) The role of olfaction in aphid host location. *Physiological Entomology* 37(1) : 10-18.

Werner BJ, Mowry TM, Bosque-Pe´rez NA, Ding H, Eigenbrode SD (2009) Changes in green peach aphid responses to potato leafroll virus–induced volatiles emitted during disease progression. *Environ. Entomol.* 38:1429–38.

Werren JH, Baldo L, Clark ME (2008) Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology. *Nat Rev Microbiol* 6:741–751.

Whitham SA, Wang Y (2004) Roles for host factors in plant viral pathogenicity. Current Opinion in Plant *Biology* 7: (4)365-371. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.04.006.

Whittaker RH, Feeny PP (1971) Allelochemics: chemical interactions between species. Science 17:757–770. https://doi.org/10.1126/science.171.3973.757.

Wijkamp I, Goldbach R, Peters D (1996) Propagation of tomato spotted wilt virus in *Frankliniella occidentalis* does neither result in pathological effects nor in transovarial passage of the virus. *Arthropod-transmitted Phytoviruses* 81(3): 285-292.

Wilkinson TL, Fukatsu T, Ishikawa H (2003) Transmission of symbiotic bacteria *B. aphidicola* to parthenogenetic embryos in the aphid *Acyrthosiphon pisum* (*Hemiptera*: *Aphidoidea*). *Arthropod Structure & Development* 32 (2–3) : 241-245.

Williams IS, Dixon AFG (2007) Life cycles and polymorphism. In: van Emden HF, Harrington R (eds) Aphid as crop pests. CABI, Wallington, pp 69–85.

Witzgall P, Stelinski L, Gut L, Thomson D (2008) Codling moth management and chemical ecology. *Annu Rev Entomol* 53: 503-522.

Wohlers P, Tjallingii WF (1983) Electroantennogram responses of aphids to the alarm pheromone (E)-farnesene. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 33: 79–82.

Wosula EN, Davis JA, Clark CA (2013) Population dynamics of three aphid species (*Hemiptera*: *Aphididae*) on four Ipomoea spp. infected or noninfected with sweetpotato potyviruses. *J Econ Entomol* 106:1566–1573.

Wu RY, Su HJ (1990) Production of monoclonal antibodies against banana bunchy top virus and their use in enzyme-linked

immunosorbent assay. *Journal of phytophatology*, 128(3): 203-208.

Wu Y, Davis TS, Eigenbrode SD (2014) Aphid behavioral responses to virus-infected plants are similar despite divergent fitness effects. *Entomol. Exp. Appl.* 153:246–55.

Wuyts N, Lognay G, Sági1 L, De Waele Dl, Swennen R (2005) Secondary metabolites in roots and implications for nematode resistance in banana (*Mus*a spp.). pp.238–246. *In* Turner, D.W. and F.E. Rosales. 2003. Banana Root System : towards a better understanding for its productive management. Proceedings of an international symposium held in San José, Costa Rica, 3-5 November 2003. *International Plant Genetic Resources Institute*. pp.3–5.

Xu H, Zhou G, Dötterl S, Schäfer I, Degen T, Chen L, Turlings TCJ (2020) Distinct roles of cuticular aldehydes as pheromonal cues in two Cotesia parasitoids. *J Chem Ecol* 46:128–137.

Xu Q, Hatt S, Lopes T, Zhang Y, Bodson B, Chen J, Francis F (2018) A push-pull strategy to control aphids combines intercropping with semiochemical releases. *J Pest Sci* 91:93–103. https://doi. org/10.1007/s10340-017-0888-2.

Xue K, Deng S, Wang R, Yan F, Xu C (2008) Leaf surface factors of transgenic Bt cottonassociated with the feeding behaviors of cotton aphids: a case study on non-target effects. *Sci China C Life Sci* 51(2): 145-156.

Yarou BB, Bawin T, Boullis A, Heukin S, Lognay G, Verheggen FJ, Francis F (2017) Oviposition deterrent activity of basil plants and

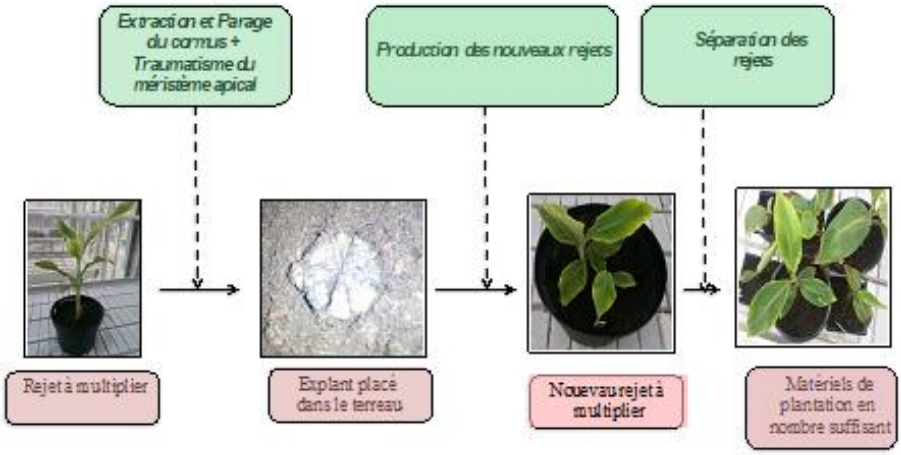
their essentials oils against *Tuta absoluta* (*Lepidoptera*: *Gelechiidae*). *Environ Sci Pollut Res* 25 : 29880–29888.

Yongjun D, Fushun Y, Jue T (1995) Structure and function of olfactory sensilla on the antennae of soybean aphids, *Aphis glycines*. *Acta Entomol Sin* 38:1–7.

Zhang Y, Wu K, Wyckhuys KAC, Heimpel GE (2009) Trade-Offs Between Flight and Fecundity in the Soybean Aphid (*Hemiptera*: *Aphididae*). *Journal of Economic Entomology*, Volume 102 (1) : 133–138, https://doi.org/10.1603/029.102.0119.

Zhi-Chuang Lü, Yan-Min Wang, Shao-Guang Zhu, Hao Yu, Jian-Ying Guo, Fang-Hao Wan (2014) Trade-offs between survival, longevity, and reproduction, and variation of survival tolerance in Mediterranean *Bemisia tabaci* after temperature stress. *Journal of Insect Science* 14 (1) p124. https://doi.org/10.1093/jis/14.1.124.

ANNEXE



Annexe 1. Schéma du processus de multiplication des bananiers par la technique PIF. Schéma du processus de multiplication des bananiers par la technique PIF. Cette méthodologie était utilisée tout au long de cette thèse, chaque fois après l'obtention des rejets en provenance de la RD Congo.