
Analyse de la composition du miellat de pucerons et influence sur le comportement intragilde des prédateurs

Auteur : Glacet, Lallie

Promoteur(s) : Francis, Frédéric; Noël, Grégoire

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : sciences agronomiques, à finalité spécialisée

Année académique : 2020-2021

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/11812>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

ANALYSE DE LA COMPOSITION DU MIELLAT DE PUCERONS ET INFLUENCE SUR LE COMPORTEMENT INTRAGUILDE DES PRÉDATEURS

LALLIE GLACET

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2020-2021

CO-PROMOTEURS : F. FRANCIS, G. NOËL

Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique¹ de Gembloux Agro-Bio Tech.

Le présent document n'engage que son auteur.

¹ Dans ce cas, l'autorité académique est représentée par le(s) promoteur(s) membre du personnel(s) enseignant de GxABT

**ANALYSE DE LA COMPOSITION DU
MIELLAT DE PUCERONS ET INFLUENCE SUR
LE COMPORTEMENT INTRAGUILDE DES
PRÉDATEURS**

LALLIE GLACET

**TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDES PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE
MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2020-2021

CO-PROMOTEURS : F. FRANCIS, G. NOËL

Remerciements

En écrivant ces lignes, je marque l'aboutissement d'un travail personnel et surtout d'un parcours académique qui n'aurait pu être possible sans toutes ces personnes formidables que je tiens à remercier ici.

Tout d'abord, pour avoir rendu ce travail de fin d'étude possible, je voudrais commencer par remercier Pr. Frédéric Francis, mon promoteur, qui s'est démené pour me trouver un sujet à la hauteur de mes attentes lorsque mon séjour au Canada s'est vu être annulé. Je tenais également à le remercier lui ainsi que mon co-promoteur Grégoire Noël pour l'accueil au sein de l'unité d'entomologie fonctionnelle et évolutive et surtout pour leur suivi efficace. De plus, un remerciement plus particulier pour Grégoire dont les conseils, remarques, anecdotes en tout genre ont été plus qu'enrichissantes. Merci pour ton temps, merci pour ta patience et surtout merci pour l'intérêt infailible que tu as montré pour mon travail alors que tu devais être sur tous les fronts en même temps. Je tiens également à adresser mes remerciements à toutes les personnes de l'unité qui fournissent un travail incroyable et qui m'ont aidé à un moment ou un autre. Merci à Jeanine et Sandra pour votre aide en toute situation, à Nico et Emilie pour votre temps, vos conseils et vos connaissances, à Fred pour ta bonne humeur et ton soutien, à Didier pour ton talent d'inventeur.

Merci à Clément Martin pour nous avoir accompagné et conseillé lors des manipulations SPME/GCMS. Merci à Monsieur Brostaux pour son aide en statistiques et sa disponibilité sans faille.

Merci aussi à tous mes collègues et camarades de laboratoire, même si nos routes ce sont croisées brièvement, vous avez su tous m'apporter quelque chose. Merci à Raph pour ces longues discussions sur le système, merci à Jacquot, Laura, Patient, Bastien, Adrien, Alice, Julie et Minette pour les cafés, les discussions et les courses poursuites avec les abeilles.

Merci à toutes les personnes incroyables qui font de la famille gembloutoise un cocktail hétéroclite étonnant et inoubliable : Jérémie, mon acolyte du tout début et qui ne m'a jamais quitté, Marie, ma camarade, mon double maléfique, Yasmine et Adrien, mes amis de la Team 21, Johan, mon parrain qui m'a fait entrer dans cette famille, les homistes, tous les incroyables cokotteurs du Kjb avec un merci particulier à Geoff, Louis, Jacquemin, Paul et Quentinou pour tous ces bons souvenirs. Une énorme merci aussi à toutes ces personnes que j'ai pu découvrir et qui sont devenus de si bons amis : Oriane, Lolita, Laurie, Charles, Vyckie, Rox, Flopine, Alexis, Léna, Lisa, CriCri, Laura, Fanny, Bosch, Malibu François, Merry, Nicolas, Cédric et tellement d'autres que je m'excuse d'avance de n'avoir pu citer.

Merci à mes copines de Las copinas d'avoir toujours été là et d'être restées là malgré mon agenda toujours si surchargé. Tellement de choses ont changé depuis le collège et pourtant notre amitié, elle, ne semble pas souffrir du temps qui passe.

Je tiens à remercier ma Maman, cette superwoman qui a su toujours trouver les bons mots pour me motiver, me remettre sur le droit chemin et me féliciter. Merci de m'avoir permis de vivre cette expérience universitaire et d'avoir été si ouverte tout au long de ce parcours. Merci à ma grande sœur, Caroline, d'avoir été un si bel exemple de réussite et de discipline. Merci aussi à ces trois Baussart qui ont débarqué dans notre vie sans prévenir et avec qui on a construit la plus belle, la plus folle des familles ! Merci Léa et Alix, mes petites sœurs, d'avoir été si compréhensives pendant mes blocus voir même un véritable soutien. Et enfin merci Francky Choumboudouboudou de supporter mes sautes d'humeur, surtout durant ces 6 derniers mois.

Merci à tous les individus binaires, membres des *Chilocorus bipustulatus* pour toutes ces guindailles fantastiques, ces bons souvenirs, ces défis relevés et surtout pour avoir partagé ce si beau folklore qu'est le nôtre. (Vous remarquerez que jusqu'au bout j'ai choisi les meilleures couleurs : Mes pucerons sont verts et noirs).

Pour finir en beauté ces remerciements, merci à la meilleure des équipes, celle avec qui j'ai découvert la vraie vie gembloutoise réservée aux initiés. Cette équipe de 8 hurluberlus grâce auxquels j'ai appris le sens des mots travail, fatigue, pression², solidarité, dépassement de soi. Je ne sais pas si vous lirez un jour mon travail mais je souhaite à quiconque le fera d'un jour trouver des amis aussi précieux et de vivre une aventure aussi belle qu'il m'ait été donné de connaître. Sur ce, je n'ai qu'un mot à dire : Tadaaaam !

Résumé

A l'heure des dérèglements environnementaux, la lutte biologique fait sens pour préserver la biodiversité et sécuriser nos ressources alimentaires. Les pucerons, ravageurs de nombreuses cultures, représentent une cible de choix pour ces nouvelles méthodes mais peut-être également la clef de leur efficacité. En effet, le miellat, cette substance qu'ils sécrètent, s'avère être plus qu'un déchet du métabolisme. Riche en hydrates de carbone et source de composés volatiles, il est pour les auxiliaires de culture une source énergétique mais également la source de substances sémi-chimiques attirant les prédateurs ou induisant leur ponte. Le présent travail tente de mettre en lumière les autres rôles potentiels que peut exercer le miellat notamment dans le cadre des relations intraguilides.

Premièrement, aux travers de tests en arènes, l'effet de ce liquide sucré est étudié sur le comportement et les relations de prédation existantes entre deux prédateurs aphidiphages, *Adalia bipunctata* et *Episyrphus balteatus*. Deuxièmement, une analyse protéomique a été réalisée sur des échantillons de miellats frais ou vieillis de *Aphis fabae* et *Acyrtosiphon pisum* afin d'identifier la diversité des protéines et micro-organismes présents. Ensuite, ces miellats d'*A. pisum* ayant subi des vieillissements ont été utilisés dans des tests en tunnel de vol afin d'évaluer les différences d'attraction ou stimulant de ponte chez *E. balteatus*. Enfin, pour compléter les données protéomiques, des micro-extractions sur phase solide suivies d'une chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) ont été réalisées sur des échantillons de culture bactérienne de *Staphylococcus sciuri*, bactérie présente dans le miellat de *A. pisum*, afin d'identifier les composés volatils qu'elle produit. Dans les tests en arène, le miellat augmente la mobilité des prédateurs et l'appétence des pucerons vis-à-vis des prédateurs et représente une source alternative de nourriture. L'analyse protéomique révèle quant à elle, une diversité de protéines globalement similaires pour toutes les durées de vieillissement du miellat de *A. pisum*, les échantillons les plus vieux en présentant tout de même une plus grande diversité. L'origine des protéines est à 9% bactérienne et à 91% issue du puceron lui-même. Les tests en tunnel de vol ont permis de démontrer que le miellat de 24h induit significativement plus de pontes chez *E. balteatus* que ses homologues plus vieux tandis qu'aucune différence d'attraction n'est présente. Enfin, aucune conclusion n'a pu être tirée de l'analyse des molécules volatiles émises par *S. sciuri* dont le protocole de production a été remis en question.

Mots-clés : miellat, lutte biologique, prédation, intraguilde, aphidiphage, protéomique, volatiles, *Adalia bipunctata*, *Episyrphus balteatus*, *Staphylococcus sciuri*, *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis fabae*, IGP

Abstract

At a time of global environmental changes, biological control makes sense in order to preserve biodiversity and secure our food resources. Aphids, a major crop pests, represent a prime target for these new methods that may be the most efficient and sustainable. Honeydew, the substance secreted by aphids, is more than just a waste product. Rich in carbohydrates and volatile compounds, it is an energy source for beneficials but also the origin of semiochemicals that attract predators and induce oviposition. The present work attempts to highlight the other potential roles honeydew can play such as in predatory intraguild relations.

Firstly, through arena tests, the effect of this substance was studied on behavioural and predatory relationships existing between two aphid predators, namely *Adalia bipunctata* and *Episyrphus balteatus*. Secondly, a proteomic analysis was carried out on honeydew samples of differential ages from *Aphis fabae* and *Acyrtosiphon pisum* in order to identify the diversity of proteins and associated micro-organisms. Then, these aged *A. pisum* honeydew samples were used in flight tunnel assays in order to evaluate the potential impact on *E. balteatus* mobility and oviposition. Finally, a solid phase micro extraction followed by gas chromatography coupled with mass spectrometry (SPME/GC-MS) was carried out on bacterial production liquid samples from *Staphylococcus sciuri*, a bacteria present in the honeydew of *A. pisum*, to identify active bacterial volatile compounds. In arena tests, honeydew increased the mobility of predators and the appetite of aphids towards predators, representing an alternative food source. Proteomic analysis revealed a protein profile that is globally similar for all the aged *A. pisum* honeydews, with the oldest samples showing a higher diversity of proteins. The origin of the proteins was 9% from bacteria and 91% from the aphid itself. Flight tunnel assays showed that 24-hour aged honeydew induced significantly more egg laying in *E. balteatus* than its older counterparts, while no difference in attraction was observed. Finally, no conclusion could be drawn from the analysis of volatile compounds emitted by *S. sciuri*, whose production protocol was questioned.

Keywords : honeydew, biological control, intraguild predation, aphidophagous, proteomics, volatiles, *Adalia bipunctata*, *Episyrphus balteatus*, *Staphylococcus sciuri*, *Acyrtosiphon pisum*, *Aphis fabae*, IGP

Table des matières

Remerciements	I
Résumé	II
Abstract	III
Table des matières	IV
Liste des figures	VII
Liste des tableaux	VIII
Liste des abréviations	X
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1. Les pucerons	3
1.1. Taxonomie, origine et distribution	3
1.1.1. Généralités	3
1.1.2. Aphis Fabae (Scopoli 1763)	4
1.1.3. Acyrthosiphon pisum (Harris 1776)	4
1.2. Biologie	5
1.2.1. Morphologie	5
1.2.2. Cycle de développement	6
1.2.3. Régime et comportement alimentaire	7
1.3. Le miellat	9
1.3.1. Rôle physiologique	9
1.3.2. Composition	9
1.3.3. Rôle fonctionnel du miellat	11
1.4. Nuisibilité	12
1.5. Moyens de lutte	12
2. La prédation intragilde (IGP)	13
2.1. Définition	13
2.2. Espèces concernées	14
2.3. Caractéristiques de la prédation intragilde (IGP)	14
2.4. Facteurs influençant la prédation intragilde (IGP)	15
2.5. Implications écologiques	16
2.5.1. Niveau individuel	16
2.5.2. Niveau des populations	17
2.5.3. Niveau des communautés	17
2.6. Prédation intragilde et biocontrôle	18

2.7.	Exemple de prédation intraguilde aphidiphage : Coccinellidae-Syrphidae.....	18
2.7.1.	Définition de la relation.....	18
2.7.2.	La coccinelle à deux points, <i>Adalia bipunctata</i> (Linnaeus 1758)	19
2.7.3.	Le syrphe ceinturé, <i>Episyrphus balteatus</i>	23
3.	Motivations et hypothèses de recherche.....	26
	Objectifs	28
	Partie expérimentale	29
1.	Matériels et méthodes	29
1.1.	Matériel biologique : Insectes, plantes et bactérie	29
1.1.1.	Elevage d' <i>Acyrtosiphon pisum</i>	29
1.1.2.	Elevage d' <i>Aphis fabae</i>	29
1.1.3.	Elevage d' <i>Adalia bipunctata</i>	29
1.1.4.	Elevage d' <i>Episyrphus balteatus</i>	30
1.1.5.	Souche bactérienne de <i>Staphylococcus scirui</i>	30
1.1.6.	Gestion des semis de <i>Vicia faba</i>	30
1.2.	Echantillonnage de miellat de pucerons	31
1.3.	Tests comportementaux en arènes.....	31
1.3.1.	Dispositif expérimental	31
1.3.2.	Analyses statistiques des résultats.....	33
1.4.	Tests comportementaux en tunnel de vol pour identifier l'effet du vieillissement du miellat sur les femelles d' <i>Episyrphus balteatus</i>	34
1.4.1.	Dispositif expérimental	34
1.4.2.	Analyses statistiques des résultats.....	36
1.5.	Extraction génomique et protéomique.....	36
1.5.1.	Préparation des échantillons et homogénéisation	36
1.5.2.	Extraction de l'ADN et des protéines	37
1.5.3.	Quantification des protéines.....	38
1.5.4.	Alkylation des protéines.....	38
1.5.5.	Analyses des résultats du séquençage	38
1.6.	Analyses de composés volatils issus du miellat d' <i>Acyrtosiphon pisum</i>	39
1.6.1.	Préparation des échantillons.....	39
1.6.2.	Micro extraction sur phase solide (SPME).....	40
1.6.3.	GC-MS.....	40
1.6.4.	Analyse des résultats.....	40
2.	Résultats.....	41
2.1.	Effet du miellat sur le comportement des prédateurs de pucerons.....	41

2.2.	Evaluation de l'effet du vieillissement du miellat sur le comportement du syrphe <i>Episyrphus balteatus</i> .	45
2.3.	Identification et analyse de la composition protéomique de différents miellats de pucerons	47
2.4.	Identification des profils volatiles de milieux inoculés avec <i>Staphylococcus sciuri</i>	53
3.	Discussion	55
3.1.	Effet du miellat sur le comportement des prédateurs de pucerons	55
3.2.	Evaluation de l'effet du vieillissement du miellat sur le comportement du syrphe <i>Episyrphus balteatus</i> .	56
3.3.	Identification et analyse de la composition protéomique de différents miellats de puceron	57
3.4.	Mise en évidence des molécules volatiles produites par <i>Staphylococcus. sciuri</i>	59
	Conclusions et perspectives	60
	Références bibliographiques	61
	Annexes	71
1.	Tenue des élevages	71
2.	Tracing des échantillons de miellat récoltés	76
3.	Détails des analyses statistiques réalisées	77
4.	Résultats bruts issus du logiciel GCMSsolution	82
5.	Molécules volatiles du miellat retrouvées dans différents milieux par GSCMS	84

Liste des figures

Figure 1: Distribution et plantes hôtes des principales sous-familles des Aphididae	3
Figure 2: Distribution d' <i>Aphis fabae</i>	4
Figure 3 : Distribution d' <i>Acyrtosiphon pisum</i>	5
Figure 4: Photographie d'une colonie d' <i>Acyrtosiphon pisum</i>	6
Figure 5: Photographie d'un adulte ailé d' <i>Aphis fabae</i>	6
Figure 6: Détail des pièces buccales des pucerons	8
Figure 7: Aperçu de la distribution proportionnelle des concentrations en hydrates de carbone par type de miellat.....	10
Figure 8: Dix règles générales liées à l'occurrence de la prédation intraguilde.....	16
Figure 9: Distribution géographique d' <i>Adalia Bipunctata</i>	20
Figure 10: Polymorphisme chez <i>Adalia bipunctata</i>	20
Figure 11: Cycle de développement d' <i>Adalia bipunctata</i>	21
Figure 12: Photographie d'oeufs d' <i>Adalia bipunctata</i>	23
Figure 13: Distribution d' <i>Episyrphus balteatus</i>	24
Figure 14: <i>Episyrphus balteatus</i> au stade imago.....	24
Figure 15: Cycle de développement d' <i>Episyrphus balteatus</i>	25
Figure 16: Dispositif expérimental des tests comportementaux en arènes..	32
Figure 17: Dispositif expérimental de l'expérience en tunnel de vol. Les couleurs indiquent les zones du tunnel de vol.....	35
Figure 18: Schéma du protocole d'extraction de l'ADN et des protéines	37
Figure 19: Dispositif de bain-marie pour SPME.....	40
Figure 20 : Evolution de la densité de puceron en fonction des traitements.....	41
Figure 21: Comparaison du nombre de combats observés par rapport à l'absence de combat en fonction des traitements.....	42
Figure 22: Le pourcentage d'apparition du comportement de léchage en fonction des traitements.	43
Figure 23: Effet du traitement sur la mobilité des larves de syrphe et de coccinelle.....	44
Figure 24 : Comparaison du nombre moyen de syrphes se posant sur le plant traité et témoin.	45
Figure 25: Evolution au cours du temps du nombre moyen de syrphes présents sur les plants témoins et traités.	46
Figure 26: Présence des syrphes sur les plants traités en fonction du vieillissement du miellat.	46
Figure 27: Fécondité des syrphes sur les plants en fonction de l'âge des miellats de pucerons.....	47
Figure 28: Diagramme de Venn illustrant la répartition des protéines du miellat en fonction de la durée de vieillissement.....	52
Figure 29: Diversité d'endosymbiotes aphidiens dans les différents échantillons de miellat.....	52
Figure 30: La répartition fonctionnelle des protéines identifiées selon les voies métaboliques.....	53
Figure 31: Liste des composés volatils identifiés à partir des jus bactériens.....	54
Figure supplémentaire 1 : Boite d'élevage d' <i>A.bipunctata</i>	71
Figure supplémentaire 2: Cages de vol pour <i>Episyrphus balteatus</i>	71
Figure supplémentaire 3 : <i>Episyrphus balteatus</i> en train de consommer du pollen broyé déposé sur une couche de miel.	72
Figure supplémentaire 4: Méthode de récolte de miellat de masse	72
Figure supplémentaire 5: Méthode quantitative de récolte de miellat.....	73

Figure supplémentaire 6: Miellat de <i>A. fabae</i> récolté sur un disque en aluminium.....	74
Figure supplémentaire 7: Larve de coccinelle dans sa boîte d'élevage	74
Figure supplémentaire 8: <i>Episyrphus balteatus</i> en position d'oviposition sur <i>Vicia faba</i>	75
Figure supplémentaire 9: Combat entre une larve d' <i>Episyrphus balteatus</i> et une larve d' <i>Adalia bipunctata</i> en Arène.....	75

Liste des tableaux

Tableau 1: Description des traitements associés aux arènes.....	32
Tableau 2: Détails des observations effectuées sur les arènes.....	33
Tableau 3 : Description des différentes zones du tunnel de vol.	35
Tableau 4: Heat-Map de la diversité de protéines identifiées dans chaque échantillon de miellat.....	48

Tableau supplémentaire 1 : résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire mixte décrivant l'évolution de la densité de pucerons.	77
Tableau supplémentaire 2 : résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire mixte décrivant l'évolution de la densité de pucerons <i>A. pisum</i> en fonction des traitements.	77
Tableau supplémentaire 3 : Classification des moyennes de densité de <i>A. pisum</i> pour les modalités de traitements de l'arène.....	77
Tableau supplémentaire 4 : résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire mixte décrivant l'évolution de la densité de pucerons <i>A. fabae</i> en fonction des traitements.....	77
Tableau supplémentaire 5 : Classification des moyennes de densité de <i>A. fabae</i> pour les modalités de traitements de l'arène.....	77
Tableau supplémentaire 6 : résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant l'occurrence des combats en fonction du traitement et de l'espèce de puceron.	77
Tableau supplémentaire 7 : Classification des moyennes d'observation de combat pour les modalités de traitements de l'arène.....	78
Tableau supplémentaire 8 : résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant l'occurrence du léchage chez la larve de coccinelle en fonction du traitement et de l'espèce de puceron.....	78
Tableau supplémentaire 9 : résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant l'occurrence du comportement de léchage chez la larve de syrphé en fonction du traitement et de l'espèce de puceron.	78
Tableau supplémentaire 10 : Classification des moyennes d'observation du comportement de léchage du miellat chez la larve de syrphé pour les modalités de traitements de l'arène qui comprennent du miellat.....	78
Tableau supplémentaire 11 : résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant l'occurrence du comportement de mobilité chez la larve de coccinelle en fonction du traitement et de l'espèce de puceron.	78
Tableau supplémentaire 12 : Classification des moyennes d'observation du comportement de mobilité chez la larve de coccinelle pour les modalités de traitements de l'arène.	79

Tableau supplémentaire 13 : résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant l'occurrence du comportement de mobilité chez la larve de syrpe en fonction du traitement et de l'espèce de puceron.	79
Tableau supplémentaire 14 : Classification des moyennes d'observation du comportement de mobilité chez la larve de syrpe pour les modalités de traitements de l'arène.	79
Tableau supplémentaire 15: résultat du modèle linéaire généralisé mixte décrivant la répartition des syrpes sur les plants T et NT en fonction du temps.	79
Tableau supplémentaire 16: résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant la répartition des syrpes sur les plants T et NT en fonction du temps et du traitement du miellat.	79
Tableau supplémentaire 17: Moyennes et écart-type du nombre de syrpes présents sur le plant traité (T) et sur le plant témoin (NT) en fonction du traitement et du temps d'observation.....	80
Tableau supplémentaire 18: Modèle linéaire généralisé mixte comparant la répartition des syrpes sur les plants T et NT avec une répartition 50-50%.	80
Tableau supplémentaire 19: Nombre de syrpe présents à un instant donné sur le plant traité (T) et sur le plant témoin (NT) selon les modalités de traitement.	80
Tableau supplémentaire 20: résultat du modèle linéaire généralisé mixte décrivant la répartition des syrpes sur les plants T et NT en fonction du traitement.	81
Tableau supplémentaire 21: résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant la répartition des syrpes sur les plants T et NT en fonction du traitement.	81
Tableau supplémentaire 22: résultat du modèle linéaire généralisé mixte représentant le nombre d'oeufs en fonction du traitement.	81
Tableau supplémentaire 23: Résultat du test Chi ² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant le nombre d'oeufs pondus sur une plante en fonction du traitement.....	81
Tableau supplémentaire 24: Moyennes et écart-types du nombre d'oeufs pondus selon les traitements. Les lettres répartissent les traitements selon des groupes de moyennes équivalentes.	81

Liste des abréviations

µg : microgramme

AA : Acides Aminés

BYDV : Barley Yellow Dwarf Virus ; virus de la jaunisse nanisante de l'orge

cm² : centimètres carré

DTT : 1,4-dithiothreitol

EβF : (E)-β-farnésène

GLMM : modèle linéaire mixte généralisé

IAA : iodoacétamide

IGP: Intraguild Predation ; prédation intragilde

IGpredator : prédateur intragilde

IGprey: proie intragilde

IPM : Integrated Pest Management ; lutte intégrée

ITAB : Institut Technique de l'Agriculture Biologique

LMM : Modèle linéaire mixte

ml : millilitres

mM : millimoles

Rpm : revolution per minute ; tours par minute

XGprey : proie extragilde

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les pucerons, représentants de la superfamille des Aphidoidea, constituent un large groupe d'insectes ravageurs de cultures dans le monde entier. En effet, les pertes économiques liées aux attaques de ces derniers sont considérables et concernent 72 groupes de plantes vasculaires, 8 groupes seulement n'étant pas concernés par leur présence (Eastop, 1978). Leurs pièces buccales, appelées stylets, leur confèrent la capacité de transpercer l'épiderme de la plante jusqu'aux liquides du phloème et du xylème causant de lourds dégâts mécaniques. Ce comportement alimentaire est également la raison pour laquelle les pucerons sont, à ce jour, considérés comme les vecteurs les plus importants de maladies virales chez les plantes transmettant plus de 30% des virus végétaux connus (Brault et al., 2010; Blackman et al., 2019). En Belgique, le nombre d'espèces de pucerons s'élève à 370 (Nieto Nafria et al., 1999; Jansen et al., 2002).

En 2019, les experts des nations unies estimaient le nombre d'espèces menacées d'extinction à 1 million. Parallèlement, la dégradation des écosystèmes agricoles et la perte de diversité en termes de cultures et de variétés privent l'agriculture actuelle d'une capacité de résilience face aux ravageurs et aux pathogènes mais également face aux aléas climatiques et socioéconomiques actuels et à venir. La nécessité de remplacer les méthodes de lutte actuelles par des approches innovatrices et durables en terme de ressources phytogénétiques et zoogénétiques est donc largement acceptée. En effet, à titre d'exemple, entre 1980 et 2010, la proportion d'articles sur des biopesticides destinés au contrôle des ravageurs par rapport à toutes les recherches publiées sur les insecticides est passée d'un pourcentage presque nul à 20% (Isman, 2006, 2020). Existant depuis la fin des années 50 mais connaissant un essor fulgurant ces dernières années, la lutte intégrée (IPM pour Integrated Pest Management en anglais) est une stratégie de gestion des écosystèmes centrée de la prévention à l'action à long-terme des dégâts liés aux ravageurs à travers une combinaison de techniques telles que la lutte biologique, la modification des pratiques culturales et l'utilisation de variétés résistantes.

En plus de cette nécessité de conserver les écosystèmes et leur diversité, les pucerons constituent un sujet particulièrement pertinent pour les méthodes de lutte intégrée puisqu'ils sont, à ce jour, résistants à de nombreux insecticides (Francis et al., 1998; Foster et al., 2007). Le recours à des ennemis naturels de cette famille d'insectes fait aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches (Ragsdale et al., 2011; Boivin et al., 2012; Ximenez-Embun et al., 2014; Riddick, 2017; Bouvet et al., 2020; Ranjbar et al., 2020). Cette méthode de lutte biologique n'est pas toujours un succès (Ehler, 1996). Parmi les causes identifiables de ces échecs, on peut noter l'interférence de la prédation intragilde (IGP pour Intra Guild Predation en anglais) (Rosenheim et al., 1995; Ehler, 1996; Rosenheim, 2005), autrement dit le fait que différents prédateurs d'un même niveau trophique, ici aphidiphage, soient impliqués entre eux dans une relation proie/prédateurs (Polis et al., 1989).

Le présent travail s'articule autour d'une sécrétion d'intérêt dans la lutte contre le puceron, le miellat produit par l'insecte lui-même. Ce dernier représente une source d'hydrates de

carbones profitables aux ennemis naturels des insectes producteurs de miellat (van Neerbos et al., 2020) agissant, en outre, comme une kairomone volatile et de contact (Leroy et al., 2014). L'objectif de cette recherche est donc de, premièrement, comparer la composition du miellat de deux espèces de pucerons, d'une part le puceron vert du pois, *Acyrtosiphon pisum* (Harris) et d'autre part le puceron noir de la fève, *Aphis fabae* (Scopoli). Deuxièmement, c'est l'influence du miellat sur le comportement d'auxiliaires de culture qui sera étudiée. D'une part, la prédation intragilde entre la coccinelle à deux points, *Adalia bipunctata* et le syrphe ceinturé, *Episyrphus balteatus* sera étudiée. D'autre part, on étudiera le vieillissement du miellat sur l'attraction et l'induction de la ponte chez *E. balteatus*.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les pucerons

1.1. Taxonomie, origine et distribution

1.1.1. Généralités

Les pucerons forment la famille des Aphididae appartenant à l'ordre des Hémiptères et constituant la Super-Famille des Aphidoidea regroupent pas moins de 4700 espèces dans le monde (Remaudière et al., 1997) dont 450 espèces ont été recensées sur des cultures (Blackman et al., 2019). La famille des Aphididae représente une diversité importante en termes de distributions, de biologies et de morphologies ; caractérisée par un grand nombre de sous-familles. Parmi celles-ci, les Aphidinae regroupent la majorité des espèces nuisibles pour les plantes cultivées (Blackman et al., 2007) et se composent de 2750 espèces soit plus de la moitié des espèces de pucerons connues à ce jour (Von Dohlen et al., 2006). Même si la plupart des Aphididae se retrouvent en zones tempérées (Blackman et al., 2007), certaines espèces ont été retrouvées en zone arctique de toundra tel que *Acyrtosiphon svalbardicum* (Hodkinson et al., 2002)) ainsi qu'en zone tropicale où on peut citer par exemple le puceron du bananier, *Pentalonia nigronervosa* (Hales, 1976; Martin, 1983; Agarwala et al., 1986). En effet, l'ensemble des sous-familles de la famille des pucerons colonise aujourd'hui une large gamme de territoires ainsi qu'une large gamme de plantes hôtes (Figure 1, Blackman et al., 2007). Ce travail va s'intéresser particulièrement à deux espèces de pucerons endémiques de Belgique, menaçant des cultures d'une importance économique majeure (STATBEL, 2019) : le puceron vert du pois, *Acyrtosiphon pisum* et le puceron noir de la fève, *Aphis fabae*.

Table 1.1. Biological features and distribution of agriculturally important species among the major groups of aphids.

Taxon	Characteristic host plants	Geographical distribution	Host alternation?	Number of agriculturally important spp./total spp.	Representative genera
Adelgidae	Coniferae	Holarctic	Most	0/60	<i>Adelges</i> , <i>Pineus</i>
Phylloxeridae	Fagaceae, Juglandaceae	Holarctic (mostly Nearctic)	Some	1/70	<i>Phylloxera</i> , <i>Daktulosphaira</i>
Aphididae:					
Eriosomatinae	Ulmaceae, Salicaceae, Anacardiaceae, roots of gymno- and angiosperms	Holarctic, Oriental	Many or most	9/365	<i>Eriosoma</i> , <i>Pemphigus</i> , <i>Prociphilus</i>
Hormaphidinae	Hamamelidaceae, Styracaceae, palms, bamboos	Mostly Oriental	Many or most	5/222	<i>Astegopteryx</i> , <i>Cerataphis</i> , <i>Ceratovacuna</i>
Anoeciinae	Cornus, grass roots	Holarctic	Most	2/30	<i>Anoecia</i>
Calaphidinae	Deciduous trees	Holarctic	None	6/351	<i>Chromaphis</i> , <i>Myzocallis</i> , <i>Therioaphis</i>
Saltusaphidinae	Sedges	Holarctic	None	0/59	<i>Iziphya</i> , <i>Subsaltusaphis</i> , <i>Thripsaphis</i>
Chaitophorinae	Salicaceae	Holarctic	None	2/173	<i>Atheroides</i> , <i>Sipha</i>
Greenideinae	Dicotyledonous trees	Eastern Palaearctic, Oriental	None	2/180	<i>Anomalosiphon</i> , <i>Greenidea</i>
Aphidinae:					
Aphidini	Many families, including Rosaceae, Poaceae,	Holarctic, a few southern hemisphere	Some	20/808	<i>Aphis</i> , <i>Rhopalosiphum</i> , <i>Schizaphis</i> , <i>Acyrtosiphon</i> , <i>Brevicoryne</i> , <i>Macrosiphum</i> , <i>Myzus</i>
Macrosiphini	Asteraceae		Some	60/2116	<i>Macrosiphum</i> , <i>Myzus</i>
Lachninae	Trees (dicotyledonous and coniferous)	Holarctic	None	4/400	<i>Cinara</i> , <i>Lachnus</i> , <i>Trama</i>
15 other subfamilies	Mostly dicotyledonous trees	Some are Oriental and southern hemisphere	None	0/185	

Figure 1: Distribution et plantes hôtes des principales sous-familles des Aphididae (Blackman et al., 2007)

1.1.2. Aphis Fabae (Scopoli 1763)

Domaine : Biota

Règne : Animalia

Phylum : Arthropoda

Classe : Insecta

Ordre : Hemiptera

Sous-ordre : Sternorrhyncha

Super-Famille : Aphidoidea

Famille : Aphididae

Genre : Aphis

Espèce : *Aphis fabae* (Scopoli 1763)

Aphis fabae (Scopoli 1763) porte de nombreux noms vernaculaires dont on peut citer notamment « puceron noir de la fève » et « puceron noir de la betterave » en français ou bien encore « Black bean aphid » et « Blackfly » en anglais. Originaire du territoire européen, cette espèce est aujourd'hui également présente en Asie, en Afrique, en Amérique du Nord et du sud (Figure 2, CABI, 2020a).



Figure 2: Distribution d'*Aphis fabae* (CABI, 2020)

1.1.3. Acyrthosiphon pisum (Harris 1776)

Domaine : Biota

Règne : Animalia

Phylum : Arthropoda

Classe : Insecta

Ordre : Hemiptera

Sous-ordre : Sternorrhyncha

Super-Famille : Aphidoidea

Famille : Aphididae

Genre : Acyrthosiphon

Espèce : *Acyrthosiphon pisum* (Harris 1776)

Acyrtosiphon pisum (Harris 1776) communément appelé puceron vert du pois ou « Pea aphid » en anglais est un puceron de la sous-famille des Aphidinae. Originaire de l'écozone paléarctique, on retrouve aujourd'hui ce ravageur aussi bien dans l'hémisphère nord que dans l'hémisphère sud (Figure 3). Il a été recensé en Amérique de nord, en Amérique du sud, en Europe, en Asie, en Afrique et en Océanie (CABI, 2020b).



Figure 3 : Distribution d'*Acyrtosiphon pisum* (CABI, 2020)

1.2. Biologie

1.2.1. Morphologie

Généralités

Les pucerons adultes mesurent entre 1 et 8 mm de long, avec un corps mou en forme de poire qui peut être vert, jaune, brun, rouge, rose ou noir et qui est, selon les espèces, recouvert d'une couche cireuse blanchâtre. Les pucerons possèdent une tête avec une paire de longues antennes, des yeux composés et un rostre. Leur thorax possède trois paires de pattes et pour les formes ailées, une paire d'ailes translucides. L'abdomen présente, parfois, une paire d'appendices dorsaux en forme de tube, les siphons (ou cornicules) qui servent à excréter des phéromones d'alarmes. La plupart des pucerons ont leur dernier segment abdominal en forme de queue, la cauda. Selon les espèces, étant plus ou moins développée, celle-ci est de forme variable. La plaque anale est située sous la cauda et l'anus se trouve juste entre les deux (Brisson et al., 2006).



Figure 5: Photographie d'un adulte ailé d'*Aphis fabae*



Figure 4: Photographie d'une colonie d'*Acyrtosiphon pisum*

1.2.2. Cycle de développement

Généralités

Il existe sans doute autant de cycles de vie différents chez les pucerons qu'il en existe d'espèces. Ceux-ci sont une combinaison spécifique de caractéristiques telles que l'alternance et la durée de la reproduction sexuée et parthénogénétique, le polymorphisme et les associations de plantes hôtes (Moran, 1992).

Les pucerons ancestraux présentaient un cycle de développement simplifié dans lequel toutes les femelles étaient ailées et ovipares et leurs plantes hôtes étaient uniquement ligneuses (Shaposhnikov, 1981). Il est évident que la parthénogenèse cyclique est apparue très tôt chez un ancêtre commun des Aphidoidea. Cependant, il n'est pas prouvé qu'il y a 200 millions d'années, les premiers pucerons étaient parthénogénétiques (Moran, 1992). La plupart des espèces partagent aujourd'hui un cycle qui comprend une phase de reproduction sexuée et une phase asexuée, c'est l'holocyclie (Hardy et al., 2015). Certains pucerons ont perdu la phase de reproduction sexuée. On parle alors d'anholocyclie pour ces espèces qui ne se reproduisent plus que par parthénogénèse. Ce phénomène est généralement dû à des conditions environnementales limitantes pour le développement des formes sexuées et ne survient, dès lors, que sur une partie de l'aire de répartition de ces espèces (Hardy et al., 2015; INRAE, 2020)

Pour ce qui est des plantes hôtes, certaines espèces de pucerons n'en coloniseront qu'une seule espèce au cours de leur vie, elles sont dites monœciques. Environ 10% des espèces accomplissent, par contre, leur cycle de vie sur plusieurs espèces/genres/familles de plantes hôtes, elles sont diœciques ou hétéroœciques (Hardy et al., 2015; INRAE, 2020). La reproduction sexuée a alors lieu sur l'hôte primaire avant que l'espèce ne migre vers l'hôte secondaire. La plupart des espèces diœciques choisissent une plante ligneuse comme hôte primaire pendant le printemps et le début de l'été. Lorsque les ressources nutritives des hôtes ligneux diminuent, les pucerons migrent alors généralement vers un hôte secondaire herbacé (Dixon, 1971).

Aphis Fabae

Aphis fabae est une espèce holocyclique et hétéroœcique. Les hôtes primaires sont utilisés en automne, en hiver et au printemps pour la survie des œufs obtenus par reproduction sexuée. Au printemps, les œufs éclosent et les femelles vivipares et parthénogénétiques commencent à se reproduire, après quoi la progéniture migre vers les plantes hôtes secondaires où elle se reproduit asexuellement pendant le reste du printemps et de l'été (Stroyan, 1984).

Dans le nord de l'Europe, il existe 5 souches étroitement proches : *Aphis fabae sensu stricto*, *Aphis solanella*, *Aphis fabae cirsiacanthoidis*, *Aphis euonymii*, *Aphis fabae mordvilkoii* ; les quatre premiers présentent le fusain, *Euonymus europaeus*, comme hôte primaire (Blackman et al., 2007). La Boule de neige (*Viburnum opulus*), ou du Seringat (*Philadelphus sp.*) sont également des hôtes primaires connus (Stroyan, 1984).

Hautement polyphage, cette espèce s'attaque à plus de 100 hôtes (Powell et al., 2001) tels que des plantes de la famille des Fabaceae (*Vicia fabae*, *Phaseolus vulgaris*), Chenopodiaceae (*Chenopodium album*), Amaranthaceae (*Beta vulgaris*), Asteraceae, Brassicaceae, Solanaceae (*Solanum nigrum*, *Solanum tuberosum*) mais également des cultures florales et ornementales (Stroyan, 1984).

Acyrtosiphon pisum

En tant qu'insectes hémimétaboles, les pucerons du pois subissent une métamorphose complète. Etant holocycliques et monœciques, ils ont un cycle de vie complexe qui alterne entre la reproduction asexuée et la reproduction sexuée tout en se cantonnant à un seul type de plantes hôtes (Brisson et al., 2006). Dans certaines régions au climat plus doux, on retrouve cependant des colonies anholocycliques (INRAE, 2020).

Au printemps et en été, la reproduction se fait par parthénogenèse au départ de femelles ailées ou aptères. Les embryons produits par voie asexuée se développent en 10 jours environ. À l'automne, une seule génération de mâles (ailés ou non) et de femelles aptères se reproduisant sexuellement, produit des œufs en diapause. Ces œufs n'éclosent qu'au printemps suivant, soit plus de 100 jours plus tard et donnent naissance à une femelle fondatrice asexuée (Shingleton et al., 2003).

Les hôtes les plus connus pour *A. pisum* font partie de la famille des Fabaceae : le pois (*Pisum sativum*), le haricot (*Phaseolus vulgaris*), les trèfles (*Trifolium*), la luzerne (*Medicago sativa*), la fève (*Vicia faba*), la lentille (*Lens culinaris*), le cytise (*Cytisus laburnum*) et les genêts (*Genista*) (INRAE, 2020).

Ravageur de nombreuses légumineuses (Fabaceae), on retrouve *A. pisum* sur des plantes des tribus des Genisteae (*Cytisus*, *Genista*, *Spartium*), des Trifolieae (*Medicago*, *Metilolus*, *Ononis*, *Trifolium*, *Trigonella*), des Fabeae (*Lathyrus*, *Lens*, *Pisum*, *Vicia*) et des Hedysareae (*Hippocrepis*, *Onobrychis*). D'autres tribus des Fabaceae sont également concernées telles que les Loteae (*Lotus spp*) et les Phaseoeae (*Glycine max*) bien que minoritairement représentées (Blackman et al., 2007). Alors que la plupart des pucerons du pois se nourrissent d'une série de plantes hôtes de la famille des Fabaceae, un certain nombre montre une nette préférence pour une plante spécifique (Brisson et al., 2006).

1.2.3. Régime et comportement alimentaire

Généralités

L'évolution a poussé les pièces buccales des pucerons à se spécialiser dans l'ingestion d'un régime liquide. Les stylets, fines paires de soies chitineuses à bouts pointus, leur servent à pénétrer dans les tissus végétaux (Figure 6). La paire externe, les stylets mandibulaires qui présentent une extrémité plus large à l'intérieure de la tête, traversent la cavité buccale avant de s'affiner pour venir envelopper les côtés externes des stylets internes ou maxillaires. Un canal longitudinal se trouve au centre de chaque stylet mandibulaire. Les stylets maxillaires sont situés immédiatement en arrière des mandibules, à l'intérieure de la tête ; ils se rejoignent à l'extrémité de l'hypopharynx et forment deux canaux

longitudinaux, un canal antérieur destiné à l'alimentation et un canal salivaire postérieur plus fin. Les stylets maxillaires sont également imbriqués par coaptation par des rainures et des crêtes et sont ainsi maintenus ensemble. Cependant, il existe, pour chaque stylet, une certaine liberté de mouvement pour la protraction et la rétraction individuelles. Lorsqu'ils sont insérés dans un tissu végétal, les quatre stylets sortent du labium dans lequel ils sont cloisonnés sur une grande partie de leur longueur. L'extrémité proximale du labium se raccourcit par une action télescopique pendant l'alimentation. L'extrémité distale du proboscis porte un anneau de poils qui sert probablement à guider le puceron dans le choix d'une partie de la plante dans laquelle il peut insérer ses stylets.

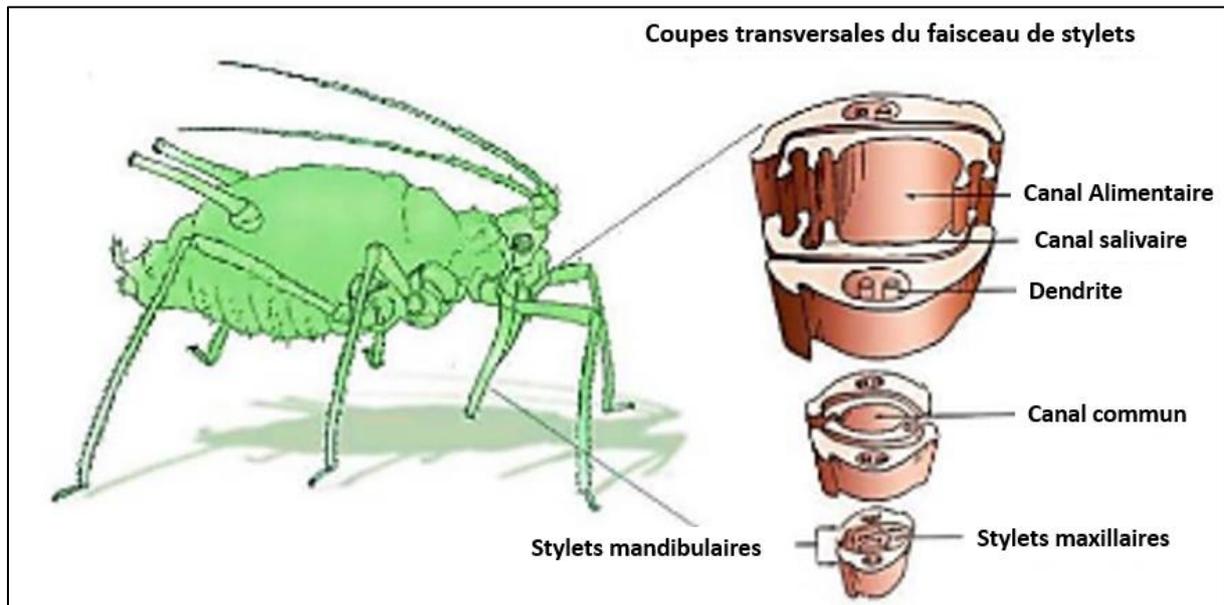


Figure 6: Détail des pièces buccales des pucerons d'après BRAULT et al 2007 in RABATEL, 2011 (Bay Ahmed, 2013)

Bien que les pucerons absorbent passivement la sève de phloème sous pression, la pompe cibarienne-pharyngée, située à l'intérieur de leur tête, contribue, via une action musculaire, au passage à travers le pharynx, de la sève de phloème du canal alimentaire vers l'œsophage. La salive sécrétée par les glandes salivaires bien développées est acheminée vers le minuscule canal salivaire des stylets maxillaires grâce à la pompe salivaire et aboutit à l'extrémités des stylets (Auclair, 1963).

Etant donné sa haute composition en sucre, il arrive que la pression osmotique de la sève de phloème soit supérieure à celle des autres fluides de l'insecte. Autrement dit, il est probable qu'un puceron perde de l'eau lorsqu'il se nourrit. Pour pallier ce déficit hydrique, certains pucerons absorberaient sporadiquement de la sève de xylème (Kennedy et al., 1959). En outre, l'ingestion de la sève de xylème a également été observée chez des pucerons bien hydratés et chez des pucerons aptères lorsque leur fécondité diminue (Pompon et al., 2010, 2011).

Situé après le pharynx, le tube digestif est de structure variable bien que généralement composé d'un œsophage filiforme qui relie le pharynx à un estomac bulbeux. À l'extrémité antérieure de l'estomac se trouve une valve dite cardiaque ou œsophagienne. Juste après l'estomac, le tube digestif présente quelques replis puis s'élargit légèrement pour former un intestin postérieur en forme de sac, le rectum. Les pucerons ne présentent pas de tube de Malpighi. La fonction excrétrice semble être exercée en

partie par l'intestin et, dans une certaine mesure, par les glandes salivaires. (Dufour, 1833; Buckton, 1876; Auclair, 1963a)

1.3. Le miellat

1.3.1. Rôle physiologique

Les pucerons, se nourrissant de la sève du phloème des plantes, excrètent un liquide riche en sucre libéré par l'anus. Il est principalement constitué du résidu de la sève de phloème ingérée après digestion et assimilation dans l'intestin de l'insecte, mais il contient également des déchets du métabolisme de l'insecte éliminés par l'intestin (Douglas, 2009). Ce liquide riche en glucides contient également de petites quantités d'acides aminés et de vitamines. (Mittler, 1958; Auclair, 1963a). Le liquide s'accumule dans le rectum et est ensuite excrété en une seule gouttelette par l'anus à intervalles assez réguliers, généralement toutes les 15 à 40 minutes. (Douglas, 2009).

De par sa composition, le miellat est un milieu propice au développement de bactéries ce qui le rend potentiellement dangereux pour l'insecte producteur. De même, il peut représenter un risque d'étouffement. Divers mécanismes existent afin de protéger les pucerons de ces risques. En effet, sur les surfaces exposées, les pucerons projettent généralement la gouttelette de miellat à une distance pouvant atteindre plusieurs centimètres, soit en donnant un coup avec l'une des pattes arrière, soit en utilisant leur cauda pour catapulte la goutte en direction ventrale. En outre, les pattes arrière et la cauda présentent des poils cuticulaires hydrophobes qui empêchent le miellat collant d'adhérer à la surface de l'insecte (Douglas, 2009)

Outre son rôle excréteur, le miellat peut participer à la régulation de la température interne de l'insecte. Sous des températures élevées, certains pucerons, tels que *Tuberolachnus salignus*, affichent un comportement appelé « Honeydew-panting ». Ils positionnent leur abdomen en angle droit par rapport à la surface de la plante et font sortir et rentrer de petites gouttelettes de miellat de l'anus. Ce comportement permet de refroidir l'insecte via la perte d'eau engendrée par l'évaporation des gouttelettes (Douglas, 2009).

1.3.2. Composition

Généralités

D'une part, la composition du miellat dépend fortement de la composition même de la sève du phloème, qui varie elle-même au sein et entre les espèces de plantes hôtes (Hendrix et al., 1992; Fischer et al., 2001; Karley et al., 2002). Au sein des espèces végétales, la composition de la sève du phloème peut varier avec la physiologie diurne des plantes (Taylor et al., 2012) et des variations saisonnières (Mittler, 1958; Wool et al., 2006). De plus, l'état nutritionnel de la plante peut également avoir un effet (Douglas, 1993). Enfin, la présence de métabolites secondaires produits par la plante, tels que les cardénolides, influence aussi la composition du miellat (Malcolm, 1990).

L'espèce du puceron influence également la composition du miellat (Woodring et al., 2004; Hogervorst et al., 2007) ainsi que son stade de développement et son âge (Sasaki et al., 1990; Arakaki et al., 1998; Fischer et al., 2002). La composition du miellat va de plus varier en fonction de la taille de la colonie de pucerons et de la durée de l'alimentation de la colonie sur la plante (Faria et al., 2008). De plus, la présence ou non de bactéries symbiotiques (Wilkinson et al., 1997; Schillewaert et al., 2016) ou de parasitoïdes (Cloutier, 1986) au sein du puceron modifie également la composition du miellat.

D'autre part, la présence de fourmis dans le cadre d'une relation mutualiste avec les pucerons a montré des changements de la composition en sucre du miellat (Fischer et al., 2001; Yao et al., 2001) mais aussi en acides aminés (Yao et al., 2002).

Composé principalement d'hydrates de carbone, on retrouve dans le miellat à la fois des sucres d'origine végétale et des sucres synthétisés par les pucerons eux-mêmes (Faria et al., 2008). Parmi ceux-ci, on peut citer le mélézitose, le fructomaltose, le raffinose et le tréhalose (Mittler, 1958; Wäckers, 2000). A titre d'exemple, les proportions des différents hydrates de carbone varient largement en fonction du couple plante hôte-espèce de puceron (Figure 7, van Neerbos et al., 2020).

En ce qui concerne la composition en acides aminés, l'asparagine et la glutamine, acides aminés les plus abondants dans le phloème, sont tous deux retrouvés généralement dans le miellat bien que leur concentration dépende fortement de l'âge du puceron et varie également si le puceron est en phase aposymbiotique ou non (Sasaki et al., 1990). La sève du phloème contient relativement peu d'acides aminés (AA) essentiels par rapport à ce qu'elle contient d'AA non-essentiels, les insectes s'en nourrissant abritent donc des micro-organismes symbiotiques qui leur fournissent des acides aminés essentiels qu'ils sont incapables de synthétiser eux-mêmes (Douglas, 1993; Sandström et al., 1999; Schwartzberg et al., 2014). Dans cette optique, les pucerons améliorent la composition des exsudats de la plante hôte en augmentant leur concentration totale en acides aminés (Sandström et al., 2000, 2001; Leroy, Wathelet, et al., 2011).

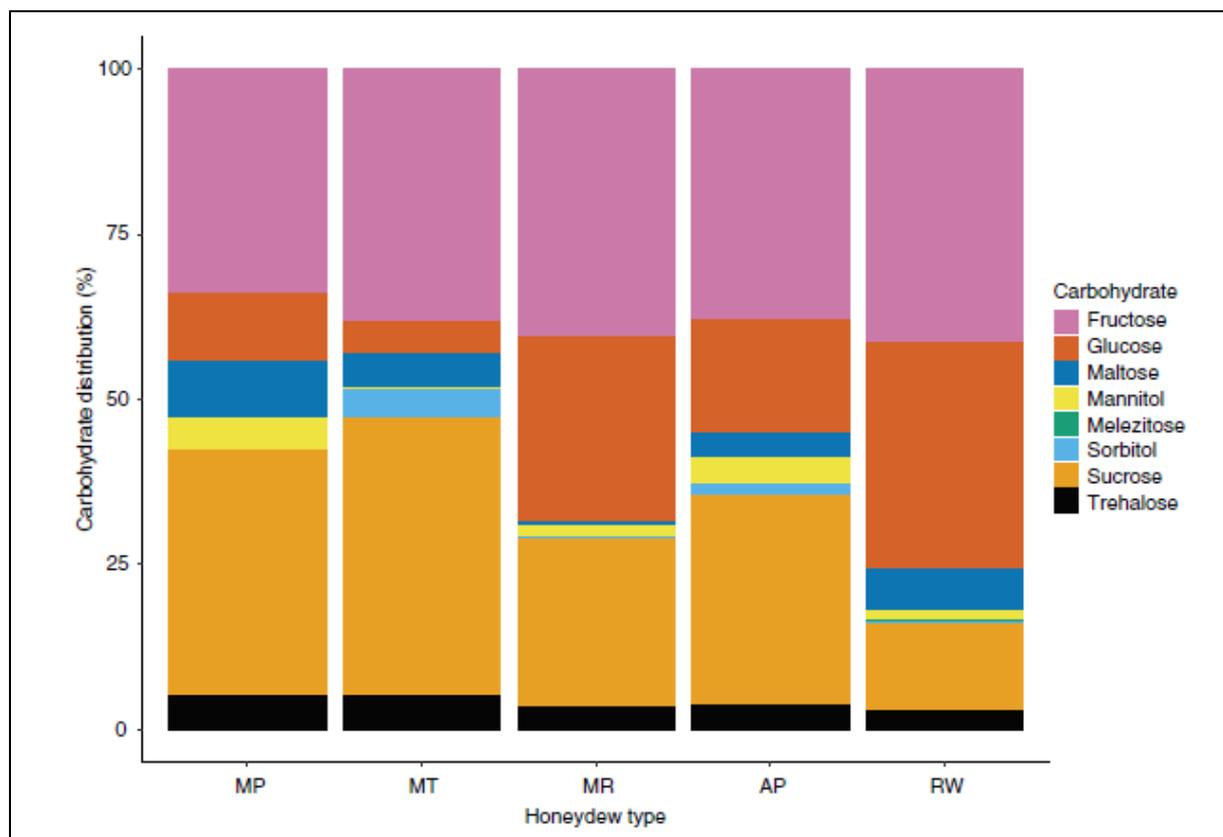


Figure 7: Aperçu de la distribution proportionnelle des concentrations en hydrates de carbone (CH) par type de miellat. Les pourcentages de chaque CH ont été calculés en divisant les concentrations de glucides thématiques (μgmg^{-1} ; tableau 1) par la quantité totale de glucides recueillis pour chaque type de miellat. Parmi les espèces aphidiennes, on trouve *Myzus persicae* sur le poivre (MP), le tabac (MT) et le radis (MR), *Aulacorthum solani* sur le poivre (AP) et *Rhopalosiphum padi* sur le blé (RW) (van Neerbos et al., 2020).

Le miellat chez *Aphis fabae*

Certains hydrates de carbone tels que le fructose, le glucose, le maltose, le sucrose, le tréhalose, l'érlose, le maltotriose, et le mélézitose sont retrouvés systématiquement dans le miellat d'*A. fabae* bien que leur concentration respective varie avec l'espèce de plante hôte (Schillewaert et al., 2017).

Il a été démontré que les pucerons noirs de la fève infectés par un endosymbiote tel que *Hamiltonella defensa* ou *Regiella insecticola* présentent des concentrations réduites d'acides aminés dans le miellat par rapport aux pucerons non infectés. Cependant, la présence d'endosymbiotes n'a aucun effet sur la quantité absolue d'hydrates de carbone produite. Néanmoins, on observe tout de même une variation de la composition du miellat entre les génotypes différents de pucerons, tant pour la production de glucides que d'acides aminés (Schillewaert et al., 2016). Aussi, lorsque des colonies d'*A. fabae* se nourrissent de *V. faba*, elles induisent des niveaux élevés d'asparagine, d'acide aspartique, d'alanine, de phénylalanine, de valine et d'isoleucine dans ces plantes (Poehling, 1985).

Certaines substances sémiocchimiques émis par le microbiote du miellat d'*Aphis fabae* induisent certains comportements et sont particulièrement attractifs vis-à-vis des fourmis. Parmi ces bactéries, *Staphylococcus xylosus* a pu être identifiée et isolée (Fischer, 2016).

Le miellat chez *Acyrtosiphon pisum*

Le miellat d'*Acyrtosiphon pisum* est composé d'oligosaccharides (Douglas, 2006), de monosaccharides, disaccharides et de trisaccharides tels que le sucrose, le fructose, le glucose et le tréhalose (Auclair, 1963a; Wilkinson et al., 1997). Wilkinson et collègues (1997) ont d'ailleurs montré que les sucres contenus dans le miellat du puceron vert du pois varient en fonction de la concentration en saccharose ingéré, les monosaccharides étant dominants à faible concentration et les oligosaccharides dominants à forte concentration de saccharose.

L'analyse protéomique du miellat du puceron vert du pois montre une grande diversité en terme de protéines provenant à la fois du puceron hôte et de son microbiote, y compris les bactéries endosymbiotiques et de la flore intestinale (Sabri et al., 2013). De plus, lorsque *A. pisum* se nourrit sur *V. faba*, celui-ci provoque l'augmentation dans la plante de la concentration en alanine, acide aspartique, histidine, isoleucine, lysine phénylalanine, valine, glutamine et asparagine (Leroy et al., 2011)

Le miellat de puceron vert du pois présente également un microbiote spécifique dont 6 bactéries ont pu être isolées et identifiées : *Acinetobacter calcoaceticus*, *Staphylococcus sciuri*, *S. saprophyticus*, *Serratia marcescens*, *Leucobacter komagatae* et *Erwinia aphidicola* (Leroy, Sabri, et al., 2011; Sabri et al., 2013). La bactérie *S. sciuri* serait responsable de la production de composés volatils dont le 3-méthyl-2-buténal et l'acide 3-méthylbutanoïque qui pourraient induire la ponte chez le syrphé *E. balteatus* (Leroy et al., 2011).

1.3.3. Rôle fonctionnel du miellat

Le miellat de puceron a longtemps été considéré comme étant un produit résiduaire de mauvaise qualité nutritionnelle et donc n'était pas reconnu comme source alternative de nourriture (Wäckers,

2000). Récemment, cette idée a été remise en question avec l'identification d'une diversité importante de protéines au sein du miellat de pucerons (Sabri et al., 2013).

Cependant, le miellat de puceron est utilisé comme source de nourriture par les ennemis naturels des insectes qui n'en produisent pas (Lundgren, 2009; Tena et al., 2013) et il peut améliorer la longévité et la fécondité des parasitoïdes (Faria et al., 2008).

Il existe des relations mutualistes entre pucerons et fourmis (Way, 1963) dans lesquelles les pucerons bénéficient d'une réduction de la prédation et d'un taux réduit d'infections fongiques (Way, 1963; Völkl, 1992; Fischer et al., 1997 cité par Woodring J., 2004) et dans laquelle les fourmis puisent de l'énergie du miellat qui leur est fourni (Way, 1963; Davidson, 1978).

Enfin, le miellat de puceron semble avoir une influence sur les interactions multitrophiques (Sabri et al., 2013). En effet, le miellat agit comme source kairomonale de contact et un stimulant pour la ponte chez les syrphes (Dixon, 1959; Budenberg et al., 1992; Sutherland et al., 2001; Verheggen et al., 2008).

1.4. Nuisibilité

En 2010, l'Institut technique de l'agriculture biologique (ITAB) affirme qu'il est impossible de chiffrer précisément les dégâts causés par les pucerons dans le monde tant les infestations diffèrent d'une année à l'autre, que les surfaces et les variétés de cultures sont nombreuses et que les dommages indirects peuvent être confondus avec des conséquences d'autres ravageurs.

On parle de dégâts directs lorsque les dommages engendrés par les pucerons ont une cause mécanique. D'une part, ceux-ci peuvent être dus à un détournement de la sève du phloème. Ils sont alors dépendants de la durée de présence, de la quantité de pucerons sur la plante et du stade de développement de la culture. Les conséquences de ce détournement de sève sont principalement une croissance réduite, un avortement des fruits ou une diminution du poids des grains ou des fruits (ITAB, 2010). D'autre part, les dégâts directs peuvent également être imputés aux sécrétions salivaires dont les composés chimiques produisent des décolorations foliaires, des déformations et des nécroses (Auclair, 1963). Parmi ces composés, on peut citer les enzymes salivaires suivantes : les pectinases, les catalases, les peroxydases. Le développement de galles peut aussi être observé en périphérie des piqûres (Anders, 1958; Auclair, 1963; ITAB, 2010).

Lorsqu'on mentionne les dégâts indirects causés par les pucerons, on fait référence aux phytovirus qu'ils transmettent. Près de la moitié des virus de plantes sont ainsi véhiculés par les pucerons (Blackman et al., 2017). L'ampleur des dommages liés à ces derniers varie évidemment selon la maladie induite et l'espèce porteuse du virus. A titre d'exemple on peut citer : le virus de la jaunisse nanisante de l'orge (BYDV) par *Myzus persicae*, *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae* et *Metopolophium dirhodum*, le virus de la Sharka par *M. persicae*, ou encore le virus de la mosaïque du concombre par *A. fabae* et *M. persicae* (INRAE, 2020).

1.5. Moyens de lutte

La lutte chimique contre les pucerons a débuté il y a plus d'un siècle avec des produits à base de nicotine. Aujourd'hui, ce sont les traitements à base de pyréthrinoides de synthèse qui sont les plus utilisés pour lutter contre ces ravageurs (ANSES et al., 2016). Bien que remise en question actuellement, l'utilisation massive de produits phytosanitaires et l'énorme potentiel démographique des pucerons ont cependant favorisé la sélection de populations résistantes à la plupart des

insecticides disponibles sur le marché (Francis et al., 1998; Vanlerberghe-Masutti et al., 2007; Barrès et al., 2017; INRAE, 2020). De plus, certaines substances actives contenues dans ces traitements, telle que l'imidaclopride, affectent négativement la densité d'auxiliaires de culture comme le braconide *Aphidius colemani*, la coccinelle *Harmonia axyridis*, le chrysope *Chrysoperla rufilabris* ou encore l'Hyménoptère parasitoïde *Aphytis melinus* (Roubos et al., 2014; Mohammed et al., 2018). L'utilisation d'imidaclopride est interdite depuis 2018 en Europe bien qu'autorisée, sous serre et pour le traitement des semences, sous certaines conditions énoncées par le Règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen (Phytoweb, 2020). A ce jour, certains produits systémiques sont toujours d'application (SCAM, 2020). Parmi ceux-ci se retrouvent le Teppeki®, marque de produit déposée par Belchim à base de flonicamide, le Movento®, déposé par Bayer à base de spirotétramate et le produit Closer™ de Corteva à base de sulfoxaflor.

De manière à pallier les problèmes écologiques et sanitaires causés par la lutte chimique, en lutte intégrée, c'est une combinaison de moyens de lutte préventifs et curatifs qui sont favorisés. Cette lutte peut passer notamment par l'emploi de variétés de plantes résistantes aux pucerons. En effet, certaines variétés commerciales de melon se sont vu insérer un gène de résistance contre *Aphis gossypii*. Cependant, l'utilisation massive de ces variétés a mené à la sélection de populations de pucerons capables de se développer sur ces dernières (INRAE, 2020).

Enfin, le recours aux ennemis naturels ou auxiliaires de cultures constitue également un moyen de lutte possible et intégrable à un schéma de traitements curatifs. Parmi les prédateurs du puceron, on peut citer certaines Coccinellidae et leurs larves (*A. bipunctata*, *H. axyridis*, *Coccinella septempunctata*...), certaines larves de Syrphidae (*E. balteatus*, *Sphaerophoria scripta*...), certains Anthocoridae, Cecidomyiidae, Miridae ou encore Chrysopidae (Alhmedi et al., 2007a; Alhmedi et al., 2007b; Voynaud, 2008; Mohammed et al., 2018; INRAE, 2020).

En complément à cette technique de lutte biologique, des leviers environnementaux peuvent être utilisés tels que la création de niches écologiques favorables aux auxiliaires, le placement de pièges à pucerons à proximité des cultures et l'établissement de barrières physiques telles que des haies ou brise-vent qui freinent la dispersion des individus ailés. L'adaptation du calendrier cultural permet également d'échapper aux phases de colonisation des pucerons (INRAE, 2020).

2. La prédation intragilde

2.1. Définition

Polis et collègues (1989) énonçaient les fondements théoriques de la prédation intragilde (IGP) et la définition de cette notion qui est toujours d'actualité. Le terme «prédation» est à considérer au sens large, c'est-à-dire qu'il concerne tout organisme exploitant un autre organisme, des parasitoïdes aux pathogènes en passant par les prédateurs classiques. Quant au terme «gilde», il fait référence à une notion plus vaste que celle définie à l'époque comme étant un groupe d'espèces qui exploitent de manière équivalente la même classe de ressources environnementales (Root, 1967). En effet, une guilda correspond à tous les taxons issus d'une communauté qui concurrent pour une même ressource, alimentaire ou spatiale et qui, de ce fait, entrent en concurrence quelques soient les stratégies mises en place (Polis et al., 1989). Les espèces spécialistes font partie d'une seule guilda alors que les espèces généralistes pourront être reprises dans plusieurs guildes (Lucas, 2019). La

prédation intragilde est donc une interaction entre deux organismes qui utilisent des ressources similaires et sont donc des concurrents potentiels dans laquelle l'un va tuer et/ou manger l'autre (Polis et al., 1989).

2.2. Espèces concernées

Cette interaction implique trois acteurs : la proie intragilde (IGprey) qui est le compétiteur, prédateur intermédiaire, le prédateur intragilde (IGpredator) qui est le top prédateur et enfin la proie extra-gilde (XGprey) qui est la ressource partagée par les deux premiers acteurs (Polis et al., 1989; Lucas, 2001, 2019).

Etant fortement répandue, elle concerne une large gamme de groupes taxonomiques (Polis et al., 1989, 1992; Rosenheim et al., 1995; Lucas, 2001) allant des invertébrés (Rosenheim et al., 1995; Lucas, 2005; Almohamad et al., 2010a) aux vertébrés (Palomares et al., 1999; Sergio et al., 2008; Say-Sallaz et al., 2019). On retrouve des cas de prédation intragilde aussi bien dans des environnements terrestres aériens que dans des milieux marins ou d'eau douce, naturels ou artificiels (Morrison et al., 1997; Lucas, 2001; Armsby et al., 2006; Duncan et al., 2019; Say-Sallaz et al., 2019).

Enfin, l'IGP est un phénomène qui ne s'observe pas exclusivement chez les espèces prédatrices (Lucas, 2001) mais bien dans diverses stratégies alimentaires. En effet, elle se produit entre des espèces détritiphages (surtout nécrophages et coprophages) (Sales et al., 2016), omnivores (Parkyn et al., 2001) et même entre des espèces phytophages (Wilson et al., 1996; Reader, 2003).

A titre d'exemples d'IGP, on peut citer premièrement la relation existante entre certains scorpions attaqués par des veuves noires via leurs toiles qui sont-elles-mêmes attaquées par ces mêmes scorpions, une fois au sol (Polis et al., 1986). Deuxièmement, du côté des écosystèmes marins, on peut citer l'étoile de mer du genre *Pisaster* qui se nourrit d'escargots prédateurs du genre *Thais* et tous deux mangent des mollusques du genre *Mytilus* (Dayton, 1984).

Plus particulièrement chez les insectes, on peut citer notamment la prédation intragilde entre le carabe *Anchomenus dorsalis* et les parasitoïdes *Aphidius ervi* et *Aphelinus abdominalis* tous trois prédateurs du puceron du blé *Sitobion avenae* (Traugott et al., 2012).

2.3. Caractéristiques de la prédation intragilde (IGP)

Lucas (2005) énonça les trois situations auxquelles l'IGP peut aboutir : premièrement, l'IGprey est tuée et consommée par le IGpredator (IGP sensu stricto), deuxièmement, l'IGprey est tuée mais non consommée par le prédateur (interspecific killing) ou troisièmement, la proie n'est pas tuée mais la prédation intragilde l'affecte de manière sublétales (unlethal IGP).

La prédation intragilde peut être caractérisée par son intensité, sa symétrie et sa direction (Polis et al., 1989; Lucas, 2019). L'intensité de l'interaction va quant à elle définir son occurrence. En ce sens, l'IGP peut-être sporadique comme systématique (Lucas, 2019). Dans la première version de sa définition, elle est dite asymétrique lorsque le premier organisme est constamment le prédateur intragilde et le deuxième la proie intragilde. On parlera d'IGP symétrique lorsque la prédation est relativement mutuelle et que les deux organismes sont tantôt la proie intragilde tantôt le prédateur intragilde (Polis et al., 1989; Lucas, 2001). Cette notion de symétrie est alors affinée par Lucas en 2019 grâce à la notion de direction de la prédation. Celle-ci, correspondant au sens de l'interaction, peut être unidirectionnelle si les individus concernés sont invariablement le prédateur ou la proie ou elle

peut être mutuelle si les deux espèces échangent de rôle durant leur cycle de vie (Lucas, 2019). La symétrie sert alors à caractériser une IGP mutuelle. La prédation réciproque est asymétrique lorsque la direction de l'interaction va plus souvent dans un sens que dans l'autre et est symétrique lorsque il y a un équilibre dans la domination (Lucas, 2019).

2.4. Facteurs influençant la prédation intragilde (IGP)

Les caractéristiques de la ressource partagée par l'IGprey et l'IGpredator sont des facteurs clés influençant l'IGP. Leur disponibilité, dans le temps et l'espace, va ainsi déterminer l'intensité de la prédation (Lucas, 2005, 2019). De plus, la présence de la proie commune diminue généralement l'intensité de l'IGP (Lucas et al., 1998; Hindayana et al., 2001; Burgio et al., 2002). Dans le cadre de prédateurs aphidiphages, la possibilité de cannibalisme réduit de la même manière l'intensité (Agarwala et al., 1992). Récemment, il a également été prouvé que l'historique de l'alimentation des organismes impliqués influence les interactions d'IGP (Ingels et al., 2015).

La plupart du temps, les proies sont choisies par les prédateurs en fonction de leur taille et non en fonction de leur niveau trophique ou de leurs antécédents alimentaires (Polis et al., 1989, 1992). Une taille corporelle relativement importante étant généralement corrélée à une plus grande vigueur, à des armes plus efficaces et à des mécanismes de défense plus performants (Lucas, 2005) ; les individus plus grands prennent la place du prédateur face à des individus plus petits (Lucas et al., 1998; Hindayana et al., 2001).

La prédation intragilde est favorisée au sein des espèces possédant des structures d'âge ou des stades de développement définis (Lucas, 2001). Les jeunes de nombreuses espèces sont menacés par les espèces avec lesquelles les adultes peuvent entrer en compétition, ou qui s'en nourrissent et dont la taille est similaire à celle de la proie extra guildes (Polis et al., 1992).

L'échelle et la répartition spatiale auxquelles sont réalisées les observations peuvent affecter la fréquence et l'intensité des interactions entre les organismes (Englund, 1997; Janssen et al., 2007). A l'échelle de la plante, certaines caractéristiques de celle-ci fournissant un refuge pour la proie ou réduisant la mobilité du prédateur, peuvent affecter la prédation intragilde. En effet, la présence de trichomes ou de cires végétales sur les feuilles ont déjà montré une influence sur l'IGP (Lucas et al., 1999; White et al., 2000). Des expériences en mésocosme ont démontré que la température peut également affecter la direction de l'IGP, l'IGprey devenant l'IGpredator (Rogers et al., 2018).

Enfin, l'activité humaine, y compris l'utilisation d'engrais, la lutte intégrée ou la lutte biologique, ou la gestion des paysages, peut favoriser ou entraver les interactions entre les espèces prédatrices (Lucas, 2005).

Lucas établissait en 2012 et modifiait en 2019 une liste de 10 règles générales liées à l'occurrence de la prédation intragilde (Figure 8).

1. L'intensité de l'IGP augmente d'autant que la ressource commune est distribuée de manière éparse dans l'espace et éphémère dans le temps.
2. L'intensité de l'IGP diminue d'autant que la densité de la proie commune augmente.
3. L'intensité de l'IGP augmente d'autant que la densité de proie intraguilde augmente.
4. L'intensité de l'IGP diminue lorsque les densités de proies intraguildes et extraguildes augmentent simultanément.
5. L'intensité de l'IGP diminue lorsque l'environnement se complexifie et le nombre de refuges augmentent.
6. Lorsqu'elle concerne un organisme spécialiste et un organisme généraliste, l'IGP est unidirectionnelle et dirigée contre le spécialiste.
7. Lorsque deux organismes généralistes sont impliqués, l'IGP est réciproque.
8. Lorsqu'elle implique des organismes de tailles différentes, l'IGP réciproque est asymétrique, au profit de l'individu le plus imposant.
9. Lorsqu'elle implique des organismes de tailles similaires, l'IGP réciproque est symétrique.
10. Il existe évidemment des exceptions à ces règles.

Figure 8: Dix règles générales liées à l'occurrence de la prédation intraguilde (Traduit de Lucas, 2012, 2019)

2.5. Implications écologiques

L'impact de la prédation intraguilde sur la dynamique des populations et sur le fitness individuel est bien plus complexe que ne le sont, respectivement, ceux causés par la prédation ou la compétition. Il s'agit en effet d'une combinaison de ces deux interactions dans laquelle un des deux protagonistes va recevoir un gain énergétique direct et la compétition potentielle sera réduite (Polis et al., 1989, 1992).

2.5.1. Niveau individuel

Les proies peuvent représenter 50% de la diète d'un prédateur et les gains énergétiques qui en découlent se traduisent par une augmentation de la croissance, de la reproduction et de la survie chez le prédateur (Polis et al., 1989). Ils peuvent être particulièrement importants pour les prédateurs IG qui se nourrissent principalement de plantes (Polis, 1981).

Enfin, la prédation intraguilde peut être considérée comme une force évolutive chez de nombreuses espèces de proies intraguildes pour lesquelles elle a motivé la sélection de stratégies défensives (Polis et al., 1992; Lucas et al., 1998).

2.5.2. Niveau des populations

La prédation intragilde peut modifier les distributions spatiales des prédateurs et des proies intragildes (Moran et al., 1994). On observe que souvent, l'IGprey s'isole de l'IGpredator, ce qui peut résulter d'une réponse évolutive ou d'un comportement d'évitement à court terme, ou peut refléter la mortalité due à l'IGP (Polis et al., 1992). En effet, la pression de la prédation peut pousser la proie intragilde à migrer vers des milieux moins productifs (Polis et al., 1992). Cette migration va alors représenter une réduction de l'abondance de la nourriture pour les prédateurs intragildes et favoriser le déplacement de ceux-ci (Moran et al., 1994). Les conséquences inattendues de l'IGP peuvent mener à des situations désastreuses en terme d'équilibre écologique suite à l'introduction d'espèces exotiques et à la diminution drastique de certaines populations voir l'extinction de celles-ci (Johannes et al., 1961; Caro, 1987; Barkai et al., 1988; Polis et al., 1992). Suite à l'IGP, la diminution ou la suppression de populations de compétiteurs de la ressource partagée va impacter de nombreux systèmes en augmentant la disponibilité de cette proie extra gilde (Polis et al., 1989).

Outre les effets directs de l'IGP, il existe également des effets indirects qui ne sont pas liés à la consommation ou au meurtre de la proie mais qui affectent négativement ou positivement le développement, la physiologie ou encore le comportement de celle-ci (Brönmark et al., 1992; McCollum et al., 1996; Peacor, 2002). De plus, ces effets indirects ne sont pas seulement une force verticale agissant sur la proie, mais peuvent également avoir un impact sur des concurrents conspécifiques et hétérospécifiques du même niveau trophique (Michaud et al., 2016).

2.5.3. Niveau des communautés

Il est difficile de prédire les effets directs et indirects de la prédation intragilde, ce qui rend impossible de dresser une généralité quant à la modifications de ces dynamiques de populations (Hairston, 1986; Polis et al., 1989, 1992). Cependant, l'IGP perturbe significativement les structures des communautés (Hatcher et al., 2014). Certains modèles théoriques suggèrent que la prédation intragilde peut mener à trois situations : à la coexistence, à l'extinction ou à des états stables alternatifs (Polis et al., 1989, 1992).

Il est supposé que la coexistence des prédateurs subordonnés et dominants (IGprey et IGpredator) est une conséquence d'une meilleure exploitation de la ressource partagée par l'IGprey (Lucas, 2001, 2019; Hentley et al., 2016). Certains mécanismes peuvent favoriser la coexistence comme une compétition intraspécifique intense entre les prédateurs dominants. Celle-ci va favoriser la création de refuges pour les prédateurs subordonnés (Rebollo et al., 2017). On peut citer également le faible chevauchement entre les régimes alimentaires prédateurs pendant la saison de reproduction qui favorise la survie du prédateur subordonné car il réduit l'intensité de la compétition (Rebollo et al., 2017). En effet, à partir des différents travaux de Polis&Holt (1989,1992,1997), Rebollo et al. (2017) ont mis en évidence les conditions principales de la coexistence de prédateurs subordonnés avec une haute densité de prédateurs dominants : (1) L'exploitation de la ressource par l'IGprey est plus efficace. (2) L'IGprey n'est pas une proie principale du IGpredator. (3) L'IGprey peut chercher une protection dans des refuges spatiaux.

Par ailleurs, l'IGP peut conduire à l'extinction de l'IGprey, lorsque la pression de prédation exercée par l'IGpredator est trop forte notamment si la disponibilité de la ressource partagée est élevée et favorise une haute densité d'IGpredator (Lucas, 2001, 2019).

Enfin, dans des cas d'IGP mutuel, on peut observer des états alternatifs dans les communautés (Polis et al., 1989). L'espèce qui s'établit en premier va définir la direction de l'IGP et domine souvent via l'élimination des arrivées ultérieures. Cependant, on peut observer des changements dans la symétrie de l'IGP en fonction des densités de prédateurs, de la taille et des stades de croissance, ou de la photopériode (Polis et al., 1989; Lucas, 2019).

2.6. IGP et biocontrôle

La guildes des ennemis naturels représente l'entité de contrôle des ravageurs, au sein de laquelle de nombreuses interactions peuvent exister telles que la prédation intra guildes (Lucas, 2012). En lutte biologique, les lâchers d'agents biologiques pour contrôler les ravageurs peuvent avoir l'effet inverse (Polis et al., 1989). En effet, comme énoncé précédemment, l'ajout, dans le réseau trophique, d'un nouveau consommateur qui se trouve être un IGpredator peut augmenter la population du ravageur en raison de l'efficacité réduite des prédateurs subordonnés (Ehler, 1996). Diverses situations peuvent s'observer : les auxiliaires relâchés s'attaquent entre eux ou s'attaquent aux ennemis naturels indigènes, ou les ennemis naturels indigènes attaquent l'agent de biocontrôle (Rosenheim, 2005).

Au final, malgré la diversité d'études réalisées à ce sujet (Rosenheim et al., 1995; Snyder et al., 2004; Pochubay et al., 2012; Dumont et al., 2018; Lucas, 2019), les avis sont toujours divergents quant aux effets de l'IGP sur l'efficacité du biocontrôle (Lucas, 2019). Certaines études ont révélé qu'une plus grande diversité de prédateurs peut améliorer le contrôle des phytophages (Snyder et al., 2004), d'autres montrent une augmentation de la population de ravageurs (Pochubay et al., 2012) et certaines démontrent au contraire que l'IGP n'a pas d'effet significatif sur la lutte biologique car celle-ci est déjà majoritairement assurée par l'un des ennemis naturels indigènes (Costamagna et al., 2008).

2.7. Exemple de prédation intraguildes aphidiphage : Coccinellidae-Syrphidae

2.7.1. Définition de la relation

La guildes aphidiphage est constituée d'espèces prédatrices de pucerons ou d'individus appartenant à la super-famille des Aphidoidea (Lucas, 2005). Cependant, si certains prédateurs sont spécialisés sur les pucerons, d'autres ont des habitudes polyphages (Hodek, 1996) ou d'autres encore tels que le miride *Campylomma verbasci* sont zoophytophages (Lucas et al., 2001; Aubry et al., 2017; Dumont et al., 2018).

L'IGP est très répandue dans la plupart des systèmes aphidiphages et peut constituer un facteur de mortalité primaire pour les stades les plus vulnérables de certaines espèces prédatrices de pucerons (Lucas, 2005). Certaines espèces de la guildes restent inlassablement dans le rôle de la proie (Lucas et al., 1998). Les œufs, lorsqu'ils ne sont pas protégés, sont généralement très vulnérables comme c'est le cas pour la coccinelle à sept points (Hironori et al., 1997; Dixon, 2000), de même que les stades nymphaux des prédateurs holométaboliques, immobiles (Lucas et al., 2000). A contrario, les œufs de la coccinelle à deux points, *Adalia bipunctata*, sont protégés contre les prédateurs intraguildes par des composés chimiques (Hemptinne et al., 2000; Omkar et al., 2004).

Les syrphes et les coccinelles aphidiphages sont connues pour exploiter les colonies temporaires de pucerons comme ressources alimentaires et pour diminuer de manière significative l'abondance des

pucerons (Dixon, 1985, 1987). Les larves de syrphes et de coccinelles prédatrices se trouvent sur les mêmes plantes infestées de pucerons et interagissent fortement entre elles lorsque leurs proies deviennent rares (Agarwala et al., 2001). Des observations de terrain ont montré que *H.axyridis* et *E. balteatus* coexistent souvent dans des colonies de pucerons dans différents habitats à Gembloux et en Belgique (Alhmedi, et al., 2007).

Il est prouvé que les coccinelles et les syrphes ont développé des mécanismes comportementaux qui leur ont permis de repérer les lieux des pontes optimaux vis-à-vis de l'approvisionnement en nourriture pour leur descendance, en évitant les colonies de pucerons qui sont déjà exploitées et/ou ne dureront pas assez longtemps pour soutenir le développement de leurs larves (Hemptinne et al., 1993). Les femelles d'*E. balteatus* réduisent leur taux de ponte lorsqu'elles se reproduisent dans des colonies de pucerons contaminées par les traces de larves congénitales et de larves de Coccinellidae hétérospécifiques (Almohamad et al., 2010a) ou lorsque des larves de coccinelles sont physiquement présentes (Putra et al., 2009). En effet, des études de laboratoire ont démontré que les larves d'*H.axyridis* consomment les œufs (Alhmedi, et al., 2007) et même les larves d'*E. balteatus* de même que d'autres espèces de syrphes (Putra et al., 2009; Almohamad et al., 2010a). La larve de coccinelle arbore une stratégie alimentaire qualifiée de «Active-searching» (Lucas, 2005). Inversement, le syrphe *E. balteatus* présente de faibles taux de prédation sur des proies immobiles (Hindayana et al., 2001). Dans la plupart des cas, la taille relative des adversaires détermine la direction de l'IGP, les plus grands individus s'attaquant aux plus petits (Lucas et al., 1998).

2.7.2. La coccinelle à deux points, *Adalia bipunctata* (Linnaeus 1758)

Taxonomie et distribution

Domaine: Biota
Règne: Animalia
Phylum: Arthropoda
Classe: Insecta
Ordre: Coleoptera
Sous-Ordre : Polyphaga
Famille: Coccinellidae
Genre: *Adalia*
Espèce: *Adalia bipunctata* (Linnaeus 1758)

Adalia bipunctata est une espèce arboricole de coccinelles (Dixon, 2000) d'origine ouest-paléarctique et néarctique (Santi et al., 2005). On la retrouve aujourd'hui principalement dans toute l'Europe, en Amérique du Nord, en Corée, au Japon et en Chine (Majerus et al., 1989; Figure 9, CABI, 2020c). Espèce indigène de Belgique, elle fait partie des 60 coccinelles présentes en Wallonie et ne représente pas de danger pour nos écosystèmes (Pascal et al., 2008).



Figure 9: distribution géographique d'*Adalia bipunctata* (CABI,2020)

Morphologie

Polymorphe, elle se présente sous de nombreuses formes allant du rouge au noir, et est contrôlée par de multiples séries d'allèles comprenant au moins 11 allèles à un seul locus. Les formes mélaniques les plus courantes sont la *quadrimaculata* et la *sestupulata* (noir avec quatre et six points rouges, respectivement), et les non-mélaniques sont *typica* (rouge avec deux points noirs) et *annulata* (rouge avec deux taches noires irrégulières ou avec deux grandes taches noires, chacune ayant une ou plusieurs petites taches satellites) (Majerus et al., 1982).

Les coccinelles à deux points adultes mesurent 4 à 5 mm de long et ont une forme ovoïde. La tête et le thorax sont noirs avec des marques jaunes. Le dessous des ailes est noir à brun rougeâtre. Les larves sont allongées, avec un corps mou, et sont noires avec des taches jaunes et blanches. On retrouve un gonflement glandulaire à l'extrémité postérieure des larves qui sert éventuellement à assurer l'adhérence sur les surfaces lisses (Dixon, 2000).



Figure 10: Polymorphisme chez *Adalia bipunctata*. De gauche à droite: les formes *typica*, *quadrimaculata* et *sestupulata* respectivement. (Rutkowski et al., 2019)

Biologie et cycle de développement

Insecte holométabole, *A. bipunctata* subit une métamorphose complète à travers différents stades de développement : œufs, 4 stades larvaires, pupa et l'imago. (Hodek, 1973). Ce cycle de vie peut durer entre 25 et 50 jours en milieu naturel (Iablokoff-Khinzorian, 1982 via Francis, 2003).

Les œufs, obtenus par fécondation de la femelle, sont jaunes-orangés et s'assombrissent lorsque l'éclosion est proche (Hodek, 1973). En conditions de laboratoire cette période dure entre 2 et 4 jours. Ensuite, l'individu va passer par 4 stades larvaires. Tout d'abord, après éclosion, les larves restent sur leur chorion jusqu'à un jour et mangent souvent des œufs trouvés à proximité, fécondés ou non (Hodek, 1973). Pendant plusieurs jours avant la pupaison, la larve du 4^{ème} stade reste immobile et cesse de se nourrir, elle atteint le stade dit « pré-nymphal ». Ensuite elle utilise l'«organe anal» pour se fixer à une surface et muer (Hodek, 1973). Pendant la pupaison, la nymphe est très sensible à l'humidité (Hodek, 1973) et est une proie facile pour les prédateurs (Lucas et al., 2000). La pupa n'est pas entièrement immobile ; si elle est irritée, la région de la tête se soulève grâce à des secousses du corps vers le haut. La coloration de la nymphe est fortement influencée par les conditions environnementales (Hodek, 1973). A la sortie de la pupa, les élytres de l'adulte qui émerge sont mous, de couleur claire et sans motif. Ils n'acquièrent leur apparence normale que progressivement. En effet, la plupart des changements se produisent en quelques heures. En milieu naturel, la couleur rouge reste plus claire pendant des semaines, voire des mois ce qui permet de distinguer les adultes de la nouvelle génération (Hodek, 1973).

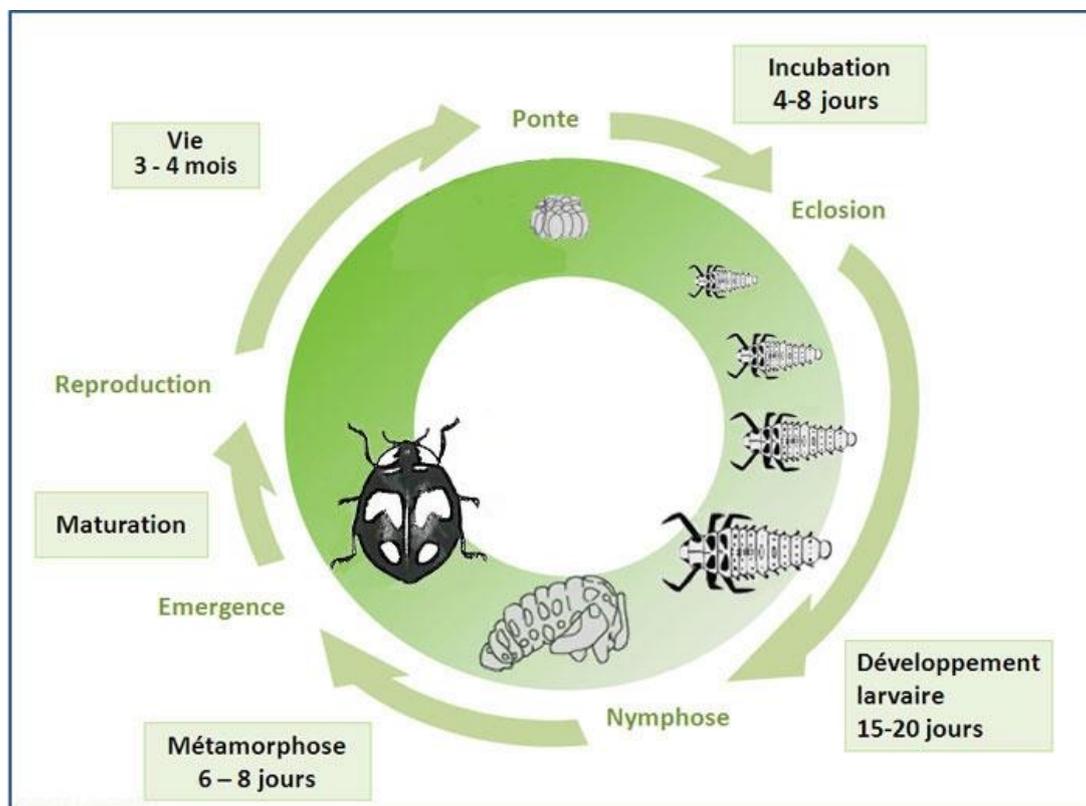


Figure 11: Cycle de développement d'*Adalia bipunctata*. Poidatz J. (KOPPERT). (INRA, 2015)

Comportement alimentaire

Adalia bipunctata est une espèce polyphage avec un large éventail d'espèces de pucerons comme proies (Omkar et al., 2005). La coccinelle à deux points se nourrit également de proies alternatives comme les cochenilles et les acariens (Dixon, 2000; Omkar et al., 2005). Les larves de coccinelles aphidiphages sont des prédateurs particulièrement actifs généralement plus voraces que leur homologues adultes (Balduf, 1935; Lesage, 1991). D'ailleurs, l'imago de la coccinelle attaque généralement la même espèce de proie dont il s'est nourri à l'état larvaire (Clausen, 1940). En quête de proies, elles deviennent très mobiles mais ne peuvent les détecter que lors d'un contact avec leur tête. En effet, elles ne présenteraient pas la capacité à détecter des sources de nourriture à distance (Blackman, 1967).

Des études ont révélé que *A. pisum* était une proie capable de satisfaire tous les besoins nutritionnels d'*A. bipunctata* alors *A. fabae* n'était pas une nourriture adéquate. D'une part *A. fabae* ne permet pas à la coccinelle adulte d'exprimer son potentiel maximum de développement. D'autre part, pour les larves, cette espèce de puceron serait une proie difficile à ingérer et présenterait une faible valeur nutritive (Blackman, 1967). Pour assurer sa survie en cas d'absence de pucerons, *A. bipunctata* peut se nourrir de pollen et de nectar. Cependant, ce régime ne pourra permettre la reproduction (Hodek, 1973).

La coccinelle à deux points se retrouve aussi bien sur les arbres (Ex : *Salix caprea* L.) que dans les végétations herbacées telles que les Apiaceae ou Asteraceae (Hemptinne, 1989). Lorsque les proies deviennent rares dans un habitat, les coccinelles partent à la recherche de nourriture dans les habitats voisins. Elles peuvent ainsi coloniser plusieurs habitats pendant une saison de végétation, en plus de leurs sites d'hivernation (Hodek, 1973).

Comportement reproducteur

Il existe une légère tendance à la protogynie chez *A. bipunctata*, ce qui rend avantageux pour les femelles de s'accoupler et de stocker le sperme pendant une courte période avant la maturation sexuelle (Hemptinne et al., 2001). Les mâles produisent, à moindre coût énergétique, un nombre énorme de spermatozoïdes pour s'accoupler avec plusieurs femelles (Majerus, 1994).

Cependant, les femelles produisent relativement peu d'ovules fertiles et les protègent pour s'accoupler avec les puissants mâles. L'accouplement entraîne certains coûts, tels que la perte d'énergie lors de la copulation, le fait de porter les mâles sur le dos pendant des heures sans se nourrir et le risque d'être infecté par des maladies sexuellement transmissibles (Majerus, 1999).

Les femelles d'*A. bipunctata* déposent des œufs jaunes à oranges par lots (Figure 12). Le nombre d'œufs par lot varie normalement de 11 à 30 (Stewart et al., 1991).



Figure 12: Photographie d'oeufs d'*Adalia bipunctata*. ©Biobest

Cannibalisme

Il est autant probable que des individus de la même espèce ou d'autres espèces de coccinelles servent de nourriture alternative (Hodek, 1973). Dès leur sortie du chorion, les premiers stades larvaires montrent des comportements cannibales envers leur congénères (Hodek, 1973). Lorsque la densité de proies est faible, les jeunes larves ont plus de risques de se faire éliminer par des stades plus âgés puisque dans ce cas, le cannibalisme augmente les chances de survie des larves (Hodek, 1973). Une seconde conséquence de cette pénurie alimentaire est le cannibalisme vis-à-vis des œufs de la part des larves et des adultes (Agarwala et al., 1992). Cependant, *A. bipunctata* réprime en partie ce comportement de cannibalisme en s'abstenant de pondre à proximité de larves conspécifiques (Hemptinne et al., 1993).

Une étude en conditions de laboratoire a montré un moindre taux de développement chez des larves nourries avec des œufs de leur espèce (Koide, 1962). Cependant, les nouveau-nés cannibales de coccinelles ont des taux de croissance et de survie plus élevés, une augmentation de la taille et une meilleure reproduction que les non-cannibales (Agarwala et al., 1992; Gagne et al., 2002).

Comme énoncé précédemment, généralement, une diminution de l'approvisionnement alimentaire augmente la fréquence du cannibalisme (Fox, 1975; Agarwala et al., 1992). Bien que le cannibalisme soit en présence de pucerons en abondance, un niveau de cannibalisme plus faible reflétait une occurrence de rencontre plus faible (Agarwala et al., 1992).

2.7.3. Le syrpe ceinturé, *Episyrphus balteatus*

Taxonomie et distribution

Domaine: Biota
Règne: Animalia
Phylum: Arthropoda
Classe: Insecta
Ordre: Diptera

Sous-Ordre : Brachycera
Famille: Syrphidae
Genre: Episyrphus
Espèce: *Episyrphus balteatus* (De Geer 1776)

On compte plus de 6000 espèces de syrphes dans le monde (Tornier et al., 1991; Pauli et al., 2018). Le syrphe ceinturé, *E. balteatus*, est un des prédateurs aphidiphages le plus abondant en Europe, où il colonise de nombreuses cultures (Poehling et al., 1991). Dans le monde, on le retrouve principalement en Europe, en Afrique du nord, en Asie et en Océanie (Figure 13, CABI, 2020d).

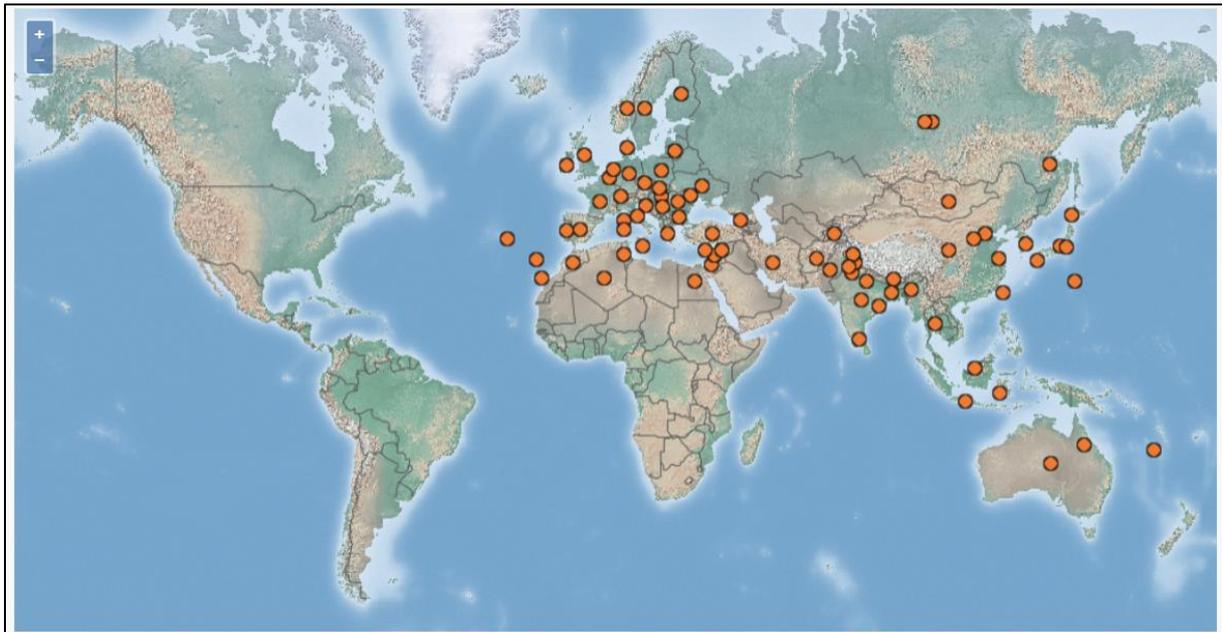


Figure 13: Distribution d'*Episyrphus balteatus* (CABI, 2020)

Morphologie

L'imago mesure entre 10 et 20mm de long (Figure 14). Son thorax noir présente un bouclier marron-jaune. Des rayures noires transversales parsèment l'abdomen jaune (INRA, 2014).

Les larves sont de type vermiforme et acéphale. Elles sont donc aveugles (Rotheray, 1987). Elles sont blanchâtres et mesurent entre 10 et 20 mm de long, avec l'intestin visible au travers du tégument (INRA, 2014).



Figure 14: *Episyrphus balteatus* au stade imago (Quartl, 2011)

Biologie et cycle de développement

A la sortie de l'oeuf, la larve d'*E. balteatus* passe par 3 stades larvaires séparés chacun par une mue (Figure 15). Certaines conditions telles que la température, l'humidité et l'approvisionnement en nourriture vont déterminer la durée de chaque stade. En effet, un taux d'humidité et une température élevés favorisent une éclosion précoce des œufs (Chandler, 1968). L'espèce de proie ainsi que la plante hôte ont un effet significatif sur la durée du développement larvaire et nymphal (Vanhaelen et al., 2002). Le cycle complet de développement peut s'effectuer en 21 jours à 20°C (Ankersmit et al., 1986). Dans des conditions de laboratoire, la durée de vie des femelles peut excéder 30 jours (Caetano, 2019).

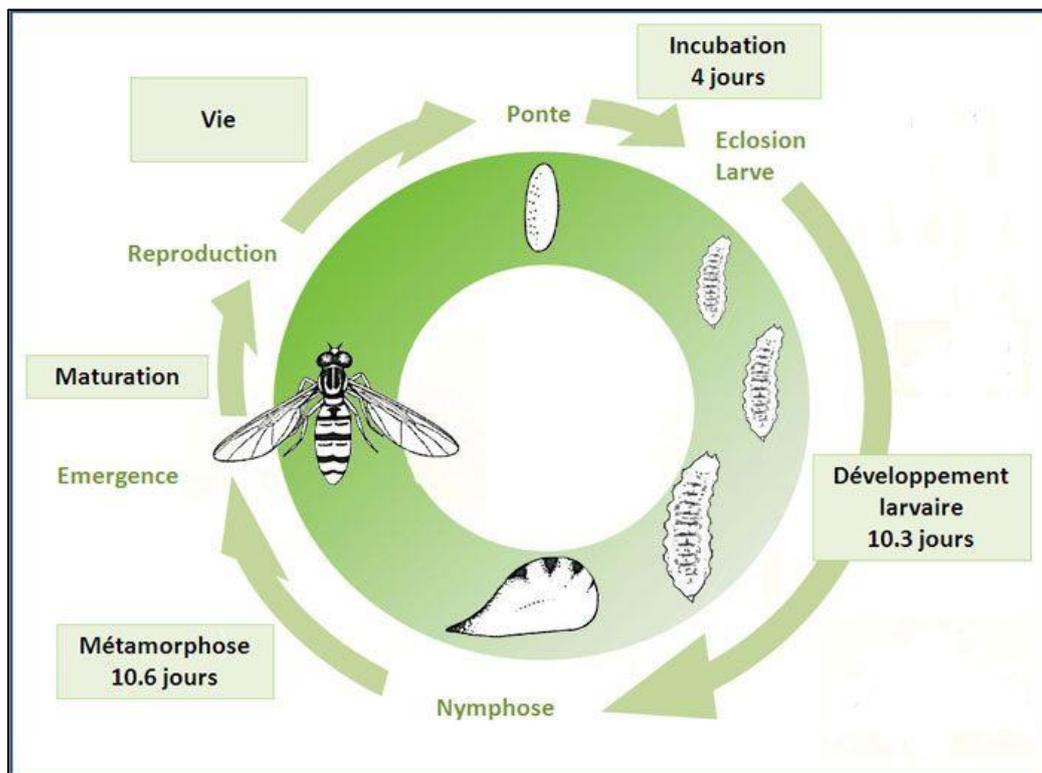


Figure 15: Cycle de développement d'*Episyrphus balteatus* à 17°C. J. Poidatz (Koppert) (INRA, 2014).

Régime alimentaire

Polyaphidiphage, la larve de ce Diptère colonise une large gamme de végétaux et se nourrit de nombreuses espèces de pucerons. Les larves du 2^{ème} et 3^{ème} stade peuvent consommer jusqu'à 1200 pucerons (Tornier et al., 1991; Hemptinne et al., 1993). D'abord, la larve va déployer et balancer le haut de son corps pour repérer ses proies. Après l'avoir immobilisé avec une salive collante, elle perce le puceron à l'aide de ses pièces buccales et aspire alors l'hémolymphe (Rotheray, 1987). A noter, les comportements de cannibalisme ne sont pas observés aussi fréquemment que chez les coccinelles (Hemptinne et al., 1993).

L'adulte de syrpe se nourrit de pollen et de nectar, ce qui est essentiel pour la production d'œufs de la femelle (INRA, 2014). Le syrpe adulte se retrouve sur de nombreuses familles de plantes telles que

les Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cucurbitaceae, Fabaceae, Lamiaceae, Poaceae, Polygonaceae mais montre une nette préférence pour les Apiaceae, Asteraceae, Hypericaceae et Rosaceae (Dor et al., 2011). Cependant, on observe une préférence pour le pollen, chez la femelle, qui favorise la production d'œufs et une préférence pour le nectar chez le mâle dont les besoins énergétiques lors de la recherche de partenaires sont élevés (Caetano, 2019).

Comportement reproducteur

L'accouplement des syrphes a lieu en vol dès la maturation des ovaires, induite par l'ingestion de pollen. Pour une femelle, le choix du lieu de ponte est essentiel et doit répondre à plusieurs critères favorisant le fitness de la descendance (Verheggen et al., 2008). Lors de leur recherche d'un site de ponte, ces insectes sont exposés à divers cocktails chimiques constitués de signaux chémiochimiques émis à la fois par les plantes et par les insectes, tels que le (E)- β -farnésène (E β F), le principal composant de la phéromone d'alarme de la plupart des espèces de pucerons (Francis et al., 2005).

Les œufs d'*E. balteatus*, blanchâtres, oblongs et d'environ 1 mm de long sont déposés sur des plantes infestées de pucerons. Les œufs ne sont presque jamais déposés en groupe, parfois on les retrouve par deux (Chandler, 1968). À 20 °C, une femelle d'*E. balteatus* peut produire en moyenne 500 œufs mais ce chiffre peut monter jusqu'à 1 000 si les conditions sont réunies (INRA, 2014).

Le cannibalisme et la prédation intragilde chez *Episyrphus balteatus*

Le cannibalisme s'observe fréquemment chez les larves d'*E. balteatus* élevées en conditions de laboratoire. Il concerne principalement les larves de troisième stade qui s'en prennent aux œufs (Branquart et al., 1997). En effet, les larves auraient d'avantage tendance à s'affamer plutôt que de s'en prendre à des larves conspécifiques (Krsteska et al., 2017). Cependant, Hindayana et al. (2001) ont tout de même relevé des cas de cannibalisme chez les larves les plus âgées sur les plus jeunes lorsque la densité de pucerons diminue fortement. En conditions naturelles, les cas de cannibalisme sont bien moins observés car les œufs sont déposés à proximité des colonies de pucerons (Branquart et al., 1997).

La prédation intragilde est également courante chez *E. balteatus* bien qu'extrêmement dépendante de la taille des prédateurs. Cette espèce jouera le rôle de proie aux premiers stades larvaires et au stade œuf et de prédateur lorsque la larve atteint une taille supérieure (Hindayana et al., 2001; Putra et al., 2009). Ces interactions intragildes peuvent également influencer le comportement des syrphes comme la présence d'*H. axyridis* à proximité de colonies de pucerons qui pousse à réduire le nombre d'œufs pondus par *E. balteatus* (Putra et al., 2009). En effet, cette espèce de syrphe a tendance à pondre moins là où se retrouvent des traces de larves hétérospécifiques mais également conspécifiques (Almohamad et al., 2010). De nombreux facteurs tels que l'historique de nutrition, la taille, la morphologie des différents acteurs peuvent conditionner cette prédation (Ingels et al., 2015).

3. Motivations et hypothèses de recherche

Dans la lutte biologique contre les pucerons, nombreuses sont les études qui cherchent des solutions efficaces en manipulant certains facteurs externes tels que l'environnement, les ennemis naturels dont les parasitoïdes ou encore les plantes hôtes (Hickman et al., 1996; Rabasse et al., 1999; Brewer et al., 2004; Boivin et al., 2012). Mais qu'en est-il de la proie elle-même ? Et si les réponses se trouvaient dans sa propre biologie ? Dans cette optique, ce travail s'intéresse à un élément majeur de la biologie des pucerons : le miellat. Comme déjà présenté ultérieurement, ce liquide peut agir aussi bien comme

source alternative de nourriture que comme messenger chimique pour les prédateurs aphidiphages (Leroy et al., 2009). Cette sécrétion pourrait-elle également résoudre d'autres problèmes auxquels se heurte la lutte biologique ?

En effet, d'un point de vue théorique mais également expérimental, il n'est plus à prouver que les coccinelles et les syrphes sont deux ennemis majeurs des pucerons. Cependant, les découvertes récentes sur la prédation intragilde amènent de nombreuses questions quant à l'efficacité de ces relations dans la lutte contre les pucerons lorsque ces deux prédateurs sont amenés à interagir (Rosenheim et al., 1995). Diverses études menées sur les prédateurs individuellement ont mis en évidence un certain nombre de facteurs favorisant la réussite ou l'échec des méthodes de lutte biologiques. Lorsqu'on considère l'IGP, il est important d'identifier également les leviers d'action qui permettent une coexistence des prédateurs intraguilides au profit de la lutte. Quant est-il du potentiel du miellat comme levier d'action ?

Enfin, la composition du miellat constitue le point de départ de ces questions. Comme il a été exposé, celle-ci est influencée par de nombreux facteurs. L'intérêt de ce travail est avant tout de parvenir à faire le lien entre cette composition et le comportement, individuel ou réciproque, des auxiliaires, prédateurs de pucerons lorsqu'ils sont en présence de ce miellat de pucerons.

Objectifs

Le présent travail a pour objectif d'identifier les rôles potentiels que peut exercer le miellat dans les relations pucerons-prédateurs avec une approche intragilde. A cet effet, les manipulations tenteront de répondre à 4 sous-objectifs :

Premièrement, aux travers de tests en arènes, le premier sous-objectif tente d'identifier l'effet du miellat de deux espèces de pucerons *A. pisum* et *A. fabae* sur le comportement alimentaire et les relations de prédation existantes entre deux prédateurs aphidiphages, *A. bipunctata* et *E. balteatus*.

Le deuxième sous-objectif, consiste à évaluer les différences d'attraction et de stimulation de ponte chez *E. balteatus* lorsque les femelles sont confrontées à des miellats ayant subi différents vieillissements en tunnel de vol.

Ensuite, le troisième sous-objectif, en complément aux tests fonctionnels, est d'identifier la diversité protéique et de micro-organismes des miellats de ces deux espèces de pucerons. Il s'agit également de déterminer si le vieillissement du miellat lui confère une richesse protéique intéressante. Pour répondre à ce sous-objectif, une analyse des protéines extraites a été réalisée par LC-MS/MS.

Enfin, le dernier sous-objectif est d'établir une base de comparaison des composés volatils émis par *S. sciuri* et les différents miellats vieillis. Pour cela, une micro extraction sur phase solide suivie d'une GC-MS ont uniquement été réalisées sur des échantillons de production bactérienne de *S. sciuri*. Le but étant de mettre au point une base de travail pour des tests futurs comprenant également des injections d'échantillons de miellats vieillis.

Partie expérimentale

1. Matériels et méthodes

1.1. Matériel biologique : Insectes, plantes et bactérie

L'ensemble du matériel biologique utilisé pour ce travail se trouve dans des locaux du laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive de la faculté Agro Bio-tech à Gembloux. Le suivi et la gestion des élevages ont été réalisés personnellement sur la période de juillet à décembre 2020.

Les figures supplémentaires relatives à la tenue des élevages sont présentées en Annexes 1.

1.1.1. Elevage d'*Acyrtosiphon pisum*

L'élevage de pucerons verts du pois utilisé pour ce travail provient de la collection entomologique du laboratoire. Les insectes passent l'entiereté de leur cycle biologique sur des plants de *Vicia faba* semés dans 5 bacs de 32 x 22 x 6 cm chacun et placés à l'intérieur de cages en Nylon (92 x 47,5 x 47,5 cm) de la marque Bugdorm©. Les conditions environnementales sont gérées automatiquement afin de maintenir la pièce à 22 ± 2 °C, de fournir une photopériode de 16 heures de lumière et une humidité relative de $70\% \pm 10\%$. Les plantes sont arrosées régulièrement afin de conserver l'humidité du terreau et sont remplacées par de nouveaux plants, non infestés, de 15 cm de hauteur, toutes les semaines. L'infestation se fait naturellement à partir d'une plante âgée infestée vers les plantes saines disposées dans la même cage.

1.1.2. Elevage d'*Aphis fabae*

L'élevage de pucerons noirs de la fève utilisé pour ce travail provient de la collection entomologique du service et se trouve dans une autre pièce climatisée spécifique sous les mêmes conditions que celles décrites au point précédent.

1.1.3. Elevage d'*Adalia bipunctata*

L'élevage d'*A. bipunctata* a débuté en juillet 2020 à partir de 25 individus adultes et de 50 larves provenant de chez Adalia®. Tous les stades de développement sont élevés séparément dans des boîtes en plastique de dimensions 24x15x8 cm et aérées. Celles-ci sont placées dans une pièce où se trouvent également un élevage de syrphes ceinturés où la température s'élève à 22 ± 2 °C et où l'humidité relative a été maintenue de l'ordre de 80%. *A. pisum* est utilisé pour nourrir les coccinelles aux stades larvaires et pour stimuler les adultes matures en vue d'une reproduction. Les jeunes adultes sont nourris avec du pollen en grains issus d'un élevage biologique et avec du sucre en morceaux. Une éponge imbibée est également placée dans les boîtes des adultes pour répondre à leurs besoins en eau. Enfin, des filtres à café sont pliés en accordéon et placés dans le fond de toutes les boîtes pour d'une part, offrir des abris aux individus et diminuer de ce fait le cannibalisme et d'autre part, servir

de support pour la ponte des œufs (Figure supplémentaire 1). La partie du filtre sur lesquels sont retrouvés les œufs est découpée et transférée dans une nouvelle boîte où seront placés pucerons et filtres à café dès l'éclosion des larves. Les boîtes sont nettoyées et remplacées une fois par semaine au minimum.

1.1.4. Elevage d'*Episyrphus balteatus*

L'élevage de syrphes ceinturés provient de populations de chez Biopol Natural© et du Centre de Recherches Agronomiques Wallon de Gembloux (CRA-W). Les adultes sont dans des cages de vol (109 x 63 x 82 cm), au sein d'une pièce chauffée à $22 \pm 2^\circ\text{C}$ et où l'humidité relative a été maintenue de l'ordre de 80% (Figure supplémentaire 2). Les cages sont surmontées de papiers humidifiés afin de servir de source locale d'humidité, et contiennent une boîte en plastique remplie d'eau dont l'ouverture est bloquée par une éponge naturelle baignant dans le liquide permettant de ce fait, l'hydratation constante des syrphes tout en empêchant leur noyade. Des couvercles de boîtes de pétri sont recouverts d'une fine couche de miel et d'une couche de grains de pollen broyés et placés à l'intérieur de la cage afin d'alimenter les adultes (Figure supplémentaire 3). Les cages, correspondant à une génération donnée, sont nettoyées une fois par semaine.

Les adultes sont stimulés régulièrement via l'introduction de plants de *V. faba* infestés par *A. pisum*. Ces plants qui servent de sites d'oviposition sont alors placés dans des cages en nylon de type Bugdorm© de dimensions 92 x 47,5 x 47,5 cm, elles-mêmes situées dans la pièce d'élevage des pucerons *A. pisum* ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, photopériode de 16 heures de lumière et une humidité relative de $70\% \pm 10\%$). Durant toute la durée de leur développement larvaire, les individus sont nourris *ad libitum* avec des pucerons verts du pois. Dès l'émergence, les imagos sont alors placés dans une nouvelle cage de vol.

1.1.5. Souche bactérienne de *Staphylococcus scirui*

La souche initiale de *S. scirui* provient de l'Uliège et a été stockée dans un congélateur à -80°C . Leur culture suit le protocole utilisé par Leroy et al. (2011) et dans le brevet (Patent No. EP2608665 A2, 2012). Les bactéries ont été repiquées sur un milieu 868 dit YPD, composé de 10g d'extrait de levure, 10g de peptone de caséine, de 10g de glucose et de 17g d'agar par litre d'eau distillée, et incubées à 25°C pendant 48h.

1.1.6. Gestion des semis de *Vicia faba*

Afin de servir de nourriture pour les élevages de pucerons mais également pour les expériences en arènes une trentaine de graines de *V. faba* major L. sont semées dans une barquette de 32 x 22 x 6 cm remplies de terreau universel (Référence: TERS50) provenant de La Plaine Chassart. Le cultivar utilisé est « Grosse ordinaire » et les graines sont issues de l'agriculture biologique. Les semis ont lieu une fois par semaine, à raison de 5 bacs par espèce de pucerons.

Pour les expériences en tunnel de vol, 6 graines du même cultivar sont semées dans un pot carré de 7cm de côté 15 jours avant le jour de la manipulation.

1.2. Echantillonnage de miellat de pucerons

Afin de constituer un banque d'échantillons de miellat d'*A. fabae* et d'*A. pisum*, deux méthodes de récolte ont été mises en place. La première méthode, dit de masse, consiste à placer deux bacs de *V. faba* infestés d'*A. pisum* sur un dispositif permettant de les incliner à 90°C au-dessus de 5 boîtes de Pétri, en verre, de 19 cm de diamètre (Figure supplémentaire 4). Les bacs sont laissés dans cette position pendant 24h, délais après lequel, les disques recouverts de miellat sont récupérés. Soit le miellat est immédiatement récolté (miellat dit de 24h) soit il est laissé à maturer au contact de l'air selon trois modalités (pendant 48h, 72h ou 96h). La récolte se fait, après avoir enlevé, avec un pinceau stérile, tous déchets et exuvies de puceron, à l'aide de 12ml d'eau milliQ pour l'ensemble des 5 boîtes de Pétri et d'un râteau pour étalement stérile.

La seconde méthode, dit de quantification, consiste à placer un bac de *V. faba* infesté soit par *A. pisum*, soit par *A. fabae* sur un dispositif permettant de l'incliner à 60°C au-dessus de 12 disques de 6cm de diamètre découpés dans du papier aluminium (Figure supplémentaire 5). Ces disques en aluminium sont au préalable pesés à l'aide d'une balance Kern Alt (d= 0.1mg ; Max= 250g) et placés individuellement dans des boîtes de Pétri stériles et numérotées. Le bac est laissé dans cette position pendant 24h, délais après lequel, les disques recouverts de miellat sont récupérés. Ils sont à nouveau pesés afin d'obtenir, par différence des masses avant-après, la masse de miellat présente sur le disque. Ensuite, soit le miellat est immédiatement récolté (miellat dit de 24h) soit il est laissé à maturer au contact de l'air selon trois modalités (pendant 48h, 72h ou 96h). La récolte se fait, après avoir enlevé, avec un pinceau stérile, tous déchets et exuvie de puceron, en « grattant » le miellat de chaque disque avec 1ml d'eau milliQ et un râteau pour étalement stérile.

La banque d'échantillons établie est consultable en Annexes 2.

1.3. Tests comportementaux en arènes

1.3.1. Dispositif expérimental

Afin de déterminer l'effet du miellat et/ou de l'espèce de puceron sur différents comportements des deux prédateurs *A. bipunctata* et *E. balteatus*, des tests en arènes ont été menés (Figure 16). Le protocole de cette manipulation a été adapté et élaboré sur base des travaux de Zarei et al (2020) et de Dib (2020).

Pour cette expérience, 12 arènes correspondant à 6 traitements ont été mises en place dans des boîtes de Pétri stériles en plastique de 6cm de diamètre : Contrôle prédation (les deux prédateurs seuls), Contrôle syrphé (larve de syrphé avec pucerons), Contrôle cox (larve de coccinelle avec pucerons), Pucerons-prédateurs (les deux prédateurs avec pucerons), Miellat-prédateurs (les deux prédateurs avec miellat), Pucerons-miellat-prédateurs (les deux prédateurs avec pucerons d'une espèce et miellat de l'autre espèce) (Tableau 1).

Nom du traitement	Nom des arènes	Description
Contrôle prédation	B1 - B2	L'arène contient uniquement une feuille humide et les deux prédateurs
Contrôle syrpe	PoS	L'arène contient une feuille humide, une larve de syrpe et 50 pucerons <i>Acyrtosiphon pisum</i>
Contrôle syrpe	FoS	L'arène contient une feuille humide, une larve de syrpe et 50 pucerons <i>Aphis fabae</i>
Contrôle cox	PoC	L'arène contient une feuille humide, une larve de coccinelle et 50 pucerons <i>Acyrtosiphon pisum</i>
Contrôle cox	FoC	L'arène contient une feuille humide, une larve de coccinelle et 50 pucerons <i>Aphis fabae</i>
Pucerons-prédateurs	Psc	L'arène contient une feuille humide, les deux prédateurs et 50 pucerons <i>Acyrtosiphon pisum</i>
Pucerons-prédateurs	Fsc	L'arène contient une feuille humide, les deux prédateurs et 50 pucerons <i>Aphis fabae</i>
Miellat-prédateurs	PM	L'arène contient une feuille humide, les deux prédateurs et un disque en alu recouvert de miellat de <i>A. pisum</i>
Miellat-prédateurs	FM	L'arène contient une feuille humide, les deux prédateurs et un disque en alu recouvert de miellat de <i>A. fabae</i>
Pucerons-miellat-prédateurs	PMfsc	L'arène contient une feuille humide, les deux prédateurs, 50 pucerons <i>A. pisum</i> et un disque en alu recouvert de miellat de <i>A. fabae</i>
Pucerons-miellat-prédateurs	FMpsc	L'arène contient une feuille humide, les deux prédateurs, 50 pucerons <i>A. fabae</i> et un disque en alu recouvert de miellat de <i>A. pisum</i>

Tableau 1: Description des traitements associés aux arènes

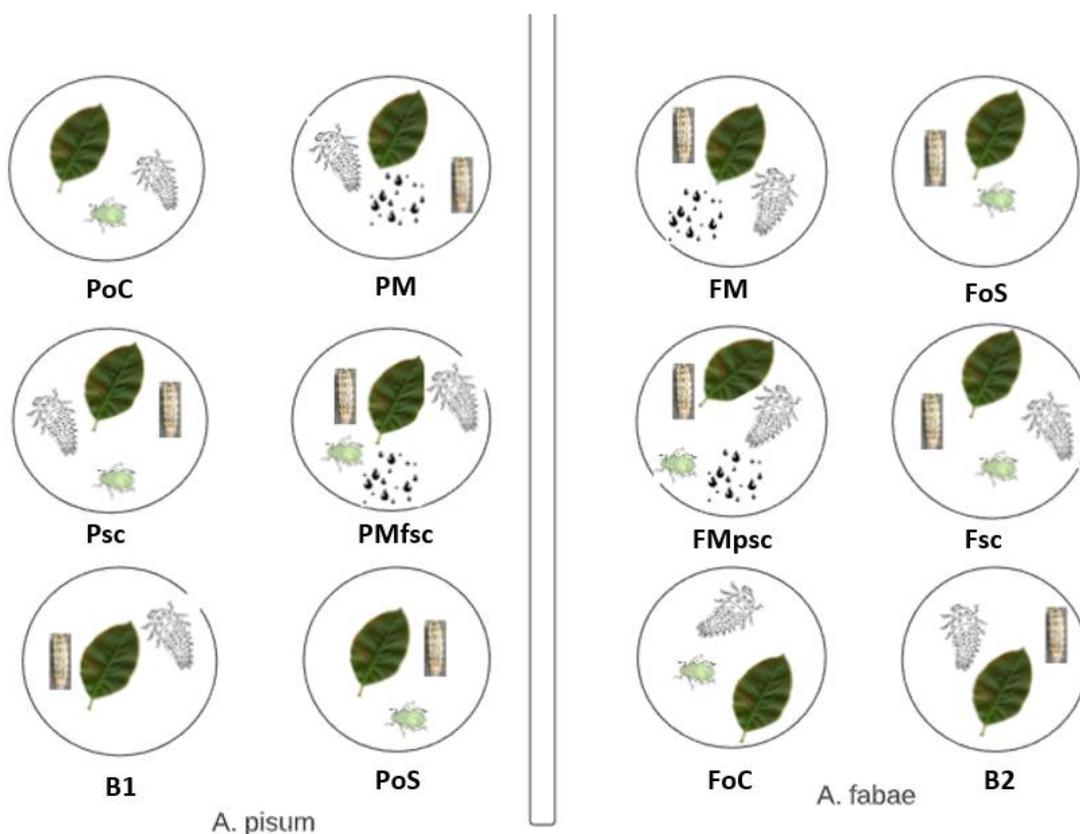


Figure 16: Dispositif expérimental des tests comportementaux en arènes. B1-B2 correspondent au traitement « contrôle prédation ». PoS-FoS correspondent aux « contrôles syrphes ». PoC-FoC correspondent aux "contrôles cox". Psc-Fsc correspondent aux « Pucerons-prédateurs ». PM-FM correspondent aux « Miellat-prédateurs ». PMfsc-FMpsc correspondent aux « Pucerons-miellat-prédateurs ».

Pour se faire, du miellat des deux espèces de puceron a été préalablement récolté selon la méthode de quantification de 24h. Afin de travailler avec des quantités équivalentes de miellat pour les deux espèces de pucerons, il convient de choisir un bac de plants très infestés par *A. fabae* et un bac de plants moyennement infestés par *A. pisum*. Sur les 12 disques en aluminium recouverts de miellat, deux disques dont le poids de miellat est compris entre 30g et 50g sont sélectionnés pour l'expérience. La moyenne pour tous les disques utilisés sur l'ensemble des répétitions de la manipulation est de

4,2mg de miellat. Cinquante larves de pucerons sont placés dans les arènes au départ de l'expérience. Les larves de prédateurs sont isolées et affamées pendant les 24h précédant la manipulation. En outre, pour éviter d'influencer la direction de la prédation intraguilde, il convient de travailler avec des larves de prédateurs de même taille (Lucas, 2001). Une taille de 7mm de long a été fixée lors de tests préliminaires, cela correspond à des individus entre les stades L2-L3 pour les larves de syrphes et entre L3-L4 pour les larves de coccinelle. Enfin une feuille fraîche de *V. faba* est placée dans chaque arène et l'ensemble de celles-ci est installé dans un phytotron réglé sur une température de $23 \pm 1^\circ\text{C}$ et une photopériode de 16 heures de lumière.

Dans chaque arène, la densité de pucerons, la mobilité des prédateurs, l'occurrence des combats entre les deux prédateurs et le comportement de lèche vis-à-vis du miellat sont recensés après 15, 30, 45, 60, 90, 120, 240 minutes et après 20 et 24h (Tableau 2).

Observation	Description	Type de donnée
Densité de pucerons	Le nombre de pucerons vivants restant est calculé et divisé par l'aire de l'arène (28,26cm ²)	Quantitative (puceron/cm ²)
Mobilité des prédateurs	Au temps t, la larve est mobile (M) ou immobile (I)	Binaire (M/I)
Occurrence des combats	Les deux prédateurs sont en pleine confrontation physique (1) ou les prédateurs ne se touchent pas (0)	Binaire (1/0)
Léchage du miellat	La larve lèche le miellat (1) ou la larve ne lèche pas le miellat (0)	Binaire (1/0)

Tableau 2: Détails des observations effectuées sur les arènes.

1.3.2. Analyses statistiques des résultats

L'objectif étant de déterminer si l'espèce de puceron ou la présence de miellat influence les comportements des prédateurs des pucerons divers tests statistiques sont réalisés avec le logiciel R studio 4.0.2.

Les mesures étant réalisées ponctuellement à divers intervalles, il est important de construire un modèle prenant en compte le temps. Dans un premier temps, un modèle a été conçu pour expliquer la variable densité, la variable quantitative. Grâce au package *lme4* (D. Bates, 2020, version 1.1-26), un modèle linéaire mixte (LMM) a été donc établi avec le temps, l'espèce de puceron et leur interaction comme effets fixes et la date de la manipulation comme effet aléatoire. Le package *lmerTest* (A. Kuznetsova, 2020, version 3.1-3) permet de visualiser les P-valeurs et donc la significativité des variables du modèle. Dans un deuxième temps, si la variable espèce puceron montre un effet significatif, le LMM a été ajusté en deux modèles linéaires distincts avec le traitement imposé dans les arènes comme effet fixe et également le temps si celui-ci était significatif. L'utilisation de la fonction *Anova* du package *car* (J. Fox, 2020, version 3.0-10) permet alors de voir la significativité de chacune des modalités de traitement. Si celle-ci est observée, une structuration des moyennes est réalisée via les packages *multcomp* (T. Hothorn, 2020, version 1.4-15) et *emmeans* (R.V. Lenth, version 1.5.3, Septembre 2020) et celles-ci sont réparties dans différents groupes représentés chacun par une lettre.

Ensuite c'est la variable binaire « combat » qui est expliquée grâce à un modèle linéaire mixte généralisé (GLMM) afin d'établir si il y a une différence significative entre le nombre de combats observés et le nombre d'absences d'interaction en fonction du traitement de l'arène et de l'espèce de puceron. Celui-ci est construit avec une distribution d'erreur binomiale et un lien logit, avec le facteur « traitement » considéré comme fixe et de nouveau la date des manipulations comme facteur aléatoire. Si un facteur fixe montre une significativité, une structuration des moyennes est réalisée via

les packages *multcomp* et *emmeans* et celles-ci sont réparties dans différents groupes représentés chacun par une lettre illustrant les différences significatives.

La variable suivante qui a été observée est le comportement de lèchage de chacun des prédateurs. Un modèle linéaire mixte généralisé (GLMM) a été établi par espèce de prédateur avec la même approche que celle décrite précédemment afin d'établir si il y a un effet significatif du traitement de l'arène et de l'espèce de puceron sur l'occurrence du comportement de lèchage.

Enfin, l'effet du traitement et de l'espèce de puceron sur la mobilité des larves sont étudiés via un GLMM construit avec la même approche que celle décrite précédemment pour chacune des espèces de prédateurs avec une distribution d'erreur binomiale, les facteurs fixes « traitement » et « espèce de puceron » et de nouveau la date des manipulations comme facteur aléatoire.

1.4. Tests comportementaux en tunnel de vol pour identifier l'effet du vieillissement du miellat sur les femelles d'*Episyrphus balteatus*

1.4.1. Dispositif expérimental

Afin d'évaluer l'effet du temps sur le miellat et sur les composés volatils émis, une adaptation d'un test de choix binaire a été réalisé en tunnel de vol (Figure 17). Le protocole de cette manipulation s'inspire de travaux précédents dont les expériences au sein du laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive ont servi de tests préliminaires (Contino, 2020; Hulot, 2020).

A cet effet, deux plants de *V. faba* sont placés à l'extrémité d'un tunnel de vol (205 x 82 x 60 cm, éclairage VEGELED). Ceux-ci sont visuellement équivalents, d'une hauteur moyenne de 25cm et présentant 4 tiges. Ils sont placés à 38cm d'écart l'un de l'autre et chacun à 22cm de la paroi du tunnel de vol et à 11cm de l'extrémité du tunnel. Chaque répétition de l'expérience oppose un plant témoin (plant NT, Zone jaune) à un plant traité (Plant T, zone rouge). Le plant traité est aspergé de 3ml de miellat récolté selon la méthode de récolte de masse. Trois modalités sont alternativement étudiées sur le plant traité : du miellat vieilli de 24h, de 48h et de 96h. Pour chaque expérience, 10 femelles d'*E. balteatus* sont aléatoirement choisies dans l'élevage. Le choix des femelles est cependant conditionné par deux caractéristiques sélectionnées arbitrairement : l'âge de la femelle qui doit être de minimum 10 jours depuis l'émergence et l'abdomen qui doit être entièrement rempli. Les femelles sont placées dans une boîte commune centrée au début du tunnel de vol. A l'instant 0 de l'expérience, la boîte est alors ouverte, permettant aux syrphes de s'échapper au même moment.



Figure 17: Dispositif expérimental de l'expérience en tunnel de vol. Les couleurs indiquent les zones du tunnel de vol. Les plants se trouvent du côté du flux d'air. Leurs positions relatives dans le tunnel sont alternées à chaque répétition tout en conservant la convention : la zone jaune pour le plant témoin et la zone bleue, la zone en périphérie ; et la zone rouge pour le plant traité et la zone orange, la zone périphérique. Les syrphes démarrent de la boîte centrée au début de la zone verte.

La position des syrphes est relevée à différents intervalles de temps : 15, 30, 45, 60, 90, 120 et 240 minutes. Celle-ci est relative à des zones du tunnel préalablement définies (Tableau 3). A l'issue des 240 minutes, le nombre d'œufs pondus sur chaque plant est comptabilisé. L'expérience a été réalisée 9 fois à raison de 3 répétitions par modalité de traitement.

Nom de la zone	Description
Zone départ	Boîte de départ
Zone Rouge	Sur le plant traité (T)
Zone Jaune	Sur le plant témoin (NT)
Zone Orange	Autour du plant traité
Zone Bleue	Autour du plant témoin
Zone Verte	Tout le reste du tunnel

Tableau 3 : Description des différentes zones du tunnel de vol illustrées à la figure 17

1.4.2. Analyses statistiques des résultats

Les traitements statistiques des résultats ont été effectués via le logiciel R Studio 4.0.2. Dans l'intention d'évaluer si le temps influence la répartition des femelles syrphes par rapport aux deux plants (N et NT), un modèle général linéaire mixte (GLMM), avec une distribution d'erreur binomiale et avec une fonction de lien logit a été construit via le package *lme4* (D. Bates, 2020, version 1.1-26), en considérant le facteur temps comme facteur fixe et le facteur date de la manipulation comme facteur aléatoire. Afin de savoir si la variable explicative du modèle, le temps, est significative, un test chi carré de Wald (Type II) est réalisé via le package *car* (J. Fox, 2020, version 3.0-10). Si l'hypothèse nulle est rejetée, à savoir si le temps n'a pas d'effet sur le modèle, cette variable explicative est retirée du modèle. Le nouveau GLMM obtenu permet alors d'établir si il y a une différence significative entre le nombre de syrphes présents sur le plant témoin et ceux présents sur le plant traité. Si une différence significative se présente entre le nombre de syrphes présents sur les témoins et les plants traités, il convient de vérifier si les 3 modalités de traitements présentent des différences significatives en terme d'attractivité. Pour cela, un modèle général linéaire mixte (GLMM), avec une distribution d'erreur binomiale et un lien logit est établi avec le facteur traitement considéré comme fixe et de nouveau la date des manipulations comme facteur aléatoire.

Afin de considérer le potentiel du traitement par rapport à l'induction de la ponte, à la fécondité sont analysés avec un modèle général linéaire mixte (GLMM), avec une distribution d'erreur de poisson puisque le nombre d'œuf est une donnée de type comptage. Les facteurs du modèle sont les modalités de traitements comme facteur fixe et la date comme facteur aléatoire. Un test chi carré de Wald (Type II), package *car*, est ensuite réalisé pour évaluer le rôle de la variable traitement sur la fécondité. Dans le cas où le facteur traitement est significatif, un test de comparaisons 2 à 2 des moyennes est réalisé via le package *emmeans* (R.V. Lenth, version 1.5.3, Septembre 2020).

1.5. Extraction génomique et protéomique

1.5.1. Préparation des échantillons et homogénéisation

Le protocole d'extraction (Figure 18) a été adapté de la méthodologie renseignée par le fournisseur du kit Allprep DNA/RNA/Protein (Qiagen, 2014).

Les échantillons sont sortis du congélateur à -80° au préalable afin de permettre une décongélation lente. Après homogénéisation des échantillons via le vortex, 1ml de miellat pour les échantillons d'*A. pisum* et 1,5ml de miellat pour ceux d'*A. fabae* est transféré dans un Eppendorf de 2ml et centrifugé pendant 5 minutes à 10.000 tours par minute (rpm pour revolution per minute en anglais). Le surnageant est prélevé à la pipette en prenant soin de laisser l'ensemble des culots dans l'Eppendorf. Le tampon RLT (tampon de lyse Qiagen), auquel du β -mercaptoéthanol a été préalablement ajouté, est alors déposé sur les culots et l'ensemble est soumis au vortex pour assurer une lyse complète des cellules. Le lysat est entièrement récupéré à la pipette et transféré dans une colonne QIAshredder (Qiagen), elle-même placée dans un tube collecteur de 2ml. L'ensemble est ensuite centrifugé 2 minutes à 14.000 rpm.

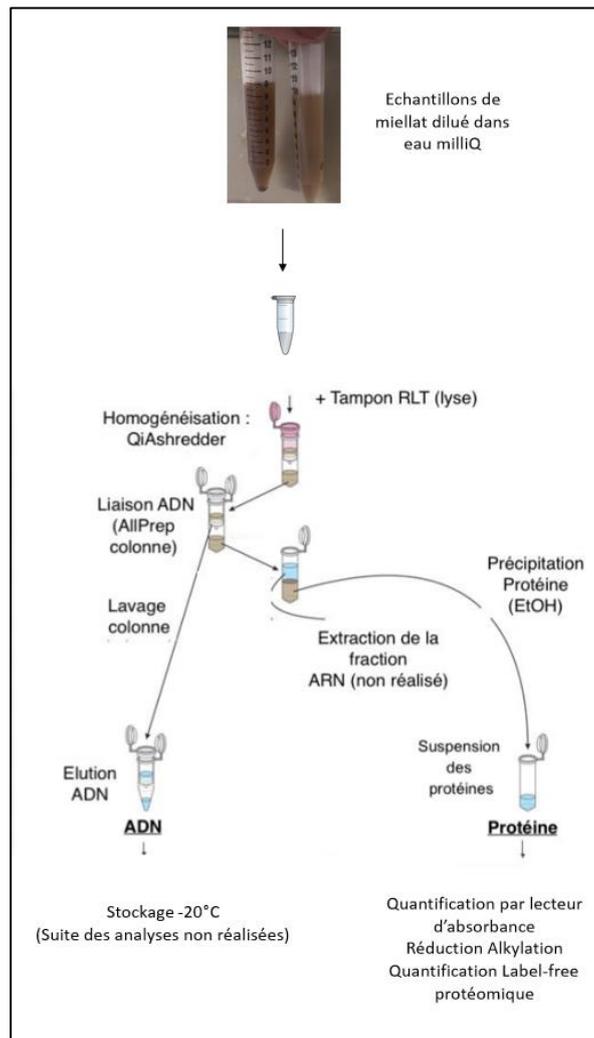


Figure 18: Schéma du protocole d'extraction de l'ADN et des protéines (adapté de Latour et al., 2018)

1.5.2. Extraction de l'ADN et des protéines

Le liquide récupéré dans le tube collecteur placé sous la colonne Qiashredder contient, entre autres, l'ADN et les protéines. Au moyen d'une pipette, celui-ci, de même qu'un éventuel culot, sont transférés sur une colonne Allprep DNA, elle-même placée dans un tube collecteur de 2ml et centrifugée 30 secondes à 12.000 rpm. Le tube collecteur et son contenu sont utilisés pour l'extraction des protéines alors que la colonne Allprep sert à l'extraction d'ADN.

Pour l'extraction de l'ADN, la colonne Allprep est alors placée dans un nouveau tube collecteur de 2ml et le Tampon AW1 y est ajouté afin de nettoyer la colonne une première fois. L'ensemble est centrifugé 15 secondes à 12.000rpm puis le contenu du tube collecteur est jeté. Le Tampon AW2 est alors ajouté à la colonne pour nettoyer une deuxième fois la membrane de la colonne et est ensuite centrifugé à 14.000 rpm pendant 2 minutes. La colonne est ensuite placée sur un nouveau tube collecteur de 1,5ml et le Tampon EB, préalablement chauffé à 70°C y est ajouté. Après 2 minutes d'incubation à température ambiante, l'ensemble est centrifugé 1 minute à 12.000 rpm. Cette dernière étape permet via le Tampon EB, d'élué la colonne. Elle est répétée deux fois afin de garantir une élution complète de l'ADN dans le nouveau tube collecteur. Les tubes sont ensuite stockés au congélateur (-20°C).

Pour l'extraction des protéines, de l'éthanol 100% est ajouté au liquide du tube collecteur. L'ensemble est mélangé à la pipette, immédiatement transféré dans une colonne RNeasy (Qiagen), placée dans un tube collecteur de 2ml et centrifugé 15 secondes à 12.000 rpm. Le liquide du tube collecteur est transféré dans un Eppendorf de 1,5ml avec le Tampon APP (Qiagen) et laissé à incuber pendant 10 minutes à température ambiante afin de faire précipiter les protéines. L'Eppendorf est ensuite centrifugé 20 minutes à 14.000 rpm et le surnageant est prélevé délicatement à la pipette afin de ne pas aspirer le culot qui contient les protéines. De l'éthanol 70% est ajouté à ce dernier et le tout est centrifugé 1 minute à 14.000 rpm. Le surnageant est à nouveau délicatement prélevé à l'aide d'une micropipette et le pellet de protéines est laissé à température ambiante afin de sécher.

1.5.3. Quantification des protéines

Le protocole utilisé pour la quantification des protéines s'inspire du DC Protein Assay (BIORAD).

Pour commencer, les culots de protéines sont remis en suspension dans une solution concentrée à 50mM de bicarbonate d'ammonium (NH_4HCO_3). Afin de calibrer la courbe d'étalonnage, sept standards à base de NH_4HCO_3 sont disposés dans une microplaque à 48 puits (VWR) à raison de trois réplicats par standard. Chaque échantillon est de la même manière déposé dans le fond du puits. L'Agent A (BIORAD) est ensuite ajouté dans chaque puit, suivi de l'Agent B (BIORAD). La plaque est rapidement mise sous agitation puis placée à l'abri de la lumière pendant 15 minutes. L'absorbance est ensuite lue à 750nm avec le lecteur de microplaque à absorbance iMark™ (BIORAD).

1.5.4. Alkylation des protéines

Au regard de la quantification des protéines, les volumes d'échantillons suspendus dans du NH_4HCO_3 sont ajustés afin d'obtenir une quantité normalisée de 5 μg de protéines. Une solution à 500 mM de 1,4-Dithiothreitol (DTT) est ajouté aux 5 μg de protéines et va servir d'agent réducteur des liaisons disulfures. Le mélange est laissé à incuber à 56°C pendant 40 minutes et sous agitation. Lorsque les échantillons ont refroidi, une solution d'iodoacétamide (IAA) y est ajoutée et les mélanges obtenus sont placés 30 minutes à l'abri de la lumière et à température ambiante. Celle-ci sert d'agent alkylant, c'est-à-dire qu'elle va lier les groupes thiol des cystéines pour éviter la reformation des liaisons disulfures. Enfin du DTT est à nouveau ajouté aux échantillons qui sont laissés à incuber 10 minutes à température ambiante avant d'être placés au congélateur (-80°C).

Les échantillons sont envoyés au GIGA (Liège, Belgique) pour une analyse protéomique label-free. Les digestions de trypsine et injections LC-MS/MS sont également réalisées par le GIGA de l'ULiège.

1.5.5. Analyses des résultats du séquençage

En ce qui concerne l'analyse de la partie génomique de l'échantillon, il n'a pas été possible de les intégrer dans ce travail au vu des délais de traitement des échantillons transmis au GIGA et la date de remise de ce travail de fin d'études.

Les analyses LC-MS / MS ont été réalisées sur un Acquity M-Class UPLC (Waters) couplé à un Q Exactive Plus (Thermo Scientific), en mode nano-électrospray à ions positifs au GIGA (ULiège). La colonne piège était une Symmetry C18 5 μm (180 μm x 20 mm) et la colonne analytique était une HSS T3 C18 1,8 μm

(75 µm x 250 mm) (Waters). Les échantillons ont été chargés à 20 µLmin⁻¹ sur la colonne piège dans 98% de solvant A (0,1% d'acide formique dans l'eau) pendant 3 min puis séparés sur la colonne analytique à un débit de 600 nLmin⁻¹ avec le gradient linéaire suivant : conditions initiales 2% de solvant B (0,1% d'acide formique dans l'acétonitrile) ; 5 min 7% B ; 135 min 30% B, 150 min 40% B ; 154 min 90% B jusqu'à 158 min, puis retour aux conditions initiales à 162 min jusqu'à 177 min. La durée totale de l'analyse était de 180 min. La méthode du spectromètre de masse était une méthode TopN-MSMS, où N était réglé sur 12, ce qui signifie que le spectromètre acquiert un spectre Full MS, sélectionne les 12 pics les plus intenses de ce spectre et crée un spectre MS2 complet de chacun de ces 12 composés. Les paramètres d'acquisition du spectre MS étaient les suivants : gamme de masse de 400 à 1600 m/z ; résolution de 70 000 ; temps d'injection maximal de 50 ms. Les paramètres pour l'acquisition du spectre MS2 étaient : fenêtre d'isolement de 2,0 m/z ; énergie de collision normalisée de 28 ; résolution de 17 500 ; temps d'injection maximal de 50 ms.

Les résultats ont été traités par rapport à la banque de données générées « NewAphidSymbiont » regroupant les séquences disponibles de pucerons et de bactéries symbiotiques associées en utilisant Proteome Discoverer v 1.4 (Thermo Scientific) et le serveur Mascot v 2.2.06. Les principaux paramètres de la recherche étaient : une tolérance de 5 ppm sur masse du précurseur et tolérance de 20 mmu pour les fragments MS / MS, enzyme : trypsine (spécifique), maximum 2 clivages manqués autorisés, oxydation de méthionine comme modification variable et carbamidométhylation des cystéines comme modification fixe.

Pour construire les figures présentées, chaque protéine identifiée individuellement a été considérée pour évaluer la diversité totale, y compris également la diversité des organismes associés. Le nombre de protéines des figures 27-29 correspond au total des affectations obtenues. Comme certaines d'entre elles étaient associées à la même protéine mais avec un code d'accension différent, les affectations aux mêmes protéines ont été rassemblées. Il a réduit le nombre d'attributions pour les 4 échantillons de miellat de pucerons. Pour synthétiser fonctionnellement des groupes de protéines d'intérêt particuliers, nous avons décidé de les regrouper par voies métaboliques principales en utilisant la banque de données KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes).

1.6. Analyses de composés volatils issus du miellat d'*Acyrtosiphon pisum*

L'ensemble des manipulations lié à cet objectif est basé sur le protocole de Leroy (2011).

1.6.1. Préparation des échantillons

Un milieu liquide similaire au milieu de culture des souches de *S. sciuri* est réalisé avec 10g de peptone de caséine, 10g d'extrait de levure et 10g de glucose pour un litre d'eau distillée. Le milieu est versé dans deux Erlenmeyer de 500ml, même format. L'un des deux estensemencé avec une colonie isolée d'une boîte de Pétri contenant un milieu 863 avec *S. sciuri*. Les deux erlens sont ensuite placés à l'étuve (Gerhardt) à 25°C toute la nuit et avec une agitation de 125 rpm. Le lendemain, le contenu de l'Erlenmeyerensemencé est versé dans 3 Falcon® de 50ml (ci-après : liquide bactérien) avec uniquement du milieu liquide dans 3 autres Falcon® de même taille (ci-après : témoin). Les 6 contenants sont centrifugés 30minutes à 14°C, à 14.000 rpm puis filtrés avec des filtres stériles (Syringe filters, PES-GF, 0,45µm-30mm). Les nouveaux témoins et liquides bactériens ainsi obtenus sont immédiatement stockés au congélateur à -80°C afin de stopper toute croissance bactérienne éventuelle avant leur utilisation.

1.6.2. Micro extraction sur phase solide (SPME)

Les 4 échantillons (un témoin et 3 liquides bactériens) sont décongelés lentement. A la pipette, 5ml de ceux-ci sont déposés dans 4 vials « headspace » stériles de 20ml (Restek Corporation, Bellefonte, PA). Un à un, avec 24h d'intervalle, les vials sont transpercés avec une fibre préalablement conditionnée à 275°C pendant 30minutes. Une phase stationnaire à large spectre de carbone/polydiméthylsiloxane (CWR/PDMS) a été utilisée sur la fibre SPME (Restek Corporation). L'ensemble Vial-fibre est alors placé pour une durée de 24h dans un bain-marie maintenu à 30°C afin de laisser les analytes être absorbés par la phase stationnaire de la fibre (Figure 19).



Figure 19: Dispositif de bain-marie pour SPME.

1.6.3. GC-MS

L'analyse a été réalisée sur un système GC Agilent 6890N Network couplé à un spectromètre Agilent 5973 Network. La séparation de l'analyte a été réalisée à l'aide d'une colonne capillaire HP-5 MS (30 mx 250 μm x 0,25 μm , Agilent Technologies Inc.). Les spectres de masse ont été enregistrés à 70 eV et la masse scannée variait de 35 à 500 m/z. La température de la source est de 200°C. La fibre a été désorbée en mode "splitless" pendant 3 minutes à 250°C. Le programme de température est initié à 40°C et est maintenu 3 minutes. Ensuite la température monte de 5°C/min jusqu'à 200°C puis de 10°C/min jusqu'à 300°C. La température est maintenue 3 minutes.

La manipulation n'a été réalisée qu'une seule fois.

1.6.4. Analyse des résultats

L'acquisition et le traitement de données sont réalisés via le programme GCMSsolution (Shimadzu). Les pics de hauteur trois fois plus grande que leur base sont intégrés manuellement et identifiés automatiquement via la comparaison des spectres de masse à ceux des bibliothèques FFNSC3, NIST17 1 et 2. La manipulation ayant été réalisée une seule fois, il s'agit ici d'un simple inventaire des molécules volatiles retrouvées et non d'une analyse quantitative. Sur base de la liste des molécules retrouvées dans les différents échantillons, un tableau comparatif de la composition des échantillons est généré. L'ensemble des résultats est également comparé à ceux obtenus par Leroy (2011) et le protocole est discuté de manière critique.

2. Résultats

Les détails des tests statistiques réalisés sont repris en annexe 3.

2.1. Effet du miellat sur le comportement des prédateurs de pucerons

A la fois le temps et l'espèce de puceron ont une influence significative sur la densité de pucerons ($P_{\text{temps}} < 0,001^{***}$; $P_{\text{puceron}} < 0,001^{***}$). Lorsque le modèle est décomposé pour chacune des espèces de pucerons, le temps et le traitement de l'arène influencent significativement la densité de pucerons de *A. pisum* ($P_{\text{temps}} < 0,001^{***}$; $P_{\text{puceron}} < 0,001^{***}$) et de *A. fabae* ($P_{\text{temps}} < 0,001^{***}$; $P_{\text{puceron}} < 0,001^{***}$). L'évolution, en fonction des traitements imposés, de la densité de *A. pisum* (A) et de la densité de *A. fabae* (B) est présentée (Figure 20). Les structurations des moyennes pour la densité de *A. pisum* (Tableau supplémentaire 3) et *A. fabae* (Tableau supplémentaire 5) indiquent que trois groupes distincts existent au sein des traitements, la modalité « pucerons-miellat-prédateurs » présentant l'effet le plus marqué sur la densité. Les différents groupes obtenus sont également représentés sur la figure 20.

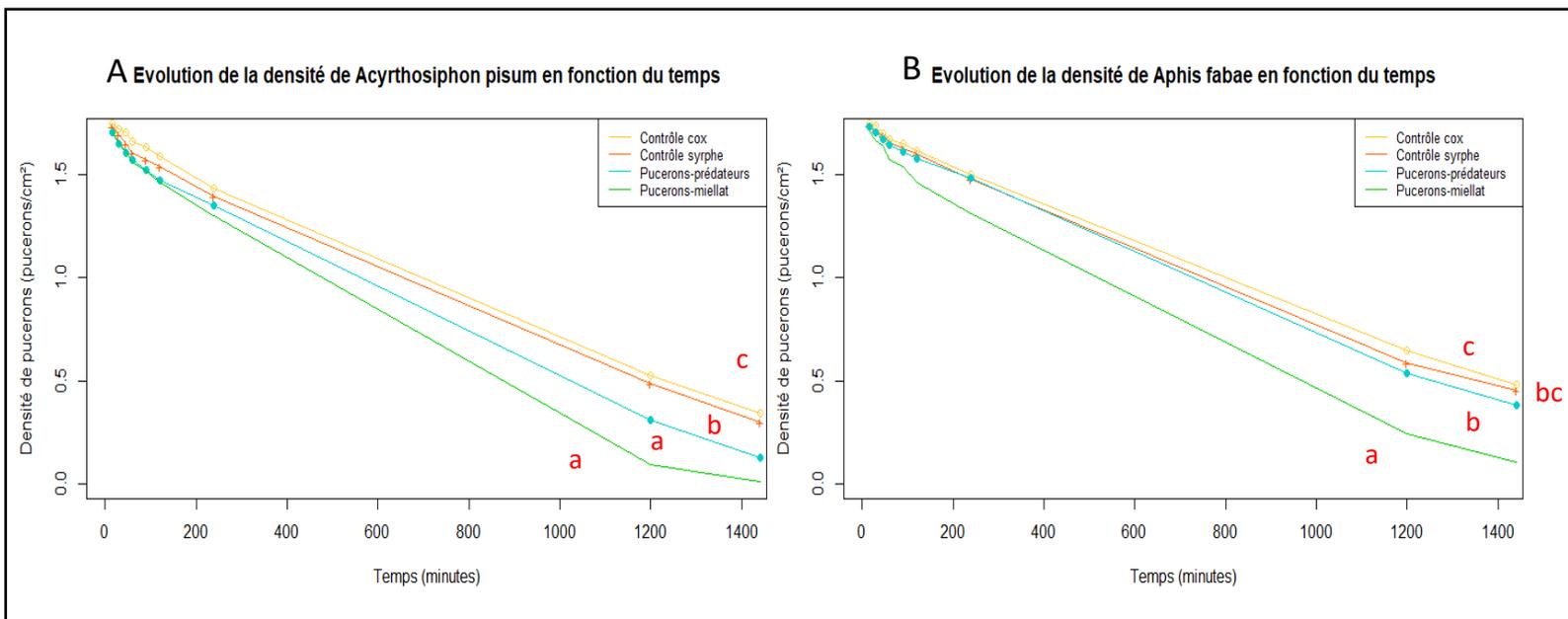


Figure 20 : Evolution de la densité de puceron en fonction des traitements. En A, la densité se rapporte à l'espèce de puceron *A. pisum* et en B à *A. fabae*. Les couleurs représentent les 4 traitements d'arènes qui comprennent des pucerons. La densité de départ est de 1.7 pucerons/cm². Les lettres minuscules représente des différences significatives entre les modalités de traitement.

Le nombre de combat observés en fonction des traitements des arènes est présenté (Figure 21) lorsque *A. pisum* est présent (A) et lorsque *A. fabae* est présent (B). Le facteur traitement a un effet significatif ($P_{\text{traitements}} = 0,006^{**}$) et la structuration des moyennes de chaque modalité fait apparaître 3 groupes différents (Tableau supplémentaire 7). Le traitement « contrôle prédation » est la modalité avec l'effet le plus important sur le nombre de combats observés ($P_{\text{Contrôle prédation - Miellat prédateurs}} = 0,995$; $P_{\text{Contrôle prédation - Pucerons-miellat}} = 0,083$; $P_{\text{Contrôle prédation - Pucerons-prédateurs}} = 0,031$; $P_{\text{Miellat-prédateurs - Pucerons-miellat}} = 0,153$; $P_{\text{Pucerons-prédateurs - Miellat prédateurs}} = 0,066$; $P_{\text{Pucerons-miellat - Pucerons-prédateurs}} = 0,992$).

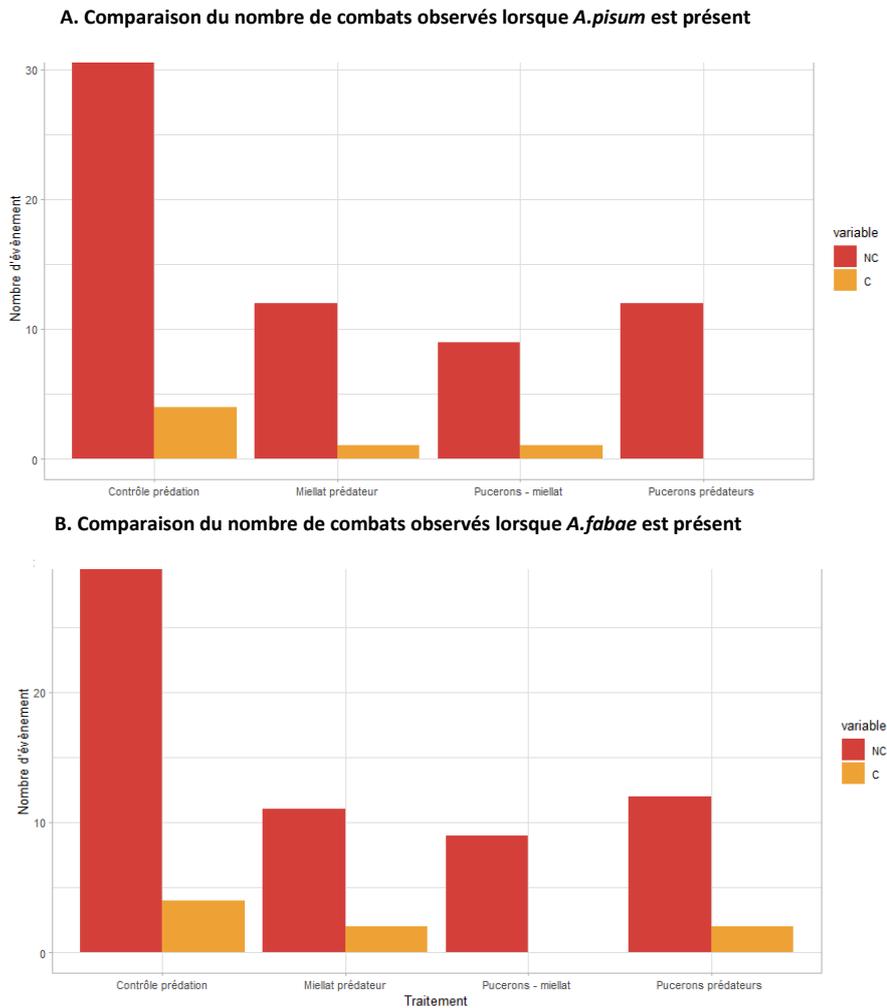


Figure 21: Comparaison du nombre de combats observés par rapport à l'absence de combat en fonction des traitements. De gauche à droite, Contrôle prédation, miellat-prédateur, pucerons-miellat, pucerons-prédateurs. C= Combat. NC= absence de combat

L'analyse des modèles linéaires généralisés mixtes décrivant le comportement de léchage du miellat chez la larve de coccinelle révèle que ni le traitement ni l'espèce de puceron n'a d'effet significatif ($P_{\text{traitement}} = 0,310$; $P_{\text{puceron}} = 0,654$). A contrario, pour la larve de syrpe, le facteur traitement a un effet significatif sur le comportement de léchage du miellat ($P_{\text{traitement}} < 0,001^{***}$; $P_{\text{puceron}} = 0,987$). En effet, la structuration des moyennes répartit les deux modalités selon deux groupes : en A, le traitement « pucerons-miellat » et en B, le traitement « miellat-prédateurs ». Le pourcentage d'apparition du comportement de léchage en fonction des traitements est illustré à la figure 22 avec en A le comportement de la larve de syrpe et en B celui de la larve de coccinelle.

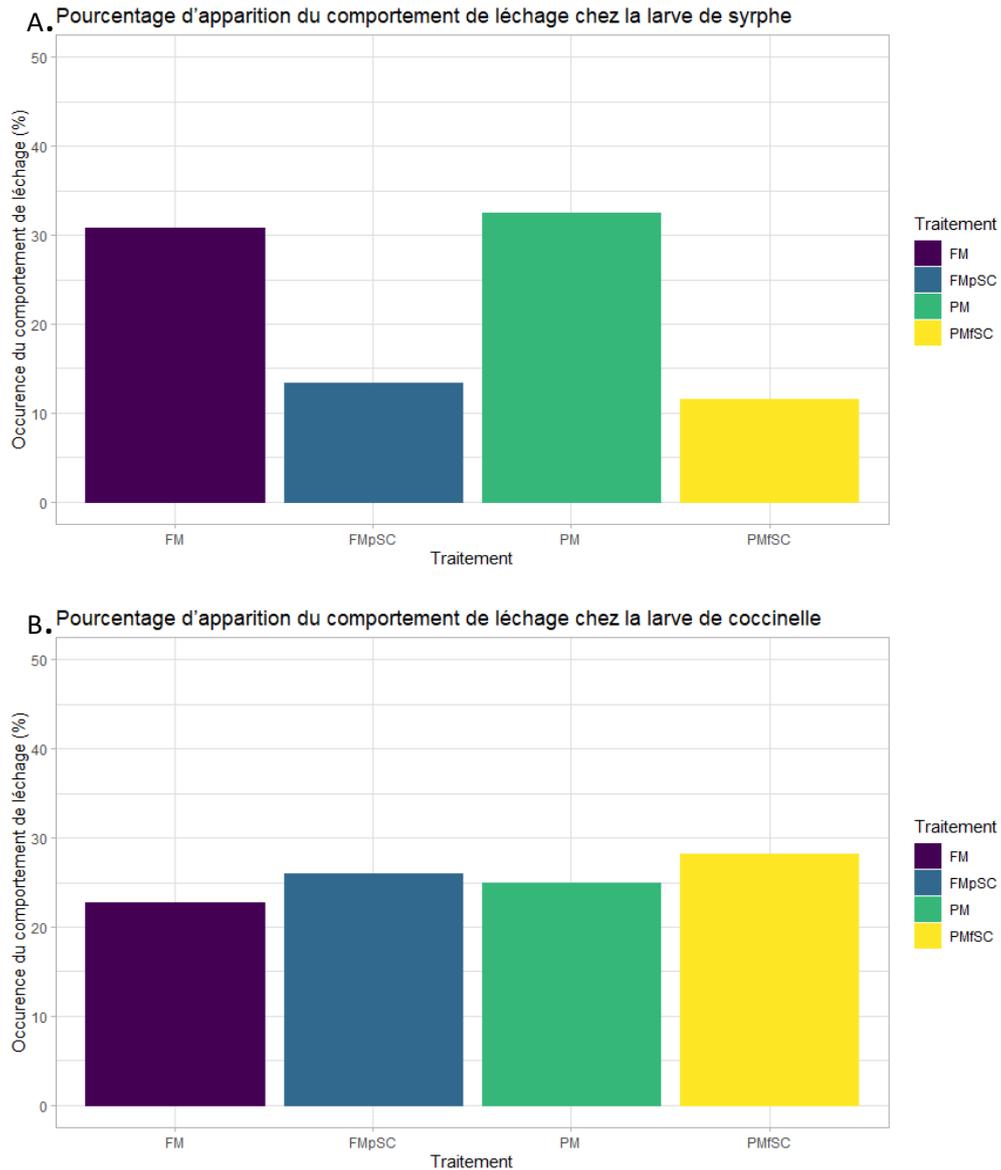


Figure 22: Le pourcentage d'apparition du comportement de léchage en fonction des traitements. En A le comportement de la larve de syrphe et en B celui de la larve de coccinelle. Les couleurs représentent les traitements avec de gauche à droite sur l'axe des x : Miellat de *A. fabae* – prédateurs (FM), *A. fabae* + miellat de *A. pisum* + prédateurs (FMpSC), Miellat de *A. pisum* (PM), *A. pisum* + miellat de *A. fabae* + prédateurs (PMfSC)

Enfin, l'analyse des modèles linéaires mixtes décrivant la mobilité des larves de prédateurs établit que seul le facteur traitement est significatif à la fois pour les coccinelles ($P_{\text{traitement}} < 0,001^{***}$; $P_{\text{puceron}} = 0,232$) et pour les syrphes ($P_{\text{traitement}} < 0,001^{***}$; $P_{\text{puceron}} = 0,302$). L'effet du traitement sur la mobilité de la larve de syrphe (A) et de la larve de coccinelle (B) est présentée (Figure 23). La structuration des moyennes est similaire dans les deux cas, le traitement « miellat-prédateurs » présentant l'effet le plus significatif sur la mobilité des prédateurs est dans le groupe C (Moyenne de mobilité = 59,74% $\pm 2,77$). Le traitement « Pucerons-miellat » est significativement différent de ce dernier et placé dans le groupe B (Moyenne de mobilité = 29,38% $\pm 2,77$). Et pour finir, les 3 derniers traitements sans miellat sont regroupés dans le groupe A (Moyenne de mobilité_{Contrôle syrphe/cox} = 6,94% $\pm 2,77$; Moyenne de mobilité_{Pucerons-prédateurs} = 8,93% $\pm 2,77$; Moyenne de mobilité_{Contrôle prédation} = 10,29% $\pm 3,92$).

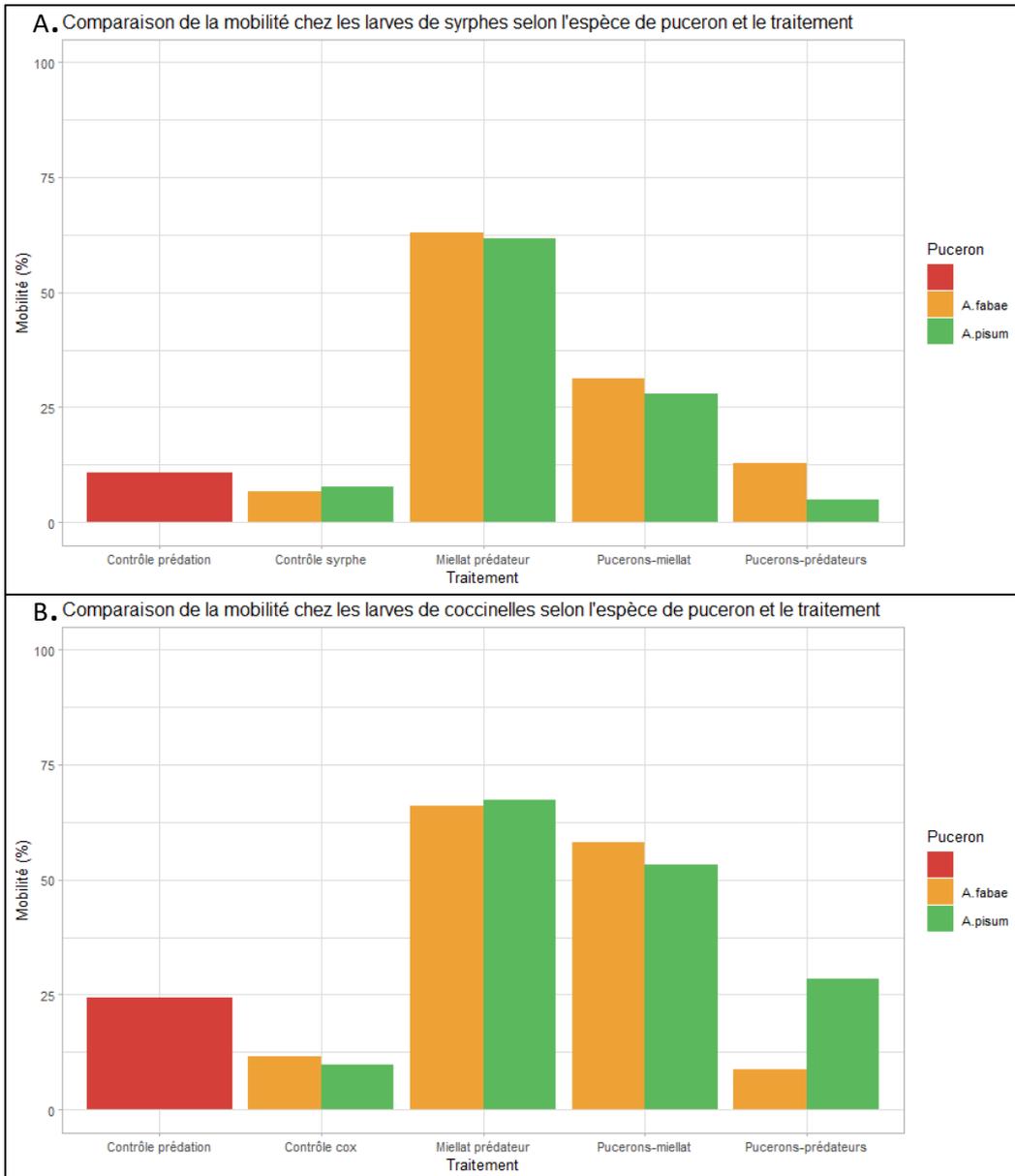


Figure 23: Effet du traitement sur la mobilité de la larve de syrphes (A) et de la larve de coccinelle (B). En rouge, la mobilité dans le contrôle prédation qui ne contient pas de puceron. En orange, la mobilité lorsque *A. fabae* est présent, en vert lorsque *A. pisum* est présent.

2.2. Evaluation de l'effet du vieillissement du miellat sur le comportement du syrpe *Episyrphus balteatus*.

La répartition au cours du temps des femelles d'*E. balteatus* sur les plants traités est illustrée à la figure 24. Le temps n'a aucun effet significatif sur la répartition des syrpes ($P_{\text{temps}} = 0,107$). On observe que dans les trois situations (Figure 25 A, B, C) la courbe du nombre de syrpes sur le plant témoin est toujours inférieure à celle du plant traité. Néanmoins, les trois figures relatives aux trois modalités de miellats n'affichent pas la même tendance (Figure 25). En effet, l'optimum du nombre de syrpes présents sur les plants traités n'est pas atteint au même instant. Pour le miellat de 24h (A), le nombre maximum de syrpes attirés par le plant traité est atteint après 120 minutes alors qu'il est à son optimum après 45 minutes pour le miellat de 48h (B) et après 90 minutes, pour le 96h (C). Cependant pour chacune des modalités, on observe systématiquement un déclin du nombre de syrpes présents sur le plant traité après 120 minutes.

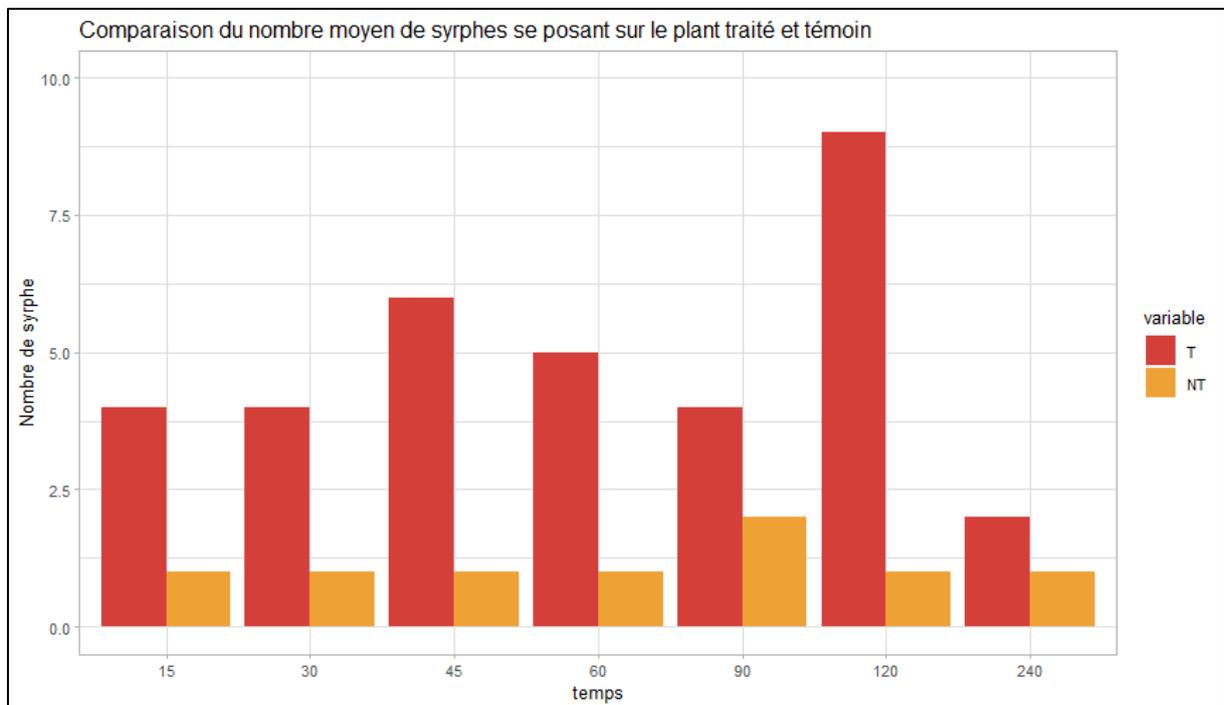


Figure 24 : Comparaison du nombre moyen de syrphes se posant sur le plant traité et témoin. En rouge, le nombre de syrpe sur le plant traité (T). En orange, le nombre de syrphes sur le plant témoin (NT).

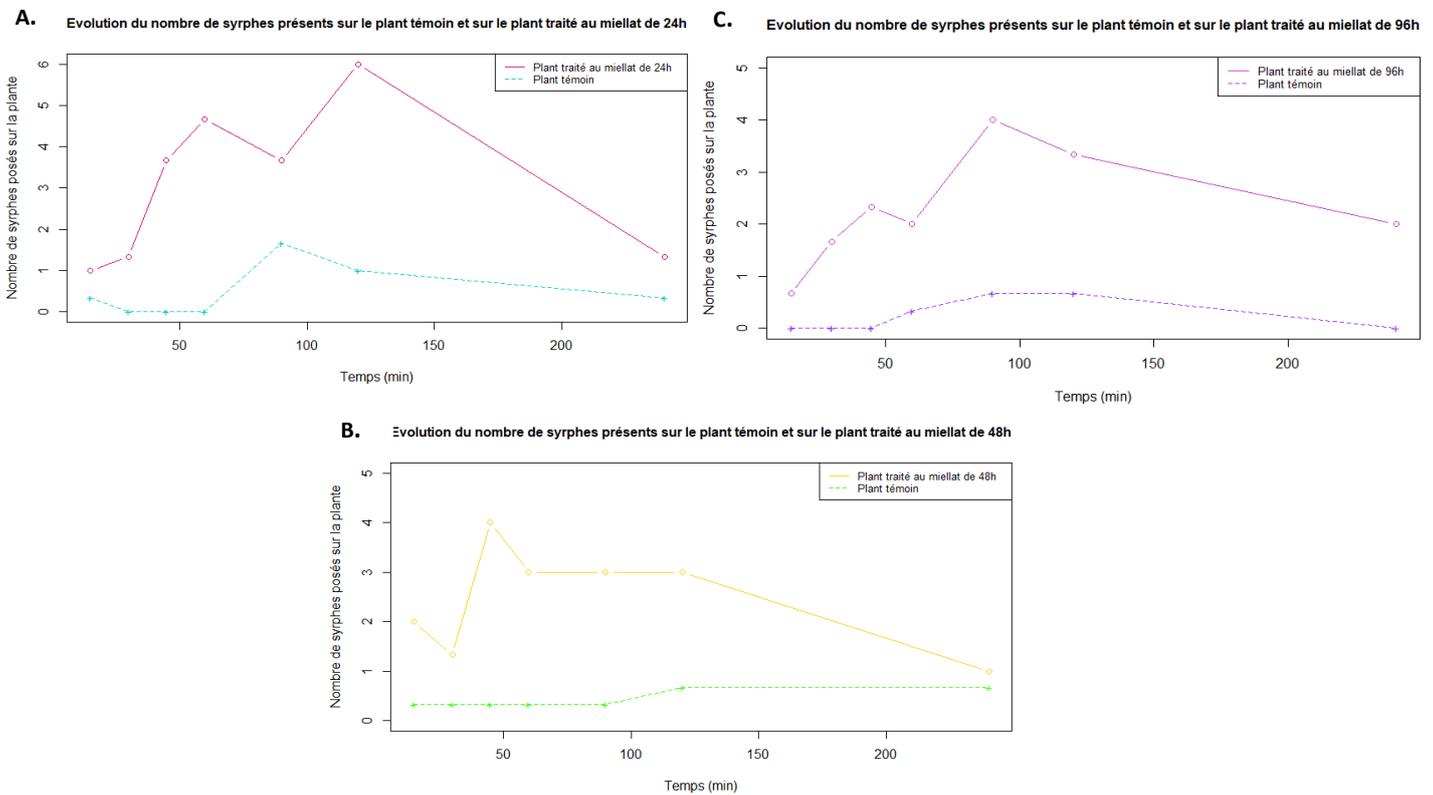


Figure 25: Evolution au cours du temps du nombre moyen de syrphes présents sur les plants témoins et traités. (A) Le plant témoin est opposé un plant traité au miellat de 24h. (B) Le plant témoin est opposé un plant traité au miellat de 48h. (C) Le plant témoin est opposé un plant traité au miellat de 96h.

En outre, quelle que soit la modalité du traitement, à chaque instant, on retrouve plus de syrphes sur le plant traité que sur le plant témoin. Les moyennes du nombre de syrphes retrouvés sur chaque plants, à chaque instant, pour les trois modalités, sont renseignées en Annexe 3 dans le Tableau supplémentaire 17. La distribution des syrphes entre les plants témoins et, traités, quel que soit le traitement, n'est pas due au hasard, les syrphes allant davantage vers les plants traités ($P_{\text{binomiale}} < 0,001^{***}$). Ensuite, aucune des modalités de vieillissement du miellat ne présente de différence significative par rapport aux autres ($P_{\text{vieillessement}} = 0,684$). Cette différence entre le nombre moyen de syrphes présents à un moment donné sur les plants traités est également présentée (Figure 26).

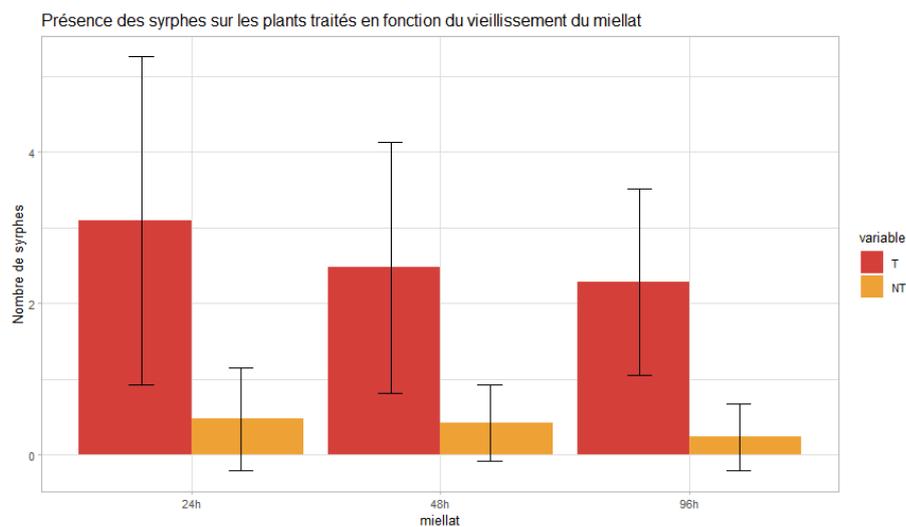


Figure 26: Présence des syrphes sur les plants traités en fonction du vieillissement du miellat.

Quant à l'influence potentielle du traitement par rapport à l'induction de la ponte, l'analyse de la déviance du GLMM construit valide l'effet significatif du facteur traitement sur la fécondité des syrphes ($P_{\text{vieillissements}} < 0,001^{***}$). Une comparaison des moyennes 2 à 2 permet également de répartir les 4 modalités de traitements dans des groupes de moyennes similaires ($P_{\text{NT} - 24\text{h}} < 0,001^{***}$; $P_{\text{NT} - 48\text{h}} < 0,001^{***}$; $P_{\text{NT} - 96\text{h}} < 0,001^{***}$; $P_{24\text{h} - 48\text{h}} = 0,706$; $P_{24\text{h} - 96\text{h}} = 0,023$; $P_{48\text{h} - 96\text{h}} = 0,305$). La fécondité des syrphes sur les plants en fonction de leur traitement est présentée (Figure 27). Les différents groupes obtenus sont visibles et représentés par des lettres minuscules ainsi que les moyennes associées représentées par des points blancs. Un effet significativement supérieur de la modalité de vieillissement de 24h par rapport aux témoins et aux autres modalités a été observée.

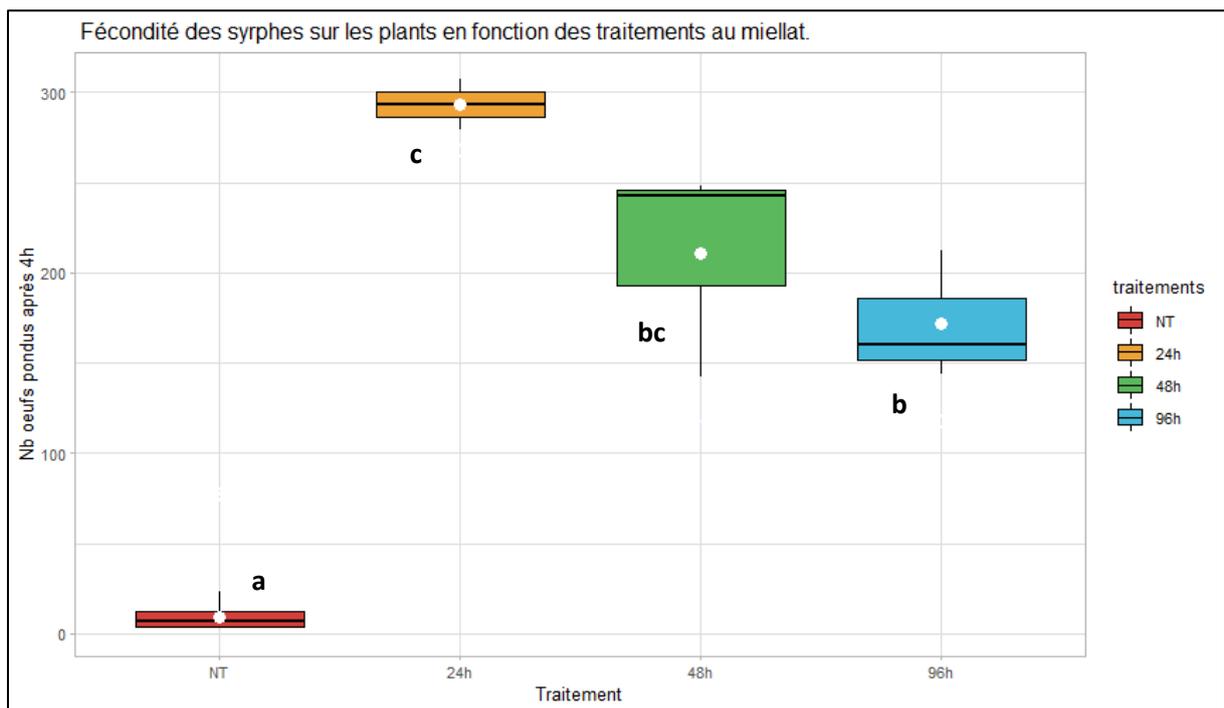


Figure 27: Fécondité des syrphes sur les plants en fonction de l'âge des miellats de pucerons. Les médianes sont représentées par des lignes noires et les moyennes par des points blancs. Les lettres minuscules représentent des différences significatives.

2.3. Identification et analyse de la composition protéomique de différents miellats de pucerons

Deux séries d'échantillons ont été analysées par LC-MS, l'une d'elle correspondant aux miellats d'*A. fabae* n'a donné que peu d'identifications (moins de 10 protéines pour certains échantillons) par rapport à ceux d'*A. pisum*. Il n'était dès lors pas pertinent de comparer ces deux jeux de données comme prévu. La suite des résultats et des discussions porteront donc uniquement sur les 4 miellats relatifs à *A. pisum*.

Un total de 3770 peptides a été identifié sur base des injections en LC-MS/MS des miellats d'*A. pisum*. Parmi ces séquences peptidiques, 2698 ont permis d'identifier 171 protéines avec des fonctions

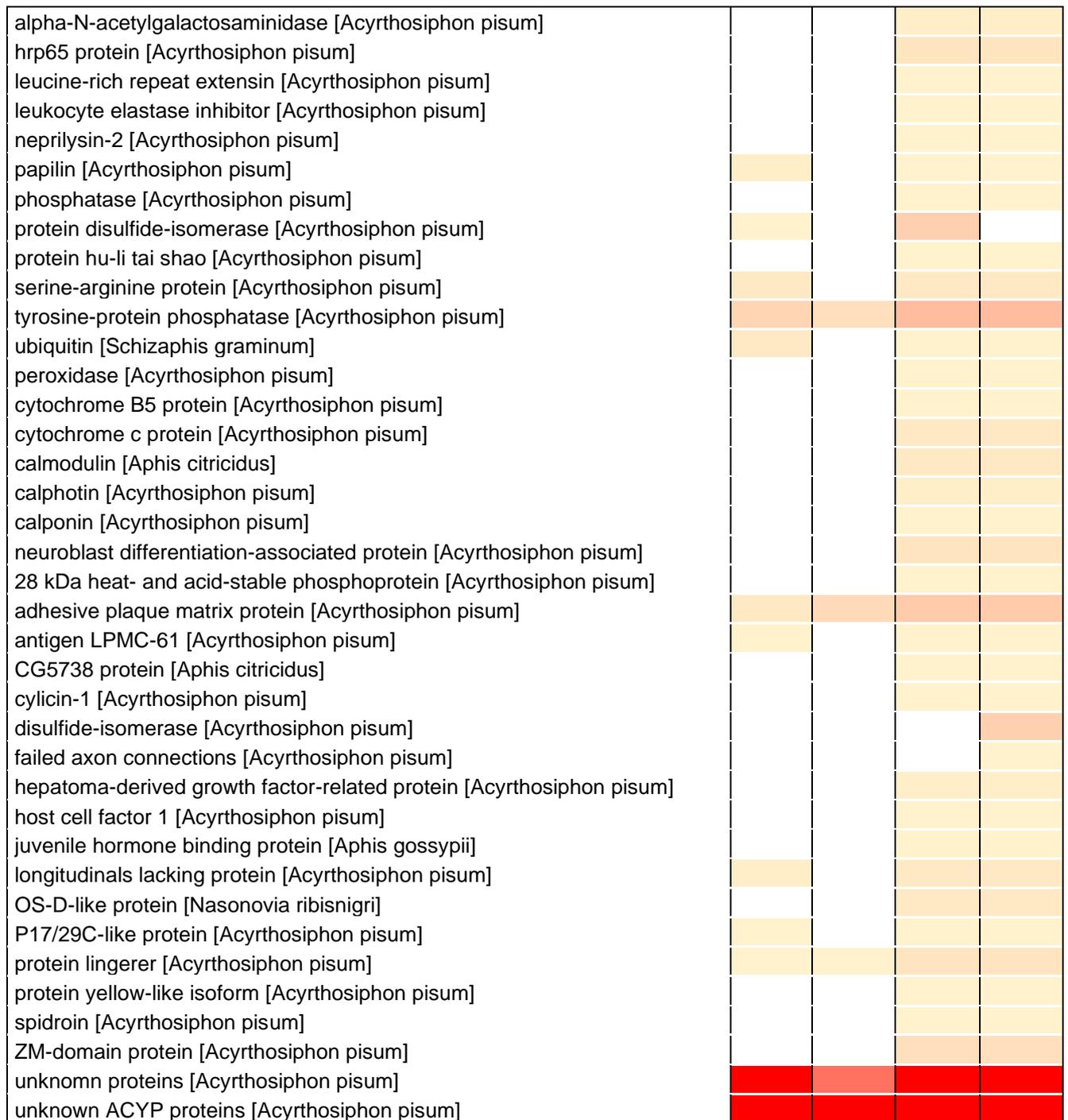
précises, les autres peptides correspondent à des protéines non annotées et regroupées sous le terme « Unknown proteins ». Sur ces 171 protéines, 9% correspondent à des protéines d'origine bactérienne contre 91% originaires du puceron. La diversité des protéines identifiées ainsi que celle des organismes d'origine associés sont présentées sous forme d'une « Heat-Map » dont les couleurs sont proportionnelles aux nombres de peptides identifiés par protéine recensée (Tableau 4). On peut observer une similarité évidente de composition pour les miellats de 72h et 96h, et une nette différence dans la composition du miellat de 48h.

Tableau 4: Heat-Map de la diversité de protéines identifiées dans chaque échantillon.

Protein names and related organisms	24h	48h	72h	96h
Alanine aminotransferase [Acyrthosiphon pisum]				
Enolase-phosphatase [Acyrthosiphon pisum]				
Gamma-glutamyltranspeptidase [Acyrthosiphon pisum]				
Glutamine synthetase [Acyrthosiphon pisum]				
Lamin [Acyrthosiphon pisum]				
2-oxoglutarate dehydrogenase [Acyrthosiphon pisum]				
chitinase 3 [Acyrthosiphon pisum]				
diacetyl/L-xylulose reductase [Acyrthosiphon pisum]				
dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase [Acyrthosiphon pisum]				
enolase [Acyrthosiphon pisum]				
glycogen phosphorylase [Acyrthosiphon pisum]				
phosphoglycerate mutase [Acyrthosiphon pisum]				
pyruvate dehydrogenase [Acyrthosiphon pisum]				
beta-NAC protein [Acyrthosiphon pisum]				
cathepsin B [Acyrthosiphon pisum]				
charged multivesicular body protein [Acyrthosiphon pisum]				
gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase [Acyrthosiphon pisum]				
gelsolin [Acyrthosiphon pisum]				
multivesicular body protein [Acyrthosiphon pisum]				
neurofilament heavy polypeptide [Acyrthosiphon pisum]				
PDZ and LIM domain protein [Acyrthosiphon pisum]				
peroxiredoxin [Acyrthosiphon pisum]				
alkaline phosphatase [Acyrthosiphon pisum]				
actin [Aphis citricidus]				
cofilin/actin depolymerizing factor [Aphis citricidus]				
coronin-1C [Acyrthosiphon pisum]				
cuticle protein [Acyrthosiphon pisum]				
cuticle protein RR1 [Acyrthosiphon pisum]				
cuticular protein [Acyrthosiphon pisum]				
cuticular protein analogous to peritrophins [Acyrthosiphon pisum]				
muscle LIM protein [Acyrthosiphon pisum]				
myosin [Acyrthosiphon pisum]				
paramyosin [Acyrthosiphon pisum]				
prothymosin [Acyrthosiphon pisum]				
skin secretory protein [Acyrthosiphon pisum]				

tropomyosin-1 [Acyrthosiphon pisum]				
tubulin [Acyrthosiphon pisum]				
vegetative cell wall protein [Acyrthosiphon pisum]				
vigilin [Acyrthosiphon pisum]				
205 kDa microtubule-associated protein [Acyrthosiphon pisum]				
ATP citrate lyase [Acyrthosiphon pisum]				
ATP synthase [Acyrthosiphon pisum]				
ATP-dependent hsl protease [Buchnera aphidicola]				
ATP-dependent RNA helicase [Acyrthosiphon pisum]				
cytochrome c oxidase [Acyrthosiphon pisum]				
electron transfer flavoprotein [Acyrthosiphon pisum]				
fructose-bisphosphate aldolase [Acyrthosiphon pisum]				
ubiquinol-cytochrome c reductase [Acyrthosiphon pisum]				
V-type proton ATPase [Acyrthosiphon pisum]				
14-3-3 protein zeta [Acyrthosiphon pisum]				
ABC transporter ATP-binding protein [Spiroplasma melliferum]				
axon connections [Acyrthosiphon pisum]				
collagen alpha [Acyrthosiphon pisum]				
E3 ubiquitin-protein ligase [Acyrthosiphon pisum]				
flocculation protein [Acyrthosiphon pisum]				
guanine nucleotide-binding protein [Sitobion avenae]				
heparan sulfate proteoglycan core protein [Acyrthosiphon pisum]				
laminin [Acyrthosiphon pisum]				
Me10 [Macrosiphum euphorbiae]				
odorant-binding protein [Aphis gossypii]				
paxillin [Acyrthosiphon pisum]				
proliferation-associated protein [Acyrthosiphon pisum]				
staphylococcal nuclease [Acyrthosiphon pisum]				
stress-induced-phosphoprotein [Acyrthosiphon pisum]				
tenascin-X [Acyrthosiphon pisum]				
troponin [Acyrthosiphon pisum]				
zinc finger protein [Acyrthosiphon pisum]				
ataxin [Acyrthosiphon pisum]				
barrier-to-autointegration factor [Acyrthosiphon pisum]				
cold shock protein CspC [Buchnera aphidicola]				
cold-shock DNA-binding domain protein [Serratia symbiotica]				
DNA topoisomerase [Acyrthosiphon pisum]				
DNA-directed RNA polymerase II [Acyrthosiphon pisum]				
dnaJ protein [Acyrthosiphon pisum]				
elongation factor 1-alpha [Acyrthosiphon pisum]				
elongation factor EF-Tu [Regiella insecticola]				
eukaryotic initiation factor 4A [Acyrthosiphon pisum]				
eukaryotic translation initiation factor 4B [Acyrthosiphon pisum]				
far upstream element-binding protein [Acyrthosiphon pisum]				
glutaredoxin [Acyrthosiphon pisum]				
gyrase B [Hamiltonella defensa]				
H/ACA ribonucleoprotein [Acyrthosiphon pisum]				
heat shock 70 kDa protein [Acyrthosiphon pisum]				
heat shock protein [Acyrthosiphon pisum]				
heat shock protein 10 kDa [Acyrthosiphon pisum]				

heat shock protein 60 kDa [Acyrthosiphon pisum]				
heat shock protein 83 [Acyrthosiphon pisum]				
heterogeneous nuclear ribonucleoprotein [Acyrthosiphon pisum]				
high mobility group protein B1 [Acyrthosiphon pisum]				
histones [Acyrthosiphon pisum]				
interaptin [Acyrthosiphon pisum]				
interferon regulatory factor 2-binding protein [Acyrthosiphon pisum]				
mediator of RNA polymerase II transcription [Acyrthosiphon pisum]				
mitochondrial import receptor subunit TOM20 [Acyrthosiphon pisum]				
mucin [Acyrthosiphon pisum]				
myb-like protein Q [Acyrthosiphon pisum]				
NADH dehydrogenase [ubiquinone] [Acyrthosiphon pisum]				
nuclear ribonucleoprotein [Acyrthosiphon pisum]				
nucleolar protein [Acyrthosiphon pisum]				
nucleolar transcription factor [Acyrthosiphon pisum]				
nucleolin 2 isoform [Acyrthosiphon pisum]				
polyadenylate-binding protein [Acyrthosiphon pisum]				
polymerase delta-interacting protein [Acyrthosiphon pisum]				
prefoldin [Acyrthosiphon pisum]				
proline-rich protein [Acyrthosiphon pisum]				
ras GTPase-activating protein [Acyrthosiphon pisum]				
retardation syndrome-related protein [Acyrthosiphon pisum]				
ribosomal protein S7 [Regiella insecticola]				
ribosomal proteins [Acyrthosiphon pisum]				
RNA polymerase II transcriptional coactivator [Acyrthosiphon pisum]				
RNA-binding protein [Acyrthosiphon pisum]				
RpII [Buchnera aphidicola]				
RpS25 [Acyrthosiphon pisum]				
sarcalumenin [Acyrthosiphon pisum]				
TAR DNA-binding protein [Acyrthosiphon pisum]				
transcription elongation factor S-II [Acyrthosiphon pisum]				
translation elongation factor 2 [Acyrthosiphon pisum]				
transport protein Sec61 [Acyrthosiphon pisum]				
ubiquilin-1 [Acyrthosiphon pisum]				
26S protease regulatory subunit 7 [Acyrthosiphon pisum]				
26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 4 [Acyrthosiphon pisum]				
30S ribosomal protein [Serratia symbiotica]				
30S ribosomal protein [Spiroplasma mirum]				
30S ribosomal proteins [Buchnera aphidicola]				
40S ribosomal protein [Acyrthosiphon pisum]				
46 kDa FK506-binding nuclear protein [Acyrthosiphon pisum]				
50S ribosomal protein [Spiroplasma poulsonii]				
60 kDa chaperonin [Buchnera aphidicola]				
60S ribosomal protein [Acyrthosiphon pisum]				
alpha-crystallin [Acyrthosiphon pisum]				
GroEL [Buchnera aphidicola]				
symbionin [Buchnera aphidicola]				
cytosolic thioredoxin peroxidase [Aphis citricidus]				
abhydrolase [Acyrthosiphon pisum]				
nuclear envelope pore membrane protein [Acyrthosiphon pisum]				



Les 171 protéines ont été réparties selon les 4 durées de vieillissement dans un diagramme de Venn (Figure 28). Trente-deux protéines sont communes aux 4 échantillons. Le diagramme de Venn confirme l'idée selon laquelle les échantillons de 72h et 96h sont fortement similaires avec 85 protéines en commun. L'ensemble des endosymbiotes dont des protéines ont été identifiées dans l'un ou l'autre échantillon est présenté (Figure 29). Les échantillons de miellat récoltés après 72h et après 96h présentent un microbiote similaire et plus diversifié que ceux de 24h et 48h.

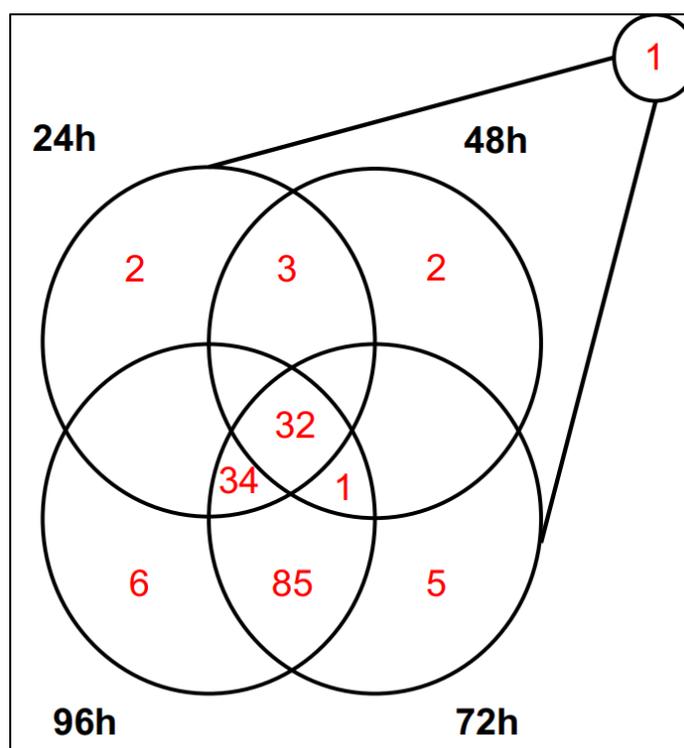


Figure 28: Diagramme de Venn illustrant la répartition des protéines du miellat en fonction de la durée de vieillissement.

Endosymbiotes	24	48	72	96
<i>Serratia symbiotica</i>	Vert	Vert	Vert	Vert
<i>Buchnera aphidicola</i>	Vert	Vert	Vert	Vert
<i>Spiroplasma mirum</i>	Vert	Vert	Vert	Vert
<i>Spiroplasma poulsonii</i>	Rouge	Rouge	Vert	Vert
<i>Spiroplasma melliferum</i>	Vert	Vert	Rouge	Rouge
<i>Regiella insecticola</i>	Rouge	Vert	Vert	Vert
<i>Hamiltonella defensa</i>	Rouge	Rouge	Vert	Vert

Figure 29: Diversité d'endosymbiotes aphidiens dans les différents échantillons de miellat. En vert, présence de protéines de l'endosymbiote. En rouge, absence.

La répartition fonctionnelle des protéines identifiées par voies métaboliques est présentée (Figure 30). Les proportions de répartition sont globalement similaires pour toutes les durées de vieillissement de miellat. Dans les quatre échantillons, la voie métabolique la plus représentée est celle reprise sous la terme « Genetic informations » suivie par la celle nommée « Environnemental informations ». Les voies métaboliques liées aux sucres et aux acides aminés conservent leurs proportions de répartition durant les 4 durées. Enfin, deux voies, qui n'étaient pas présentes dans les échantillons de miellat collectés après 24h et 48h, font leur apparition dans les miellats de 72 et 96h : « Lipids » et « Secondary metabolites ».

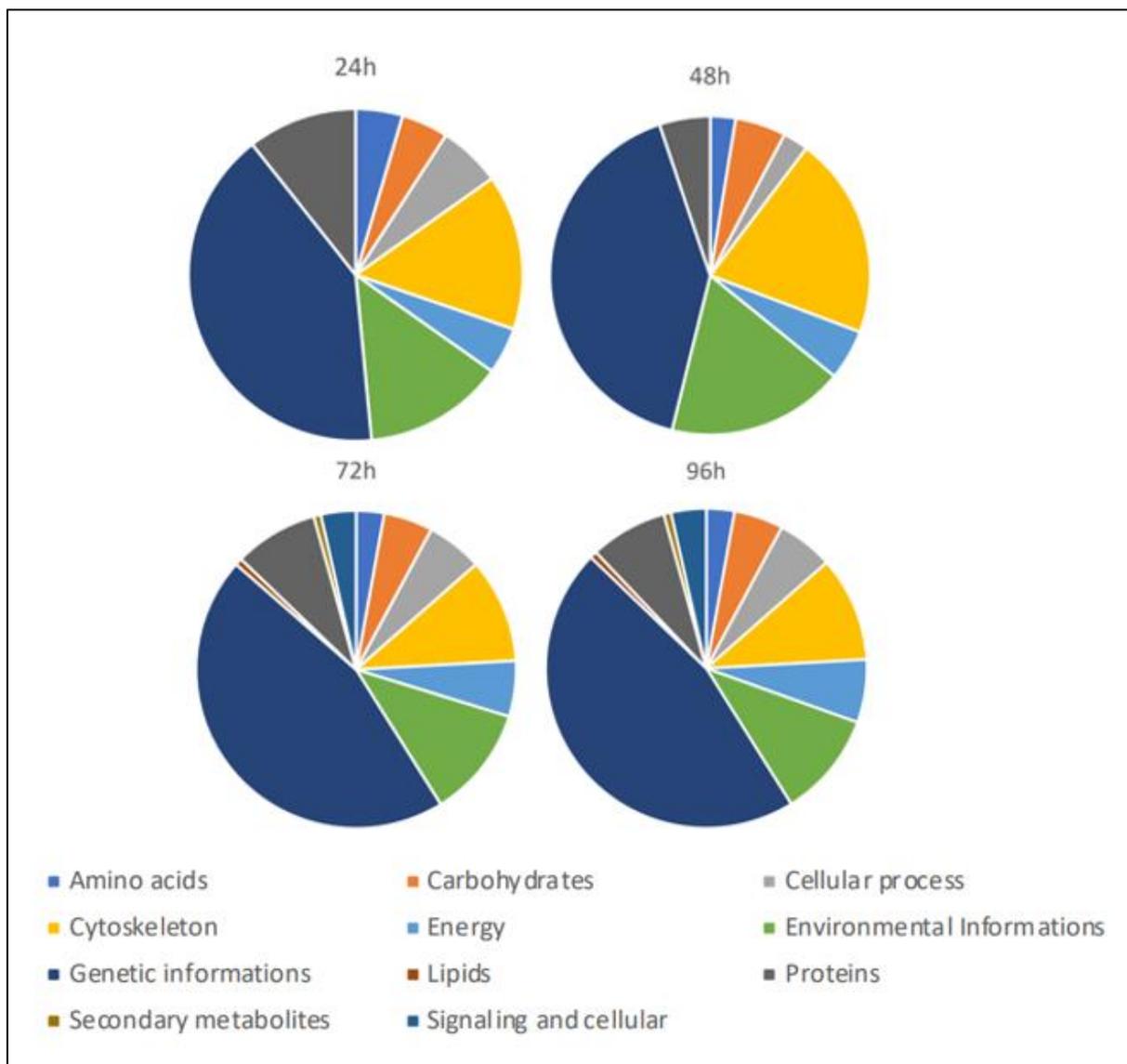


Figure 30: La répartition fonctionnelle des protéines identifiées selon les voies métaboliques. Chaque diagramme représente une durée de vieillissement avec dans l'ordre : 24, 48, 72, 96h.

2.4. Identification des profils volatiles de milieux inoculés avec *Staphylococcus sciuri*

L'annexe 4 reprend les résultats bruts, non triés, obtenus après intégration des pics.

Sur quatre injections, trois ont produit des résultats. On observe une forte différence en terme de diversité entre le témoin et les 2 échantillons qui sont entre eux très similaires. L'ensemble des molécules retrouvées dans les différentes injections est présenté à la Figure 31.

Lorsque les résultats sont comparés à ceux de Leroy (Annexes 5), seulement 3 molécules volatiles d'intérêt provenant du miellat d'*A. pisum* sont retrouvées dans les deux échantillons, il s'agit du Propan-1-one, du 3 méthyl-1-butanol et du 2,5-dimethyl-pyrazine. Certaines divergences de composition sont également à noter : le 3-méthylbutanal n'est retrouvé par Leroy que dans le milieu 863 non inoculé alors qu'il est présent également dans nos deux échantillons. Quant au 2-

méthylbutanal, il est renseigné comme étant uniquement présent dans le miellat brut ou inoculé avec *S. sciuri* pourtant les résultats des spectromètres de masses indiquent sa présence dans les 2 échantillons de milieu 863 inoculés avec *S. sciuri*. Enfin, les deux molécules d'intérêt en terme d'induction de la ponte pour les syrphes et qui étaient la cible de cette manipulation, le 3-méthyl-2-buténal et l'acide 3-méthyl-2- 27 buténoïque ne sont ressorties d'aucune de nos trois injections.

Nom IUPAC du composé	Témoin (milieu liquide 863)	Echantillon 1 (milieu liquide 863 inoculé avec <i>S. sciuri</i>)	Echantillon 2 (milieu liquide 863 inoculé avec <i>S. sciuri</i>)
3-méthylbutanal	vert	vert	vert
2-méthylbutanal	vert	vert	vert
(Méthyldisulfanyl)méthane	vert	rouge	rouge
2,4-Diméthyl-1-heptène	vert	vert	vert
2-Isobutyl-3-méthylpyrazine	vert	rouge	rouge
Dihydroperoxyde de 2,5-diméthyl-2,5-hexanediyle	vert	vert	vert
Benzaldéhyde	vert	vert	vert
2,3-Bis[(2-méthyl-2-propanyl)oxy]-1,4-dioxane	vert	vert	vert
Phénylacétaldéhyde	vert	vert	vert
4-Méthylbenzaldéhyde	vert	vert	vert
2-[(1S)-4-Méthyl-3-cyclohexén-1-yl]-2-propanol	vert	vert	vert
2,4-Bis(2-méthyl-2-propanyl)phénol	vert	vert	vert
Acétone	rouge	vert	vert
3-Méthyl-1-butanol	rouge	vert	vert
Toluène	rouge	vert	vert
2-Méthylpyrazine	rouge	vert	rouge
Acétate de 3-méthylbutyle	rouge	vert	vert
2,5-Diméthylpyrazine	rouge	vert	vert
4-Méthyl-2-heptanone	rouge	vert	vert
Diméthyltrisulfane	rouge	vert	vert
2-Éthyl-5-méthylpyrazine	rouge	vert	rouge
1-(1,3-Thiazol-2-yl)éthanone	rouge	vert	vert
Phénylacétate de 2-(adamantan-1-yl)éthyle	rouge	vert	rouge
Nonanal	rouge	vert	vert
2-Phényléthanol	rouge	vert	vert
1,3-Bis(2-méthyl-2-propanyl)benzène	rouge	vert	vert
Acétate de 2-phényléthyle	rouge	vert	vert
1-Phényléthanone	rouge	rouge	vert
Benzoate de (3-hydroxy-6-oxo-2,3,3a,9a-tétrahydro-6H-furo[2',3':4,5][1,3]oxazolo[3,2-	rouge	rouge	vert
Décanal	rouge	rouge	vert

Figure 31: Liste des composés volatils identifiés à partir des jus bactériens. En rouge: non présent. En vert: présent.

3. Discussion

3.1. Effet du miellat sur le comportement des prédateurs de pucerons

Evaluer l'évolution de la densité de pucerons selon les différents traitements était indispensable pour pouvoir imaginer l'effet général que chaque traitement pourrait avoir dans un cadre de lutte biologique. Il existe une différence entre les deux espèces de pucerons en terme d'appétence vis-à-vis des prédateurs. En effet, la densité d'*A. pisum* diminue plus rapidement que celle d'*A. fabae*. Cette préférence peut être expliquée en partie par le fait que le puceron *A. fabae* est inadapté sur le plan nutritionnel, c'est-à-dire induisant chez le prédateur un taux de survie inférieur et un temps de développement plus long (Blackman, 1967). Cependant, Hinkelman et collègues (2013) ont démontré que bien que *A. fabae* représentait un apport nutritionnel inférieur pour la coccinelle *H. convergens*, celle-ci en consommait d'avantage que *A. pisum* lorsqu'elle a le choix entre les deux espèces. Les auteurs expliquent cela par la facilité de préhension d'*A. fabae* et la technique de fuite d'*A. pisum* qui lui permet d'échapper à son prédateur.

Cette préférence peut-être également expliquée par la spécialisation des larves de prédateurs nourris depuis leur premier stade larvaire avec *A. pisum*. En effet, Rana et al. (2002) établissaient que la spécialisation sur une espèce de puceron entraîne une moins bonne performance sur une autre. De plus, les manipulations ont mis en évidence une efficacité significativement accrue des prédateurs sur les pucerons lorsque ceux-ci sont en présence de miellat d'une autre espèce de puceron. Pour les arènes contenant les deux prédateurs, cinquante *A. fabae* et du miellat de *A. pisum* cela peut être expliqué par une composition du miellat d'*A. pisum* qui reflète leur adéquation nutritionnelle et de ce fait permet d'augmenter l'appétence du puceron noir de la fève. En règle général, l'efficacité du traitement « pucerons alliés au miellat d'une autre espèce » peut être expliquée par l'augmentation de la diversité de proies qui représente une diversité nutritionnelle en terme de protéines et d'hydrates de carbone.

Par ailleurs, ce traitement s'est démarqué également lors des observations de combats entre prédateurs. Ajouter du miellat dans l'arène augmente le nombre de confrontations physiques entre prédateurs. On aurait pu penser que le miellat, en tant que source alternative de nourriture, permettrait de simuler une augmentation de la densité de pucerons. Dans ce cas, on aurait vu l'intensité de l'IGP diminuer (Règle 2, Lucas, 2019). Cependant, en conditions artificielles, la taille de l'arène peut modifier l'intensité de l'IGP, les petites arènes générant des niveaux d'interactions plus élevés (Chang, 1996; Hindayana et al., 2001; Lucas, 2005).

Lorsqu'on résume ces deux premières observations, on remarque qu'en présence de miellat, les prédateurs consomment plus de pucerons mais entrent plus en confrontation également. Une troisième observation permet de justifier ce constat. En présence de miellat, les larves sont significativement plus mobiles. Les composés non-volatils contenus dans les différents miellats (sucres/acides aminés) agiraient comme une kairomone de contact en stimulant la recherche de nourriture chez les prédateurs (Romeis et al., 1997). Ceci augmenterait alors les chances de croiser une proie ou un autre prédateur. Cependant, si les confrontations sont mortelles, il convient de se demander si la lutte contre les pucerons sera toujours aussi efficace avec un prédateur en moins.

La réaction positive des coccinelles au traitement « pucerons + miellat » avait déjà été observée auparavant. En effet, il a été constaté que l'oviposition des coccinelles est d'avantage stimulée lorsque le miellat et les pucerons sont présents simultanément (Evans et al., 1986 dans Leroy et al., 2009). De

plus, Evans et collègues (1997) ont démontré que l'application de miellat, même en présence de pucerons, influençait la dissémination de la coccinelle *C. septempunctata*. Le miellat semble donc réellement être le moteur qui pousse les larves de prédateurs à la recherche de nourriture mais la partie de sa composition (i.e. sucres, protéines ou composés volatiles) responsable de ce changement n'a pas encore pu être identifiée. Il serait également intéressant de déterminer la quantité minimale nécessaire pour observer une différence significative de mobilité.

Quant à la prédation intragilde entre *A. bipunctata* et *E. balteatus* les manipulations n'ont pas permis de mettre en évidence une proie ou un prédateur intragilde fixe. Cela confirme l'hypothèse de départ selon laquelle, à taille égale, la prédation entre ces deux prédateurs généralistes est réciproque et symétrique (Lucas, 2019).

Il serait intéressant de réaliser cette manipulation dans des environnements plus complexes, tels qu'une plante puis un ensemble de plantes. En effet, le nombre d'abris et d'interactions possibles entre les prédateurs et leur environnement peuvent modifier les relations intraguildes et extraguildes (Zarei et al., 2020). Les larves de coccinelles par exemple sont attirées par le bleu et le vert, elles seront donc naturellement attirées vers les plantes hôtes contenant des colonies de pucerons et moins en recherche active de nourriture (Dimetry et al., 1976).

3.2. Evaluation de l'effet du vieillissement du miellat sur le comportement du syrphe *Episyrphus balteatus*.

L'objectif de cette manipulation était d'évaluer les différences de pouvoir attractif ou stimulant de ponte chez *E. balteatus* lorsque les individus sont confrontés à des miellats vieillis de 24h à 48h, 72h et 96h.

La répartition, au cours du temps, entre les plants traités et non traités au miellat, révèle que quel que soit le traitement, le temps n'a aucun effet décisif. De plus, le maximum de syrphes rencontrés sur le plant traité se rencontre à des moments différents. Ceci peut être expliqué par un temps d'acclimatation nécessaire pour les syrphes, qui diffère selon la réactivité, la taille, l'état physiologique de chaque individu.

Même s'il n'existe aucune différence significative en termes d'attraction entre les différents vieillissements du miellat, les résultats confirment quand même l'effet significatif du miellat par rapport au témoin. Cette affirmation n'est pas surprenante en soi car il avait déjà été prouvé qu'à courte distance, le miellat seul agit sur les syrphes comme une kairomone volatile qui les attire même si cet effet est accentué en présence de pucerons (Scholz et al., 2000). Leroy et al (2009) justifiaient cela par la présence des composés volatils qui proviendraient de l'altération naturelle des sucres et des acides aminés contenus dans le miellat.

En 1998, Bargen et collègues démontraient que le miellat seul présent sur le végétal induit fortement l'oviposition chez le prédateur entrant en contact direct avec la substance. Les résultats de cette manipulation confirme cela pour les trois durées de vieillissement mais permet également d'ajouter une précision : le miellat frais, non reposé, a un effet plus marqué sur l'oviposition que ses homologues vieillis. Leroy et collègues (2011) a identifié le 3-méthyl-2-buténal et l'acide 3-méthyl-2-27 buténoïque, produit par *S. sciuri* comme étant les composés présents dans le miellat responsables de l'induction de la ponte. Comme énoncé dans la discussion des résultats du séquençage protéomique, cette préférence pour le miellat peut venir du fait que dans les échantillons vieillis, les molécules solubles,

non volatiles se sont dégradées naturellement et/ou que trop de composés volatiles ou nouvelles protéines s'y sont développés et perturbent alors les signaux sémiocchimiques.

On peut donc conclure de cette expérience que le vieillissement du miellat n'a pas d'intérêt particulier par rapport à l'attraction ou induction de la ponte chez les syrphes. Le miellat frais (récolté et utilisé après 24h) induit, comme ses homologues reposés, la ponte mais augmente la fécondité d'*E. balteatus*. Le rôle de kairomone de contact est donc sensible au temps qui passe, les composés d'intérêts étant sujets à une certaine dégradation. A contrario, les composés volatils responsables de l'attraction des syrphes ne semblent pas y être sensibles.

Ce travail n'a pas permis de distinguer l'efficacité d'un traitement en particulier pour l'attraction des syrphes. Cependant, le nombre faible de répétition est à prendre en considération. Des expériences similaires pourraient alors être effectués avec plus de répétitions, avec la modalité de 72h de vieillissement en plus et plus de deux choix. Les femelles seraient donc à chaque réplicat face à 5 plants (i.e. témoin, 24h, 48h, 72h, 96h). Des différences entre les vieillissements pourraient dans ce cas être mises en évidence. Le cas échéant, cela permettrait de confirmer les observations de ce présent travail.

3.3. Identification et analyse de la composition protéomique de différents miellats de puceron

Il a été décidé de n'envoyer qu'un seul réplicat par durée de vieillissement au vu du coût de la manipulation qui était, de plus, réalisée pour la première fois. Cependant, les résultats montrant une tendance globale similaire pour la composition des 4 durées, on peut considérer qu'il s'agit en réalité de 4 répétitions pour un échantillon de miellat standard.

La légende de la heat-map permet d'illustrer la quantification des peptides associés. Cependant, au départ de près de 700 lignes d'identification, des regroupements par catégorie de protéines aux fonctions similaires a permis d'atteindre un nombre de 171 protéines identifiées. Les nombres élevés de peptides pour une catégorie ne signifient pas automatiquement que l'échantillon contient ces protéines en grande quantité mais bien que ce groupe peut aussi contenir de nombreuses protéines aux fonctions similaires.

La liste des endosymbiotes retrouvés n'est pas exhaustive. En effet, la recherche d'identification a été réalisé avec une base de données limitée. L'absence de certains micro-organismes tels que *Staphylococcus sciuri*, *Pseudomonas gessardii* ou encore *Acinetobacter johnsonii* (Najar-Rodríguez et al., 2009; Grigorescu et al., 2018), ne signifie pas qu'ils en sont absents. Ils ne sont simplement pas repris dans la librairie soumise et sont donc certainement regroupés dans le groupe des « Unknow proteins ». Il serait donc intéressant de relancer ce groupe de protéines non-identifiées avec de nouvelles librairies mais également d'enrichir ces librairies.

L'échantillon de miellat de 48h montre le plus de différences au niveau de sa composition. En effet cela se confirme pas l'analyse du diagramme de Venn et renforce l'idée que les miellats de 72-96h sont similaires et présentent une plus grande diversité de protéines et d'endosymbiotes. Avec un réplicat par durée de vieillissement, il est difficile de cerner pourquoi l'échantillon de miellat collecté après 48h est si différent dans sa composition. Utiliser plusieurs réplicas par échantillon et surtout avoir recours aux étalons permettraient de vérifier s'il n'y a pas eu simplement un problème d'injection. Après 72h-96h, on observe également la présence d'un plus grand nombre de protéines liées au cytosquelette et cuticules, pourtant tous les échantillons sont nettoyés des déchets et exuvies de la même manière avant de vieillir à l'air libre. La modification de la composition en protéines peut-être expliquée par la

dégradation naturelle du milieu liée aux facteurs abiotiques (température, lumière, humidité relative)(Choi et al., 2004). Il serait également pertinent de comprendre pourquoi ces organismes anaérobies se développent dans ce milieu avec le temps au lieu de se dégrader.

Le fait qu'il existe des différences entre les endosymbiotes présents selon la durée de vieillissement du miellat apporte de nouvelles possibilités. Il serait important de pouvoir identifier les phénomènes chimiques et physiques responsables de ces modifications. Par exemple, découvrir pourquoi *H. defensa* se développe avec le temps dans le miellat, permettrait de trouver un moyen pour empêcher sa présence chez le puceron. En effet, cette bactérie produit une toxine qui semblerait conférer une protection à *A. pisum* contre les parasitoïdes (Oliver et al., 2003).

La voie métabolique la plus représentée par les protéines, tout échantillon confondu est celle nommée « *Genetic process* ». Cette grande proportion rappelle en réalité la diversité que représente cette catégorie qui englobe un grand nombre de fonctions du métabolisme liées à l'ADN, à l'ARN, à la traduction, à la transcription etc. Etant donné leurs rôles, il serait intéressant d'identifier les changements éventuels que peuvent provoquer ces protéines lorsqu'elles entrent en contact avec la plante. En effet, Sabri et al. (2013) a relevé dans le miellat du puceron du pois la présence de protéines telles que Chaperonin, GroEL et Dnak, le facteur d'élongation Tu (EF-Tu) et la flagelline, des potentiels intermédiaires dans l'interaction plante-pucerons. Les résultats de la LC-MS/MS démontrent également la présence de telles protéines dans les différents échantillons de miellat avec toutefois quelques différences. On retrouve de la même manière les chaperonines, et la symbionine (homologue à GroEL) et des protéines heat-shock provenant de *B. aphidicola*. Enfin, le facteur d'élongation EF-Tu provient dans ce cas de la bactérie *S. serratia* et non de *R. insecticola*. Sa présence est intéressante puisqu'outre son rôle principal dans la synthèse des protéines, le facteur d'élongation bactérien Tu (EF-Tu) induit des réponses défensives chez les plantes (Zipfel, 2009). De plus, cette protéine n'a été identifiée que dans les échantillons de 72h et 96h alors que la présence de la bactérie productrice a été relevée dans tous les échantillons.

Malgré l'échec des injections de miellat d'*A. fabae*, des hypothèses peuvent être posées quant aux différences probables qui existent avec la composition du miellat d'*A. pisum*. On pourrait s'attendre à observer une différence au niveau des protéines liés au métabolisme des sucres. En effet, *A. fabae* étant une espèce myrmécophile, sa composition d'hydrates de carbone est liée aux besoins des fourmis avec par exemple, une teneur plus élevée en mélézitose (Yao et al., 2001; Leroy et al., 2009; Fischer, 2016).

Pour conclure, l'analyse de la composition du protéome et des voies métaboliques concernées démontre une certaine constance des protéines dans le temps. Celles-ci ne sont donc probablement pas la source des différences d'induction de ponte détectées entre les échantillons de miellat. En effet, les protéines augmentent avec le temps pourtant le miellat vieilli ne semble pas plus attractif. Celles-ci s'ajoutent et polluent certainement les composés volatiles d'intérêts présents à l'origine.

3.4. Mise en évidence des molécules volatiles produites par *Staphylococcus. sciuri*

Deux répliqués de la production bactérienne ont subi une analyses SPME/GCMS. Ce nombre faible de répétitions écarte toute conclusion formelle de la manipulation. Ce test, pouvant donc être considéré comme préliminaire, permet toutefois d'identifier les points défailants du protocole.

Tout d'abord, même si un témoin a été réalisé et analysé pour écarter les composés liés à la colonne elle-même, il est important d'utiliser un autre contrôle, différent du milieu de culture pour mettre en évidence les composés liés au milieu seul.

Dans le cas présent, nous avons effectué une approche purement qualitative mais l'intérêt d'une telle manipulation est de pouvoir quantifier les composés présents. Pour cela, il conviendrait d'injecter un standard dont la composition et l'aire du pic obtenu sur le spectre sont connus. En effet, outre un aspect de proportions dans la composition de l'échantillon, quantifier les composés permet de repérer les composés qui seraient à la fois présents dans les milieux non-inoculés et inoculés mais dont la quantité produite est modifiée par la croissance des bactéries.

Le programme de température a été inspiré de Leroy et al (2011). Il serait intéressant de tester différentes alternatives. En effet, une montée en température plus lente peut permettre de mieux séparer certains composés et donc d'obtenir des pics distincts.

En outre, la méthode d'identification a été basée sur la similitude avec les bibliothèques. Il pourrait être pertinent de comparer avec la méthode des indices de Kovats pour confirmer les composés identifiés (Alencar et al., 1984).

Le test en tunnel de vol a révélé que le miellat frais de 24h possédait le plus grand pouvoir d'induction de la ponte. Selon les études réalisées par Leroy, le miellat frais contiendrait donc une plus grande quantité de molécules telles que le 3-méthyl-2-buténal et l'acide 3-méthyl-2- 27 buténoïque. Ceux-ci n'ont pas été retrouvés dans les échantillons de production bactérienne. Il serait intéressant d'analyser les différences en composés volatils lorsque *S. sciuri* est utilisé frais et non congelé. Dans cette même optique, la même manipulation pourrait être effectuée sur des solutions non filtrées afin d'analyser des composés fraîchement produit par la bactérie comme c'est le cas dans les échantillons de miellat de 24h. En effet, dans le présent protocole, les milieux de culture sontensemencés « overnight » puis directement filtrés. Pour que les résultats soient représentatifs, il faut que les bactéries aient eu suffisamment de temps pour se développer et produire leurs métabolites. Augmenter le temps d'incubation dans le milieu jusqu'à 24h pourrait probablement révéler par GCMS les composés recherchés. Les résultats obtenus de cette façon pourront alors être comparés à ceux obtenus d'une SPME/GCMS réalisés sur des miellats de 24, 48, 72 et 96h.

Sur les trois composés communs à ceux retrouvés par Leroy, seulement deux ont été identifiés simultanément dans le miellat et dans le liquide bactérien lors de ses recherches : le 3-méthyl-1butanol et le 2,5 diméthylpyrazine. Les deux autres molécules volatiles, le 3-méthylbutanal et le 2-méthylbutanal ont été retrouvés dans le milieuensemencé par *S. sciuri*. Cependant, Leroy et al (2011) a identifié ceux-ci uniquement dans les milieux non-inoculés. Cela pourrait donc confirmer l'hypothèse selon laquelle le temps d'incubation des bactéries a été trop court et que les échantillons représentent une composition hybride entre le témoin (non-inoculé) et de vrais liquides de production de *S. sciuri*.

Conclusions et perspectives

Le miellat de puceron était au départ considéré comme un déchet du métabolisme. Les études plus récentes ont démontré que c'était bien plus qu'une substance riche en hydrates de carbone. Bien que les expériences rapportées ici aient été réalisées sur une seule lignée de pucerons et méritent donc d'être répétées sur d'autres lignées et espèces de pucerons, nos résultats apportent de nouvelles connaissances sur cette substance qui semble engagée sur plusieurs fronts. De l'analyse de sa composition protéomique à ses effets fonctionnels sur les prédateurs ou sur l'induction des défenses des plantes, le miellat de puceron a su montrer un grand potentiel d'action en lutte biologique.

Même si le vieillissement du miellat ne semble pas être la clef pour attirer d'avantage d'auxiliaires, il nous apporte tout de même des indications intéressantes. Le microbiote qui se développe au cours du temps dans le miellat reposé peut s'altérer et les composés volatiles, les signaux sémiocchimiques qu'il émet peuvent changer. Un miellat de 24h, frais, propose une moins grande diversité de protéines et d'endosymbiotes mais induit significativement plus la ponte chez l'auxiliaire de culture, *Episyrphus balteatus*.

Le miellat semble également avoir un effet sur les relations intraguïdes. Dans cette étude, il a eu comme effet de stimuler la recherche de nourriture chez les prédateurs du puceron, d'augmenter l'appétence d'une proie moins préférée habituellement et de servir de source alternative de nourriture. Cette substance pourrait donc réduire la prédation intraguïde entre *A. bipunctata* et *E. balteatus*. Cela n'a pas pu être démontré avec ces expériences mais la taille de l'arène et les conditions de laboratoires étant fortement éloignées de la complexité des interactions présentes dans la nature sont certainement un biais empêchant toute extrapolation à des conditions naturelles.

S. sciuri, identifiée précédemment comme étant la bactérie émettrice des composés volatils responsables de l'attraction des syrphes, révèle des difficultés de mises en culture et exige le contrôle de plusieurs paramètres. Cette bactérie montre peut-être les mêmes difficultés de croissance dans le milieu qu'est le miellat vieilli lorsque celui-ci se retrouve assailli des nouveaux taxa bactériens.

Enfin, les analyses génomiques des échantillons apporteront une approche complémentaire de la connaissance des rôles et fonctions potentiels du miellat. De plus, l'expérience en arène confirme l'hypothèse d'une différence fonctionnelle entre les miellats d'espèce différentes de pucerons. Il serait plus qu'intéressant de réitérer le séquençage protéomique pour diverses espèces en prenant soin de préalablement, identifier les problèmes survenus pour l'analyse de *A. fabae*.

Pour conclure, ce travail avance des preuves de l'intérêt d'utiliser des biopesticides imitant un miellat artificiel ou du moins les sémiocchimiques qu'il renferme pour augmenter la présence d'auxiliaires, optimiser les défenses de la plantes et empêcher toute interaction liée à l'IGP. Cette utilisation en lutte intégrée pourrait même s'appliquer à d'autres ravageurs que les pucerons étant donné que les prédateurs que le miellat influence sont généralistes. Il convient toutefois de compléter toute analyse de la composition du miellat par des tests fonctionnels en milieu naturel. En effet, si les substances volatiles du miellat peuvent attirer les ennemis des pucerons, des composés peuvent également attirer des espèces qui sont profitables aux pucerons.

Références bibliographiques

- Agarwala B. & Dixon A.F., 1986. Population trends of *Cervaphis shouteniae* van der Gooton *Micrococcus paniculata* and its relevance to the paucity of aphids species in India. *Indian Biol.* **18**, 37–39.
- Agarwala B.K. & Dixon A.F.G., 1992. Laboratory study of cannibalism and interspecific predation in ladybirds. *Ecol. Entomol.* **17**(4), 303–309.
- Agarwala B.K. & Yasuda H., 2001. Overlapping oviposition and chemical defense of eggs in two co-occurring species of ladybird predators of aphids. *J. Ethol.* **19**(1), 47–53.
- Alencar J.W., Craveiro A.A. & Matos F.J.A., 1984. Kovats' indices as a preselection routine in mass spectra library searches of volatiles, *Journal of Natural Products*, 890–892.
- Alhmedi A., Francis F., Bodson B. & Haubruge E., 2007. Evaluation de la diversité des pucerons et de leurs ennemis naturels en grandes cultures à proximité de parcelles d'orties. *Notes fauniques de Gembloux* **60**(4), 147–152.
- Alhmedi A., Haubruge E., Bodson B. & Francis F., 2007. Aphidophagous guilds on nettle (*Urtica dioica*) strips close to fields of green pea, rape and wheat. *Insect Sci.* **14**(5), 419–424.
- Almohamad R., Verheggen F., Francis F. & Haubruge E., 2010. Intraguild interactions between the predatory hoverfly *Episyrphus balteatus* (Diptera: Syrphidae) and the Asian ladybird, *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae): Effect of larval tracks. *Eur. J. Entomol.* **5759**, 41–45.
- Anders F., 1958. Aminosäuren als gallenerregende Stoffe der Reblaus *Viteus (Phylloxera) vitifolii* Shimer. *Experientia* **14**, 62–63.
- Ankersmit G.W., Dijkman H., Keuning N.J., Mertens H., Sins A. & Tacoma H.M., 1986. *Episyrphus balteatus* as a predator of the aphid *Sitobion avenae* on winter wheat. *Entomol. Exp. Appl.* **42**(3), 271–277.
- ANSES, Inthavong C. & Martel A.-C., 2016. Le dispositif français de surveillance des produits phytosanitaires dans les denrées alimentaires d'origine animale. *Bulletin épidémiologique, santé Anim. Aliment.* **77**, 1–6.
- Arakaki N. & Hattori M., 1998. Differences in the quality and quantity of honeydew from first instar soldier and ordinary morph nymphs of the bamboo aphid, *Pseudoregma koshunensis* (Takahashi) (Homoptera: Aphididae). *Appl. Entomol. Zool.* **33**(3), 357–361.
- Armsby M. & Tisch N., 2006. Intraguild predation and cannibalism in a size-structured community of marine amphipods. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **333**(2), 286–295.
- Aubry O., Cormier D., Chouinard G. & Lucas E., 2017. Influence of extraguild prey and intraguild predators on the phytophagy of the zoophytophagous bug *Campylomma verbasci*. *J. Pest Sci.* **90**(1), 287–297.
- Auclair J.L., 1963. Aphid Feeding and Nutrition. *Annu. Rev. Entomol.* **8**(1), 439–490.
- Balduf W., 1935. The Bionomics of Entomophagous Coleoptera. *Annals of the Entomological Society of America*. John S ed., Oxford University Press (OUP), 220.
- Bargen H., Saudhof K. & Poehling H.-M., 1998. Prey finding by larvae and adult females of *Episyrphus balteatus*. *Entomol. Exp. Appl.* **87**(3), 245–254.
- Barkai A. & McQuaid C., 1988. Predator-prey role reversal in a marine benthic ecosystem. *Science (80-)*. **242**(4875), 62–64.
- Barrès B., Mottet C. & ANSES, 2017. La résistance aux néonicotinoïdes chez le puceron vert du pêcher. *HAL-archives Ouvert.* **10**, 29–31.
- Bay Ahmed S., 2013. Les pucerons dans la région de Ghardaa en Algérie : biodiversité et importance dans un champ de fève (*Vicia faba* L.). *Mémoire online*.
- Blackman R. & Eastop V.F., 2019. Aphids on the world's Plants: An Online Identification and Information Guide. https://www.researchgate.net/publication/38978892_Aphids_on_The_World's_Trees_-_An_Identification_and_Information_Guide, (03/09/2020).
- Blackman R.L., 1967. The effects of different aphid foods on *Adalia bipunctata* L. and *Coccinella 7-punctata* L. *Ann. Appl. Biol.* **59**(2), 207–219.

- Blackman R.L. & Eastop V., 2017. *Aphids as Crop Pests - 2nd Edition*. van Emden, H.F., Harrington, R. eds., 714.
- Blackman R.L. & Eastop V.F., 2007. Chapter 1. Taxonomic issues. *In: Emden, H. F. van, Harrington, R. ed. Aphids as Crop Pests*. CABI, London, 1–30.
- Boivin G., Hance T. & Brodeur J., 2012. Aphid parasitoids in biological control. *Can. J. Plant Sci.* **92**(1), 1–12.
- Bouvet J.P.R., Urbaneja A. & Monzó C., 2020. Aphid predators in citrus crops: the least voracious predators are the most effective. *J. Pest Sci. (2004)*. **1**, 3.
- Branquart E., Hemptinne J.L., Bauffe C. & Benfekih L., 1997. Cannibalism in *Episyrphus balteatus* (Dipt.: Syrphidae). *Entomophaga* **42**(1–2), 145–152.
- Brault V., Uzest M., Monsion B., Jacquot E. & Blanc S., 2010. Aphids as transport devices for plant viruses. *Comptes Rendus - Biol.* **333**(6–7), 524–538.
- Brewer M.J. & Elliott N.C., 2004. Biological control of cereal aphids in North America and mediating effects of host plant and habitat manipulations. *Annu. Rev. Entomol.* **49**(1), 219–242.
- Brisson J.A. & Stern D.L., 2006. The pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*: An emerging genomic model system for ecological, developmental and evolutionary studies. *BioEssays* **28**(7), 747–755.
- Brönmark C. & Miner J.G., 1992. Predator-induced phenotypical change in body morphology in crucian carp. *Science (80-.)*. **258**(5086), 1348–1350.
- Buckton G.B., 1876. *Monograph of the British aphides*, Printed for the Ray Society, London, 1–390.
- Budenberg W. & Powell W., 1992. The role of honeydew as an ovipositional stimulant for two species of syrphids. *Entomol. Exp. Appl.* **64**(1), 57–61.
- Burgio G., Santi F. & Maini S., 2002. On intra-guild predation and cannibalism in *Harmonia axyridis* (Pallas) and *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae). *Biol. Control* **24**(2), 110–116.
- CABI, 2020a. Invasive species compendium: *Aphis fabae* (Black bean aphid). <https://www.cabi.org/isc/datasheet/6196>, (23/08/20).
- CABI, 2020b. Invasive species compendium: *Acyrtosiphon pisum* (pea aphid). <https://www.cabi.org/isc/datasheet/3147>, (23/08/20).
- CABI, 2020c. Invasive Species Compendium: *Adalia bipunctata* (two spotted lady beetle). <https://www.cabi.org/isc/datasheetreport/3177>, (25/08/20).
- CABI, 2020d. Invasive Species Compendium: *Episyrphus balteatus*. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/21559>, (26/08/20).
- Caetano J., 2019. Impacts du changement climatique sur le développement et sur la préférence du site d'oviposition du syrpe ceinturé (*Episyrphus balteatus* (De Geer)), *Entomologie fonctionnelle et évolutive*, Gembloux.
- Caro T.M., 1987. Cheetah mothers' vigilance: looking out for prey or for predators? *Behav. Ecol. Sociobiol.* **20**(5), 351–361.
- Chandler A.E.F., 1968. Some host-plant factors affecting oviposition by aphidophagous Syrphidae (Diptera). *Ann. Appl. Biol.* **61**(3), 415–423.
- Chang G.C., 1996. Comparison of Single Versus Multiple Species of Generalist Predators for Biological Control. *Environ. Entomol.* **25**(1), 207–212.
- Choi M.-Y., Roitberg B.D., Shani A., Raworth D.A. & Lee G.-H., 2004. Olfactory response by the aphidophagous gall midge, *Aphidoletes aphidimyza* to honeydew from green peach aphid, *Myzus persicae*. *Entomol. Exp. Appl.* **111**(1), 37–45.
- Clausen C.P., 1940. *Entomophagous Insects*, New-York, 688.
- Cloutier C., 1986. Amino acid utilization in the aphid *Acyrtosiphon pisum* infected by the parasitoid *Aphidius smithi*. *J. Insect Physiol.* **32**(4), 263–267.
- Contino L., 2020. « Etude de l'influence du miellat de deux pucerons *A. fabae* (Scopoli, 1763), *A. pisum* (Harris, 1776) et des composés apparentés produits par la bactérie *S. sciuri* (Kloos, 1976) sur l'oviposition du syrpe *Episyrphus balteatus* (De Geer, 1776) et étude de la diversité en syrphes dans des bandes mono-florales au sein d'une culture de blé ». Mémoire de bachelier professionnalisant en agronomie, orientation Technique et gestion horticole. Isia, Gembloux.

- Costamagna A.C., Landis D.A. & Brewer M.J., 2008. The role of natural enemy guilds in *Aphis glycines* suppression. *Biol. Control* **45**(3), 368–379.
- Davidson D.W., 1978. Experimental tests of the optimal diet in two social insects. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **4**, 35–51.
- Dayton P., 1984. Processes structuring some marine communities: Are they general? *Ecol. communities Concept. Issues Evid.* 181–197.
- Dimetry N.Z. & Mansour M.H., 1976. The choice of oviposition sites by the lady bird beetle *Adalia bipunctata* (L.). *Experientia* **32**(2), 181–182.
- Dixon A., 1985. *Aphid ecology*. Blackie ed., Chapman and Hall, New York, 157.
- Dixon A.F.G., 1971. The life-cycle and host preferences of the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* L., and their bearing on the theories of host alternation in aphids. *Ann. Appl. Biol.* **68**(2), 135–147.
- Dixon A.F.G., 1987. Parthenogenetic reproduction and the rate of increase in aphids. In: Minks, A., Harrewijn, P. eds. *World Crop Pests: Aphids, Their Biology, Natural Enemies, and Control*. Amsterdam, 267–289.
- Dixon A.F.G., 2000. Insect Predator–Prey Dynamics. Ladybird Beetles and Biological Control. *Cambridge Univ. Press* **275**.
- Dixon T., 1959. Studies on oviposition behaviour of Syrphidae (Diptera). *Ecol. Entomol.* **111**(3), 57–80.
- Dor C. & Maillet-Mezeray J., 2011. Méthodologie de suivi des entomophages. Actes du colloque de restitution du programme Casdar « Les Entomophages en grandes cultures », Boigneville, 3–6.
- Douglas A.E., 1993. The nutritional quality of phloem sap utilized by natural aphid populations. *Ecol. Entomol.* **18**(1), 31–38.
- Douglas A.E., 2006. Phloem-sap feeding by animals: Problems and solutions. *J. Exp. Bot.* **57**(4), 747–754.
- Douglas A.E., 2009. Honeydew. In: *Encyclopedia of Insects*. 461–463.
- Dufour L., 1833. Recherches anatomiques et physiologiques sur les Hémiptères, accompagnés de considérations relatives à l'histoire naturelle et à la classification de ces insectes. In : *Mémoires Des Savants Étrangers de l'Académie Royale Des Sciences de l'Institut de France*. 129–462.
- Dumont F., Aubry O. & Lucas E., 2018. From evolutionary aspects of Zoophytophagy to biological control. *Front. Ecol. Evol.* **6**(DEC), 1–15.
- Duncan C.K., Gilby B.L., Olds A.D., Connolly R.M., Ortodossi N.L., Henderson C.J. & Schlacher T.A., 2019. Landscape context modifies the rate and distribution of predation around habitat restoration sites. *Biol. Conserv.* **237**, 97–104.
- Eastop V.F., 1978. Diversity of the Sternorrhyncha within major climatic zones. *Symp. R. Entomol. Soc. London* **9**, 71–88.
- Ehler L.E., 1996. Structure and Impact of Natural Enemy Guilds in Biological Control of Insect Pests. In: *Food Webs*. Springer US, 337–342.
- Englund G., 1997. Importance of spatial scale and prey movements in predator caging experiments. *Ecology* **78**(8), 2316–2325.
- Faria C.A., Wäckers F.L. & Turlings T.C.J., 2008. The nutritional value of aphid honeydew for non-aphid parasitoids. *Ecol. Soc. Ger. Austria Switz.* **9**, 286–297.
- Fischer C., 2016. Etude des sémiocimiques volatils impliqués dans le mutualisme fourmis-pucerons.
- Fischer M.K. & Shingleton A.W., 2001. Host plant and ants influence the honeydew sugar composition of aphids. *Funct. Ecol.* **15**(4), 544–550.
- Fischer M.K., Völkl W. & Hoffmann K.H., 1997. Hierarchien im Mutualismus zwischen *Lasius niger* und verschiedenen honigtauproduzierenden Blattlausarten. *Mitteilungen der Dtsch. Gesellschaft für Allg. und Angew. Entomol.* **11**, 721–724.
- Fischer M.K., Völkl W., Schopf R. & Hoffmann K.H., 2002. Age-specific patterns in honeydew production and honeydew composition in the aphid *Metopeurum fuscoviride*: Implications for ant-attendance. *J. Insect Physiol.* **48**(3), 319–326.
- Foster S.P., Devine G. & Devonshire A.L., 2007. Insecticide resistance. In: *Aphids as Crop Pests*. CABI, Wallingford, 261–285.

- Fox L.R., 1975. Cannibalism in Natural Populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **6**(1), 87–106.
- Francis F., 2003. Interactions tritrophiques : étude du modèle Brassicaceae - pucerons -coccinelle prédatrice. Thèse de doctorat, Faculté Universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux. <http://hdl.handle.net/2268/83884>.
- Francis F., Haubruge E. & Gaspar C., 1998. Les pucerons sont-ils résistants aux insecticides en Belgique ? *Parasitica* **54**(4), 151–161.
- 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**(1), 6–11.
- Gagne I., Coderre D. & Mauffette Y., 2002. Egg cannibalism by *Coleomegilla maculata* lengi neonates: preference even in the presence of essential prey. *Ecol. Entomol.* **27**(3), 285–291.
- Grigorescu A.S., Renoz F., Sabri A., Foray V., Hance T. & Thonart P., 2018. Accessing the Hidden Microbial Diversity of Aphids: An Illustration of How Culture-Dependent Methods Can Be Used to Decipher the Insect Microbiota. *Microb. Ecol.* **75**(4), 1035–1048.
- Hairston N.G., 1986. Species packing in *Desmognathus* salamanders: experimental demonstration of predation and competition. *Am. Nat.* **127**(3), 266–291.
- Hales D.F., 1976. Juvenile hormone and aphid polymorphism. In: LÜSCHER, M. ed. *Phase and Caste Determination in Insects*. Oxford, 105–115.
- Hardy N.B., Peterson D.A. & Von Dohlen C.D., 2015. The evolution of life cycle complexity in aphids: Ecological optimization or historical constraint? *Evol. Int. J. Org. Evol.* **69**(6), 1423–1432.
- Hatcher M.J., Dick J.T.A. & Dunn A.M., 2014. Parasites that change predator or prey behaviour can have keystone effects on community composition. *Biol. Lett.* **10**(1), 20130879.
- Hemptinne J., 1989. Ecophysiologie d'*Adalia bipunctata* (L.), (coleoptera, Coccinellidae).
- Hemptinne J., Dixon A.F. & Doucet J.-L., 1993. Optimal Foraging by Hoverflies (Diptera, Syrphidae) And Ladybirds (Coleoptera, Coccinellidae) - Mechanisms. *Eur. J. Entomol.* **90**(4), 451–455.
- Hemptinne J.L., Dixon A.F.G. & Adam B., 2001. Do males and females of the two-spot ladybird, *Adalia bipunctata* (L.), Differ in when they mature sexually? *J. Insect Behav.* **14**(3), 411–419.
- Hemptinne J.L., Dixon A.F.G. & Gauthier C., 2000. Nutritive cost of intraguild predation on eggs of *Coccinella septempunctata* and *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Eur. J. Entomol.* **97**(4), 559–562.
- Hendrix D.L., Wei Y. an & Leggett J.E., 1992. Homopteran honeydew sugar composition is determined by both the insect and plant species. *Comp. Biochem. Physiol. -- Part B Biochem.* **101**(1–2), 23–27.
- Hentley W.T., Vanbergen A.J., Beckerman A.P., Brien M.N., Hails R.S., Jones T.H. & Johnson S.N., 2016. Antagonistic interactions between an invasive alien and a native coccinellid species may promote coexistence. *J. Anim. Ecol.* **85**, 1087–1097.
- Hickman J.M. & Wratten S.D., 1996. Use of *Phelia tanacetifolia* Strips to enhance -biological control of Aphids by overfly larvae in cereal fields. *J. Econ. Entomol.* **89**(4), 832–840.
- Hindayana D., Meyhöfer R., Scholz D. & Poehling H.M., 2001. Intraguild predation among the hoverfly *Episyrphus balteatus* de Geer (Diptera: Syrphidae) and other aphidophagous predators. *Biol. Control* **20**(3), 236–246.
- Hinkelman T.M. & Tenhumberg B., 2013. Larval performance and kill rate of convergent ladybird beetles, *Hippodamia convergens*, on black bean aphids, *Aphis fabae*, and pea aphids, *Acyrtosiphon pisum*. *J. Insect Sci.* **13**.
- Hironori Y. & Katsuhiko S., 1997. Cannibalism and interspecific predation in two predatory ladybirds in relation to prey abundance in the field. *Entomophaga* **42**(1–2), 153–163.
- Hodek I., 1973. *Biology of Coccinellidae*, Biology of Coccinellidae, Springer Netherlands.
- Hodek I., 1996. Food Relationships. In: *Ecology of Coccinellidae*. Springer Netherlands, Dordrecht, 143–238.
- Hodkinson I.D., Coulson S.J., Artdatabanken S. & Bird J., 2002. Discovery of the rare alate morph of *Acyrtosiphon svalbardicum* Heikinheimo (Homoptera; Aphididae): Description and implications for species ecology. *Now. J. Entomol.* **49**, 77–80.
- Hogervorst P.A.M., Wäckers F.L. & Romeis J., 2007. Effects of honeydew sugar composition on the

- longevity of *Aphidius ervi*. *Entomol. Exp. Appl.* **122**(3), 223–232.
- Hulot L., 2020. Etude des effets du miellat et de son microbiote sur le comportement d'oviposition du syrphé *Episyrphus balteatus* (De Geer) et étude de l'impact des bandes fleuries sur les auxiliaires de culture en champ de blé. Mémoire de Master en biologie des organismes et écologie, à finalité approfondie, Faculté des Sciences, Liège. <http://hdl.handle.net/2268.2/9902>
- Ingels B., Hassel P. Van, Van Leeuwen T. & De Clercq P., 2015. Feeding History Affects Intraguild Interactions between *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) and *Episyrphus balteatus* (Diptera: Syrphidae). *PLoS One* **10**(6).
- INRA, 2014. Biocontrol - Cycle, conditions de développement : *Episyrphus balteatus*. <http://ephytia.inra.fr/fr/C/19245/Biocontrol-Episyrphus-balteatus>, (28/08/20).
- INRA, 2015. Biocontrol - Cycle, conditions de développement : *Adalia bipunctata*. <http://ephytia.inra.fr/fr/C/20157/Biocontrol-Cycle-conditions-de-developpement>, (28/08/20).
- INRAE, 2020. *Encyclop'Aphid : l'encyclopédie des pucerons*. <https://www6.inrae.fr/encyclopedie-pucerons>, (15/08/20).
- Isman M.B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* **51**(1), 45–66.
- Isman M.B., 2020. Botanical Insecticides in the Twenty-First Century—Fulfilling Their Promise? *Annu. Rev. Entomol.* **65**(1), 233–249.
- ITAB, 2010. LES PUCERONS : BIOLOGIE, NUISIBILITE, RESISTANCE DES PLANTES. <http://itab.asso.fr/downloads/actes/actesfl2010web.pdf>, (20/08/20)
- Jansen J.-P. & Warnier A.-M., 2002. Détermination de l'activité des pucerons ailés à l'aide d'un piège à succion : Résultats de l'année 2001. *Parasitica* 31–42.
- Janssen A., Sabelis M.W., Magalhães S., Montserrat M. & Van Der Hammen T., 2007. Habitat structure affects intraguild predation. *Ecology* **88**(11), 2713–2719.
- Johannes R.E. & Larkin P.A., 1961. Competition for Food Between Redside Shiners (*Richardsonius balteatus*) and Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) in Two British Columbia Lakes. *J. Fish. Res. Board Canada* **18**(2), 203–220.
- Karley J., Douglas A.E., Parker W.E. & Howard J.J., 2002. Amino acid composition and nutritional quality of potato leaf phloem sap for aphids. *J. Exp. Biol.* **205**, 3009–3018.
- Kennedy J.S. & Stroyan H.L.G., 1959. Biology of Aphids. *Annu. Rev. Entomol.* **4**(1), 139–160.
- Koide T., 1962. Observations on the feeding habit of the larva of *Coccinella septempunctata bruckii* Mulsant: the feeding behaviour and number of prey fed under different. *Kontyu* **30**, 236–241.
- Krsteska V. & Lazarevska S., 2017. Biological control potential of an aphidophagous predators, cannibalism and interspecific competition. *Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences.* **72**(3), 45–51.
- Leroy P.D., Almohamad R., Attia S., Quentin C., François V.J., Eric H. & Frédéric F., 2014. Aphid honeydew: An arrestant and a contact kairomone for *Episyrphus balteatus* (Diptera: Syrphidae) larvae and adults. *Eur. J. Entomol.* **111**, 237–242.
- Leroy P.D., Capella Q. & Haubruge E., 2009. L'impact du miellat de puceron au niveau des relations tritrophiques entre les plantes-hôtes, les insectes ravageurs et leurs ennemis naturels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **13**(2), 325–334.
- Leroy, P.D., Francis, F., Verheggen, F., Capella, Q., Fagel, Q. & Haubruge, E., 2008. La coccinelle à deux points (*Adalia bipunctata*), le chrysope commun (*Chrysoperla carnea*) et le syrphé ceinturé (*Episyrphus balteatus*), nos principaux prédateurs indigènes plutôt que la coccinelle asiatique (*Harmonia axyridis*) exotique et invasive dans nos écosystèmes. <https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/4036/1/Leroyetal2008.pdf>, (15/09/20).
- Leroy P.D., Sabri A., Heuskin S., Thonart P., Lognay G., Verheggen F.J., Francis F., Brostaux Y., Felton G.W. & Haubruge E., 2011. Microorganisms from aphid honeydew attract and enhance the efficacy of natural enemies. *Nat. Commun.* **2**(1), 1–7.
- Leroy P.D., Wathélet B., Sabri A., Francis F., Verheggen F.J., Capella Q., Thonart P. & Haubruge E., 2011. Aphid-host plant interactions: Does aphid honeydew exactly reflect the host plant amino acid composition? *Arthropod. Plant. Interact.* **5**(3), 193–199.

- Lesage L., 1991. Coccinellidae (Cucujoidea). In: Stehr, F.W. ed. *Immature Insects*. Dubuque, Iowa, 485–494.
- Lucas E., 2019. Intraguild Predation. In: *Encyclopedia of Animal Behavior-2nd Edition*. 389–399.
- Lucas É., 2001. Prédation intraguilde et lutte biologique. *Vertigo* **2**(2).
- Lucas É., 2005. Intraguild predation among aphidophagous predators. *Eur. J. Entomol.* **102**(3), 351–364.
- Lucas É., 2012. Intraguild interactions. In: *Ecology and Behaviour of the Ladybird Beetles (Coccinellidae)*. 561.
- Lucas E. & Alomar O., 2000. Susceptibilité de *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera : Miridae) à la prédation intraguilde. *IOBC/WPRS Bull* **23**, 225–229.
- Lucas E. & Alomar O., 2001. *Macrolophus caliginosus* (Wagner) as an intraguilde prey for the zoophytophagous *Dicyphus tamaninii* wagner (heteroptera: Miridae). *Biol. Control* **20**(2), 147–152.
- Lucas E. & Brodeur J., 1999. Oviposition site selection by the predatory midge *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae). *Environ. Entomol.* **28**(4), 622–627.
- Lucas E., Coderre D. & Brodeur J., 1998. Intraguild predation among aphid predators: Characterization and influence of extraguilde prey density. *Ecology* **79**(3), 1084–1092.
- Lundgren J.G., 2009. Nutritional aspects of non-prey foods in the life histories of predaceous Coccinellidae. *Biol. Control* **51**(2), 294–305.
- Majerus M., 1994. Female promiscuity maintains high fertility in ladybirds. *Entomol. Mon.* **130**, 205–209.
- Majerus M. & Kearns P., 1989. Ladybirds in Naturalists' Handbooks, in *Naturalists' Handbooks*, 103.
- Majerus M., O'donald P. & Weir J., 1982. Evidence for preferential mating in *Adalia bipunctata*. *Heredity (Edinb)*. **49**(1), 37–49.
- Majerus M.E.N., 1999. Spotting the darker side of ladybirds. *Biol.* **46**, 109–113.
- Malcolm S.B., 1990. Chemical defence in chewing and sucking insect herbivores: plant-derived cardenolides in the monarch butterfly and oleander aphid. *Chemoecology* **12**, 12–21.
- Martin J.H., 1983. The identification of common aphid pests of tropical agriculture. *Trop. Pest Manag.* **29**(4), 395–411.
- McCollum S.A. & Buskirk J. Van, 1996. Costs and Benefits of a Predator-Induced Polyphenism in the Gray Treefrog *Hyla chrysoscelis*. *Evolution (N. Y)*. **50**(2), 583.
- Michaud J.P., Barbosa P.R.R., Bain C.L. & Torres J.B., 2016. Extending the “Ecology of Fear” Beyond Prey: Reciprocal Nonconsumptive Effects Among Competing Aphid Predators. *Environ. Entomol.* **45**(6), 1398–1403.
- Mittler T.E., 1958. Studies on the Feeding and Nutrition of *Tuberolachnus Salignus* (Gmelin) (Homoptera, Aphididae). *J. Exp. Biol.* **35**(1), 74–84.
- Mohammed A.A.A.H., Desneux N., Fan Y., Han P., Ali A., Song D. & Gao X.W., 2018. Impact of imidacloprid and natural enemies on cereal aphids: Integration or ecosystem service disruption? *Entomol. Gen.* **37**(1), 47–61.
- Moran M.D. & Hurd L.E., 1994. Short-term responses to elevated predator densities: noncompetitive intraguilde interactions and behavior. *Oecologia* **98**(3–4), 269–273.
- Moran N.A., 1992. The evolution of aphid life cycles. *Annu. Rev. Entomo.* **37**, 321–348.
- Morrison T.W., Lynch W.E. & Dabrowski K., 1997. Predation on zebra mussels by freshwater drum and yellow perch in western Lake Erie. *J. Great Lakes Res.* **23**(2), 177–189.
- Najar-Rodríguez A.J., McGraw E.A., Mensah R.K., Pittman G.W. & Walter G.H., 2009. The microbial flora of *Aphis gossypii*: Patterns across host plants and geographical space. *J. Invertebr. Pathol.* **100**(2), 123–126.
- Nieto Nafria J. & Latteur G., 1999. Les pucerons de Belgique (Hemiptera : Aphididae). *Parasitica* **55**, 5–38.
- Omkar O., Pervez A. & Gupta A.K., 2004. Role of surface chemicals in egg cannibalism and intraguilde predation by neonates of two aphidophagous ladybirds, *Propylea dissecta* and *Coccinella transversalis*. *J. Appl. Entomol.* **128**(9–10), 691–695.
- Omkar & Pervez A., 2005. Ecology of two-spotted ladybird, *Adalia bipunctata*: A review. *J. Appl.*

- Entomol.* **129**(9–10), 465–474.
- Palomares F. & Caro T.M., 1999. Interspecific Killing among Mammalian Carnivores. *Am. Nat.* **153**(5), 492–508.
- Parkyn S.M., Collier K.J. & Hicks B.J., 2001. New Zealand stream crayfish: Functional omnivores but trophic predators? *Freshw. Biol.* **46**(5), 641–652.
- Pauli T., Burt T.O. & Meusemann K., 2018. New data, same story: phylogenomics does not support Syrphoidea (Diptera: Syrphidae, Pipunculidae). *Syst. Entomol.* **43**(3), 447–459.
- Peacor S.D., 2002. Positive effect of predators on prey growth rate through induced modifications of prey behaviour. *Ecol. Lett.* **5**(1), 77–85.
- Phytoweb, 2020. Autorisations 120 jours pour situations d'urgence. <https://fytoweb.be/fr/legislation/phytoprotection/autorisations-120-jours-pour-situations-durgence>, (20/12/2020).
- Pochubay E.A. & Grieshop M.J., 2012. Intraguild predation of *Neoseiulus cucumeris* by *Stratiolaelaps miles* and *Atheta coriaria* in greenhouse open rearing systems. *Biol. Control* **63**(2), 195–200.
- Poehling H. & Tenhumberg B., 1991. Different pattern of cereal aphid population dynamics in northern (Hannover-Göttingen) and southern areas of West Germany. *Bull. OILB SROP* **14**(4), 1–12.
- Poehling H., 1985. Einfluss von *Aphis fabae* Scop (Homoptera, Aphididae) auf den Protein und Aminosäurestoffwechsel von *Vicia faba* Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte. *Entomol* **4**, 366–369.
- Polis G., 1981. The Evolution and Dynamics of Intraspecific Predation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **12**(1), 225–251.
- Polis G.A. & Holt R.D., 1992. Intraguild predation: The dynamics of complex trophic interactions. *Trends Ecol. Evol.*
- Polis G.A. & McCormick S.J., 1986. Scorpions, spiders and solpugids: predation and competition among distantly related taxa. *Oecologia* **71**(1), 111–116.
- Polis G.A., Myers C.A. & Holt R.D., 1989. The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat each other. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **20**(1), 297–330.
- Pompon J., Quiring D., Giordanengo P. & Pelletier Y., 2010. Role of xylem consumption on osmoregulation in *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas). *J. Insect Physiol.* **56**(6), 610–615.
- Pompon J., Quiring D., Goyer C., Giordanengo P. & Pelletier Y., 2011. A phloem-sap feeder mixes phloem and xylem sap to regulate osmotic potential. *J. Insect Physiol.* **57**(9), 1317–1322.
- Powell G. & Hardie J., 2001. The chemical ecology of aphid host alternation: How do return migrants find the primary host plant? *Appl. Entomol. Zool.* **36**(3), 259–267.
- Putra N.S., Yasuda H. & Sato S., 2009. Oviposition preference of two hoverfly species in response to risk of intraguild predation. *Appl. Entomol. Zool.* **44**(1), 29–36.
- Rabasse J.-M. & van Steenis M.J., 1999. Biological Control of Aphids. Springer, Dordrecht, 235–243.
- Ragsdale D.W., Landis D.A., Brodeur J., Heimpel G.E. & Desneux N., 2011. Ecology and Management of the Soybean Aphid in North America. *Annu. Rev. Entomol.* **56**(1), 375–399.
- Rana J.S., Dixon A.F.G. & Jarosik V., 2002. Costs and benefits of prey specialization in a generalist insect predator. *J. Anim. Ecol.* **71**(1), 15–22.
- Ranjbar F., Michaud J.P., Jalali M.A. & Ziaaddini M., 2020. Intraguild predation between two lady beetle predators is more sensitive to density than species of extraguild prey. *BioControl* 1–13.
- Reader T., 2003. Strong interactions between species of phytophagous fly: a case of intraguild kleptoparasitism. *Oikos* **103**(1), 101–112.
- Rebollo S., Martínez-Hesterkamp S., García-Salgado G., Pérez-Camacho L., Fernández-Pereira J.M. & Jenness J., 2017. Spatial relationships and mechanisms of coexistence between dominant and subordinate top predators. *J. Avian Biol.* **48**(9), 1226–1237.
- Remaudière M. & Remaudière G., 1997. *Catalogue des Aphididae du monde : Homoptera, Aphidoidea*, Institut national de la recherche agronomique. Paris, 473.
- Riddick E.W., 2017. Spotlight on the positive effects of the ladybird *Harmonia axyridis* on agriculture. *BioControl*.
- Rogers T.L., Gouhier T.C. & Kimbro D.L., 2018. Temperature dependency of intraguild predation

- between native and invasive crabs. *Ecology* **99**(4), 885–895.
- Romeis J. & Zebitz C., 1997. Searching behavior of *Encarsia formosa* as mediated by colour and honeydew | Request PDF. *Entomol. Exp. Appl.* **82**(3), 299–309.
- Root R.B., 1967. The Niche Exploitation Pattern of the Blue-Gray Gnatcatcher. *Ecol. Monogr.* **37**(4), 317–350.
- Rosenheim J.A., 2005. Intraguild predation of *Orius tristicolor* by *Geocoris* spp. and the paradox of irruptive spider mite dynamics in California cotton. *Biol. Control* **32**(1), 172–179.
- Rosenheim J.A., Kaya H.K., Ehler L.E., Marois J.J. & Jaffee B.A., 1995. Intraguild predation among biological-control agents: Theory and evidence. *Biol. Control* **5**(3), 303–335.
- Rotheray G.E., 1987. Larval morphology and searching efficiency in aphidophagous syrphid larvae. *Entomol. Exp. Appl.* **43**(1), 49–54.
- Roubos C.R., Rodriguez-Saona C., Holdcraft R., Mason K.S. & Isaacs R., 2014. Relative toxicity and residual activity of insecticides used in blueberry pest management: Mortality of natural enemies. *J. Econ. Entomol.* **107**(1), 277–285.
- Rutkowski R., Gwiazdowska A., Ceryngier P., Kosewska A., Szymroszczyk P., Twardowska K. & Twardowski J., 2019. Microsatellite polymorphism suggests high genetic diversity but disrupted gene flow in the two-spot ladybird *Adalia bipunctata* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Coccinellidae) populations from diverse environments. *Ann. Zool.* **69**(2), 477.
- Sabri A., Vandermoten S., Leroy P.D., Haubruge E., Hance T., Thonart P., De Pauw E. & Francis F., 2013. Proteomic Investigation of Aphid Honeydew Reveals an Unexpected Diversity of Proteins. *PLoS One* **8**(9), 74656.
- Sales T.A. de, Daemon E. & Lopes J.F.S., 2016. Necrophagous or predators? The role of *Pheidole radoszkowskii* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) on *Rattus norvegicus* (Berkenhout) carcasses (Rodentia: Muridae). *J. Nat. Hist.* **50**(15–16), 971–974.
- Sandström J. & Moran N., 1999. How nutritionally imbalanced is phloem sap for aphids? *In: Proceedings of the 10th International Symposium on Insect-Plant Relationships*. Springer Netherlands, 203–210.
- Sandström J., Telang A. & Moran N.A., 2000. Nutritional enhancement of host plants by aphids - A comparison of three aphid species on grasses. *J. Insect Physiol.* **46**(1), 33–40.
- Sandström J.P. & Moran N.A., 2001. Amino acid budgets in three aphid species using the same host plant. *Physiol. Entomol.* **26**(3), 202–211.
- Santi F. & Maini S., 2005. Intra-guild predation and cannibalism between *Harmonia axyridis* and *Adalia bipunctata* adults and larvae: laboratory experiments. *Bull. Insectology* **58**(2), 135–140.
- Sasaki T., Aoki T., Hayashi H. & Ishikawa H., 1990. Amino acid composition of the honeydew of symbiotic and aposymbiotic pea aphids *Acyrtosiphon pisum*. *J. Insect Physiol.* **36**(1), 35–40.
- Say-Sallaz E., Chamaillé-Jammes S., Fritz H. & Valeix M., 2019. Non-consumptive effects of predation in large terrestrial mammals: Mapping our knowledge and revealing the tip of the iceberg. *Biol. Conserv.* **235**, 36–52.
- Schillewaert S., Parmentier T., Vantaux A., Van den Ende W., Vorburger C. & Wenseleers T., 2016. The influence of facultative endosymbionts on honeydew carbohydrate and amino acid composition of the black bean aphid *Aphis fabae*. *Physiol. Entomol.* **42**(2), 125–133.
- Schillewaert S., Vantaux A. & Van den Ende, Wim Wenseleers T., 2017. The effect of host plants on genotype variability in fitness and honeydew composition of *Aphis fabae*. *Insect Sci.* **24**(5), 781–788.
- Scholz D. & Poehling H.-M., 2000. Oviposition site selection of *Episyrphus balteatus*. *Entomol. Exp. Appl.* **94**(2), 149–158.
- Schwartzberg E.G., & Tumlinson J.H., 2014. Aphid honeydew alters plant defence responses. *Funct. Ecol.* **28**(2), 386–394.
- Sergio F. & Hiraldo F., 2008. Intraguild predation in raptor assemblages: A review. *Ibis (Lond. 1859)*. **150**(SUPPL.1), 132–145.
- Shaposhnikov G.C., 1981. The main features of the evolution of aphids. *Evol. Biosyst. Aphids, Proc. Int. Aphidol. Symp. Jablonna* 19–99.

- Shingleton A.W., Sisk G.C. & Stern D.L., 2003. Diapause in the pea aphid (*Acyrtosiphon pisum*) is a slowing but not a cessation of development. *BMC Dev. Biol.* **3**(1), 7.
- Snyder W.E., Clevenger G.M. & Eigenbrode S.D., 2004. Intraguild predation and successful invasion by introduced ladybird beetles. *Oecologia* **140**(4), 559–565.
- STATBEL, 2019. Exploitations agricoles et horticoles : Chiffres agricoles 2019. https://statbel.fgov.be/fr/themes/agriculture-peche/exploitations-agricoles-et-horticoles?fbclid=IwAR32CSYd1Ue_mYTikKkJfyE9LKBAtoA3EsqbregrnTpfX07-1fwNrMKIWais#figures, (20/12/2020).
- Stewart L.A., Dixon A.F.G., Ruzicka Z. & Ipert G., 1991. Clutch and egg size in ladybird beetles. *Entomophaga* **36**(3), 329–333.
- Stroyan G. H.L., 1984. Aphids-Pterocommatinae and Aphidinae (Aphidini). *Handbooks Identif. Br. Insects* **2**(6), 129–138.
- Sutherland J., Sullivan M. & Poppy G., 2001. Oviposition behaviour and host colony size discrimination in *Episyrphus balteatus*. *Bull. Entomol. Res.* **91**(5), 411–8.
- Taylor S.H., Parker W.E. & Douglas A.E., 2012. Patterns in aphid honeydew production parallel diurnal shifts in phloem sap composition. *Entomol. Exp. Appl.* **142**(2), 121–129.
- Tena A., Pekas A., Wäckers F.L. & Urbenaneja A., 2013. Energy reserves of parasitoids depend on honeydew from non-hosts. *Ecol. Entomol.* **38**(3), 278–289.
- Tornier I. & Drescher W., 1991. Development of a method for mass production of the pollinator and aphid predator *Episyrphus balteatus* DeGeer (Diptera: Syrphidae). *Acta Hort.* **288**, 464–468.
- Traugott M., Bell J.R., Raso L., Sint D. & Symondson W.O.C., 2012. Generalist predators disrupt parasitoid aphid control by direct and coincidental intraguild predation. *Bull. Entomol. Res.* **102**(2), 239–247.
- van Neerbos F.A.C., Boer J.G., Salis L., Tollenaar W., Kos M., Vet L.E.M. & Harvey J.A., 2020. Honeydew composition and its effect on life-history parameters of hyperparasitoids. *Ecol. Entomol.* **45**(2), 278–289.
- Vanhaelen N., Gaspar C. & Francis F., 2002. Influence of prey host plant on a generalist aphidophagous predator: *Episyrphus balteatus* (Diptera: Syrphidae). *Eur. J. Entomol.* **99**, 561–564.
- Vanlerberghe-Masutti F., Guillemaud T. & INRAE, 2007. La résistance des pucerons aux insecticides. *Biofutur* (279), 27–30.
- Verheggen F.J., Arnaud L., Bartram S., Gohy M. & Haubruge E., 2008. Aphid and plant volatiles induce oviposition in an aphidophagous hoverfly. *J. Chem. Ecol.* **34**(3), 301–307.
- Völkl W., 1992. Aphids or their parasitoids: who actually benefits from ant-attendance? *J. Anim. Ecol.* **61**, 273–281.
- Von Dohlen C.D., Rowe C.A. & Heie O.E., 2006. A test of morphological hypotheses for tribal and subtribal relationships of Aphidinae (Insecta: Hemiptera: Aphididae) using DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* **38**(2), 316–329.
- Voynaud L., 2008. Prédation intraguild entre prédateurs actif et furtif au sein d'une guildé aphidiphage. Mémoire. Montréal (Québec, Canada), Université du Québec à Montréal, Maîtrise en biologie.
- Wäckers F.L., 2000. Do oligosaccharides reduce the suitability of honeydew for predators and parasitoids? A further facet to the function of insect-synthesized honeydew sugars on JSTOR. *Oikos* **90**(1), 197–201.
- Way M.J., 1963. Mutualism Between Ants and Honeydew-Producing Homoptera. *Annu. Rev. Entomol.* **8**, 307–344.
- White C. & Eigenbrode S.D., 2000. Leaf surface waxbloom in *Pisum sativum* influences predation and intra-guild interactions involving two predator species. *Oecologia* **124**(2), 252–259.
- Wilkinson T.L., Ashford D.A., Pritchard J. & Douglas A.E., 1997. Honeydew sugars and osmoregulation in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *J. Exp. Biol.* **200**(15), 2137–2143.
- Wilson L.J., Bauer L.R. & Walter G.H., 1996. "Phytophagous" thrips are facultative predators of twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae) on cotton in Australia. *Bull. Entomol. Res.* **86**(3), 297–305.

- Woodring J., Wiedemann R., Fischer M.K., Hoffmann K.H. & Volkl W., 2004. Honeydew amino acids in relation to sugars and their role in the establishment of ant-attendance hierarchy in eight species of aphids feeding on tansy (*Tanacetum vulgare*). *Physiol. Entomol.* **29**(4), 311–319.
- Wool D., Hendrix D.L. & Shukry O., 2006. Seasonal variation in honeydew sugar content of galling aphids (Aphidoidea: Pemphigidae: Fordinae) feeding on Pistacia: Host ecology and aphid physiology. *Basic Appl. Ecol.* **7**(2), 141–151.
- Ximenez-Embun M.G., Zaviezo T. & Grez A., 2014. Seasonal, spatial and diel partitioning of *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae) predators and predation in alfalfa fields. *Biol. Control* **69**, 1–7.
- Yang J.W., Wu W., Chung C.C., Chiang K.P., Gong G.C. & Hsieh C.H., 2018. Predator and prey biodiversity relationship and its consequences on marine ecosystem functioning - Interplay between nanoflagellates and bacterioplankton. *ISME J.* **12**(6), 1532–1542.
- Yao I. & Akimoto S., 2001. Ant attendance changes the sugar composition of the honeydew of the drepanosiphid aphid *Tuberculatus quercicola*. *Oecologia* **128**, 36–43.
- Yao I. & Akimoto S., 2002. Flexibility in the composition and concentration of amino acids in honeydew of the drepanosiphid aphid *Tuberculatus quercicola*. *Ecol. Entomol.* **27**(6), 745–752.
- Zarei M., Madadi H., Zamani A.A. & Nedvěd O., 2020. Intraguild Predation between *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) and *Hippodamia variegata* (Coleoptera: Coccinellidae) at Various Extraguild Prey Densities and Arena Complexities. *Insects* **11**(5), 288.
- Zipfel C., 2009. Early molecular events in PAMP-triggered immunity. *Curr. Opin. Plant Biol.* **12**(4), 414–420.

Annexes

1. Tenue des élevages



Figure supplémentaire 1 : Boîte d'élevage d'*A.bipunctata*



Figure supplémentaire 2 : Cages de vol pour *Episyrrhus balteatus*



Figure supplémentaire 3 : *Episyrphus balteatus* en train de consommer du pollen broyé déposé sur une couche de miel.



Figure supplémentaire 4: Méthode de récolte de miellat de masse ©Bastien Fossion



Figure supplémentaire 5: Méthode quantitative de récolte de miellat

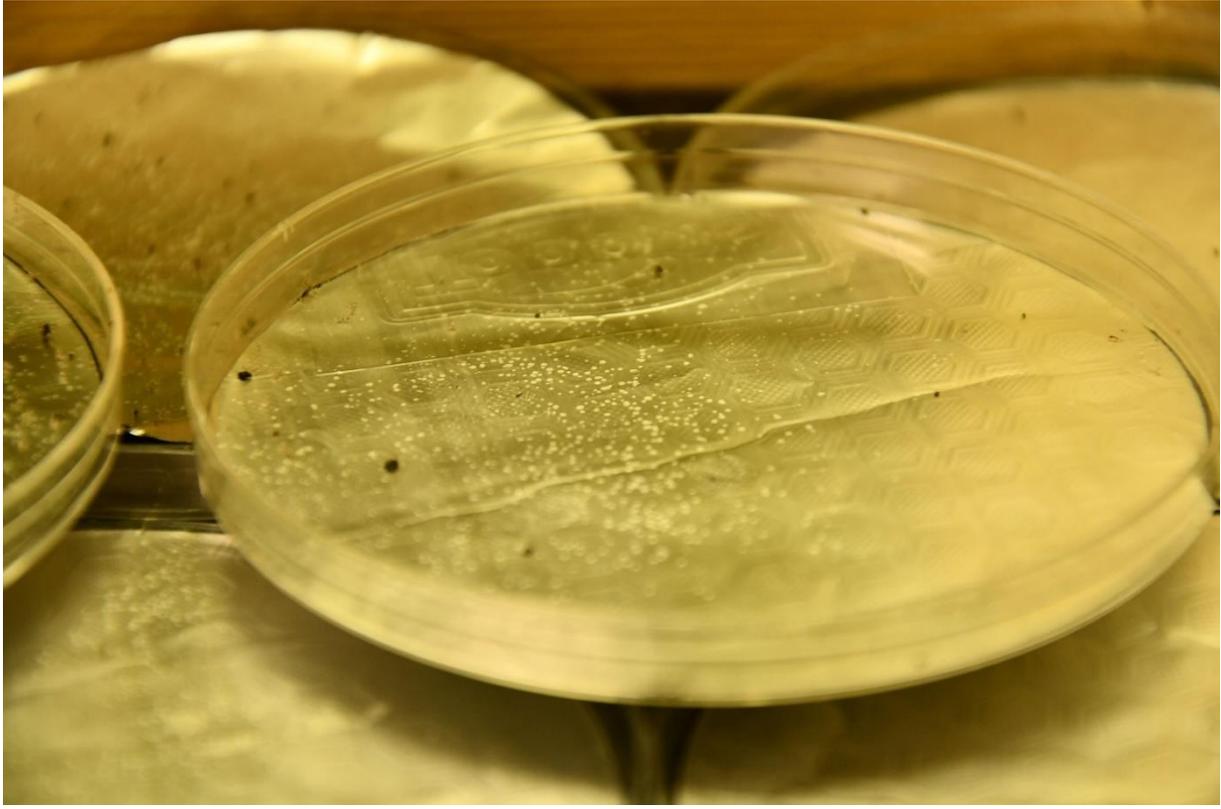


Figure supplémentaire 6: Miellat de *A. fabae* récolté sur un disque en aluminium



Figure supplémentaire 7: Larve de coccinelle dans sa boîte d'élevage



Figure supplémentaire 8: *E. balteatus* en position d'oviposition sur *Vicia faba*

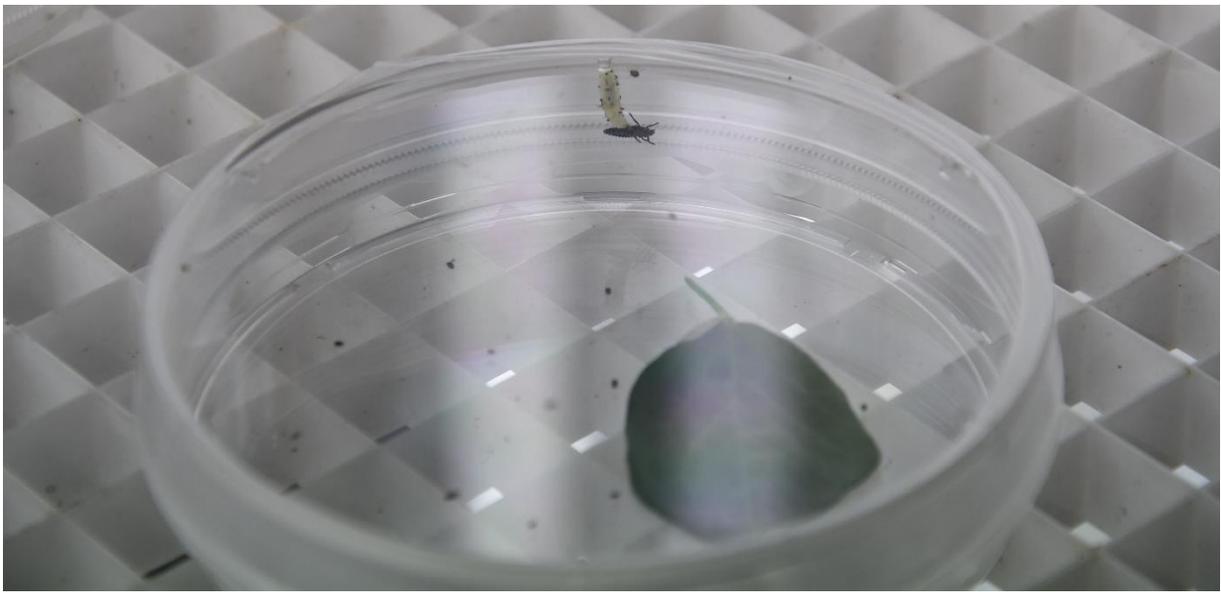


Figure supplémentaire 9: Combat entre une larve d'*Episyrphus balteatus* et une larve d'*Adalia bipunctata* en Arène

2. Tracing des échantillons de miellat récoltés

Numéro tube	Date récolte	Récolteur	Espèce de puceron	Plante hôte	Modalité récolte/temps	Concentration Miellat (g/L)
1-F-V-24	18-6-2020	Lucas Contino	A.fabae	Vicia faba	24h	
2-F-V-24	30-06-20	Laura Hulot	A.fabae	Vicia faba	24h	
3-F-V-24	30-06	Laura Hulot	A.fabae	Vicia faba	24h	
4-F-V-24	02-07	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	24h	
5-F-V-24	01-07	Lucas Contino	A.fabae	Vicia faba	24h	
6-F-V-24	03-07	Laura Hulot	A.fabae	Vicia faba	24h	
7-F-V-24	02-07	Lucas Contino	A.fabae	Vicia faba	24h	
8-F-V-24	02-10	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	24h	1,38
1-F-V-48	15-10	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	48h	1,425
2-F-V-48	22-10	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	48h	3,82
3-FV-48	06-11	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	48h	2,325
4-F-V-48	11-11	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	48h	2,41
5-F-V-48	13-11	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	48h	2,52
6-F-V-48	20-11	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	48h	
7-F-V-48	25-11	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	48h	
1-F-V-72	08-10	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	72h	3,127
1-F-V-96	26-10	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	96h	6,91
2-F-V-96	20-11	Lallie Glacet	A.fabae	Vicia faba	96h	
1-P-V-12	03-06	Lucas Contino	A.pisum	Vicia faba	12h	
1-P-V-18	28-05	Lucas Contino	A.pisum	Vicia faba	18h	
2-P-V-18	28-05	Lucas Contino	A.pisum	Vicia faba	18h	
10-P-V-24	01-07	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	24h	
11-BF-P-V-24	30-10	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	24h	dilué avec 12ml
11-P-V-24	01-10	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	24h	7,58
12-P-V-24	02-10	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	24h	2,945454545
13-BF-P-V-24	13-11	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	24h	dilué avec 12ml
14-BF-P-V-24	20-11	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	24h	dilué avec 12ml
19-BF-P-V-24	1-12	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	24h	dilué avec 12ml
1-BF-P-V-24	13-10	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	24h	(dilué avec 15ml)
1-P-V-24	20-05	Lucas Contino	A.pisum	Vicia faba	24h	
2-BF-P-V-24	15-10	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	24h	(dilué avec 12ml)
2-P-V-24	20-05	Lucas Contino	A.pisum	Vicia faba	24h	
3-BF-P-V-24	20-10	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	24h	(dilué avec 12ml)
3-P-V-24	27-05	Lucas Contino	A.pisum	Vicia faba	24h	
4-P-V-24	04-06	Lucas Contino	A.pisum	Vicia faba	24h	
5-BF-P-V-24	23-10	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	24h	(dilué avec 12ml)
5-P-V-24	09-06	Laura Hulot	A.pisum	Vicia faba	24h	
6-P-V-24	23-06	Laura Hulot	A.pisum	Vicia faba	24h	
7-P-V-24	24-06	Laura Hulot	A.pisum	Vicia faba	24h	
8-P-V-24	24-06	Lucas Contino	A.pisum	Vicia faba	24h	
9-P-V-24	30-06	Lucas Contino	A.pisum	Vicia faba	24h	
10-BF-P-V-48	30-10	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	48h	dilué avec 12ml
12-BF-P-V-48	6-11	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	48h	dilué avec 12ml
15-BF-P-V-48	20-11	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	48h	dilué avec 12ml
1-P-V-48	16-10	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	48h	3,7545
20-BF-P-V-48	1-12	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	48h	dilué avec 12ml
24-BF-P-48	04-12	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	48h	dilué avec 12ml
2-P-V-48	22-10	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	48h	11,59
3-PV-48	06-11	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	48h	2,83333
4-P-V-48	11-11	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	48h	7,41
5-P-V-48	13-11	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	48h	10,37
6-BF-P-V-48	23-10	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	48h	(dilué avec 12ml)
6-P-V-48	20-11	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	48h	
7-P-V-48	25-11	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	48h	
1-P-V-6	25-05	Lucas Contino	A.pisum	Vicia faba	6h	
16-BF-P-V-72	20-11	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	72h	dilué avec 12ml
1-P-V-72	08-10	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	72h	4,36
21-BF-P-V-72	1-12	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	72h	dilué avec 12ml
7-BF-P-V-72	23-10	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	72h	(dilué avec 12ml)
9-BF-P-V-72	30-10	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	72h	dilué avec 12ml
17-BF-P-V-96	20-11	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	96h	dilué avec 12ml
18-BF-P-V-96	25-11	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	96h	dilué avec 12ml
1-P-V-96	26-10	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	96h	6,6
22-BF-P-V-96	1-12	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	96h	dilué avec 12ml
23-BF-P-V96	4-12	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	96h	dilué avec 12ml
2-P-V-96	20-11	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	96h	
4-BF-P-V-96	19-10	Bastien Fossion	A.pisum	Vicia faba	96h	(dilué avec 12ml)
8-BF-P-V-96	30-10	Lallie Glacet	A.pisum	Vicia faba	96h	dilué avec 12ml
1-B-48	16-10	Lallie Glacet	blanco	blanco	48h	dilué avec 4ml

3. Détails des analyses statistiques réalisées

Anova (LMM Densité en fonction du temps et de l'espèce de puceron)			
Facteur fixe pour LMM	χ^2	df	P-valeur
Puceron	40,132	1	< 0,001 ***
temps	9604,651	1	< 0,001 ***

Tableau supplémentaire 1 : résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire mixte décrivant l'évolution de la densité de pucerons.

Anova (LMM Densité en fonction du traitement pour <i>A. pisum</i>)			
Facteur fixe pour LMM	χ^2	df	P-valeur
Traitement de l'arène	70,876	3	< 0,001 ***
temps	6494,630	1	< 0,001 ***

Tableau supplémentaire 2 : résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire mixte décrivant l'évolution de la densité de pucerons *A. pisum* en fonction des traitements.

Structuration des moyennes - LMM Densité en fonction du traitement pour <i>A. pisum</i>				
facteurs fixes	Moyenne	Ecart-type	df	Groupe
Pucerons-miellat	1,27	0,024	22,3	A
Pucerons-prédateurs	1,29	0,0226	17,9	A
contrôle syrpe	1,36	0,0226	17,9	B
contrôle cox	1,41	0,0226	17,9	C

Tableau supplémentaire 3 : Classification des moyennes de densité de *A. pisum* pour les modalités de traitements de l'arène

Anova(LMM Densité en fonction du traitement pour <i>A. fabae</i>)			
Facteur fixe pour LMM	χ^2	df	P-valeur
Traitement de l'arène	56,831	3	< 0,001 ***
temps	5073,881	1	< 0,001 ***

Tableau supplémentaire 4 : résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire mixte décrivant l'évolution de la densité de pucerons *A. fabae* en fonction des traitements.

Structuration des moyennes - LMM Densité en fonction du traitement pour <i>A. fabae</i>				
modalité du facteur fixe	Moyenne	Ecart-type	df	Groupe
Pucerons-miellat	1,3	0,025	21,5	A
Pucerons-prédateurs	1,4	0,024	17,4	B
contrôle syrpe	1,42	0,024	17,4	BC
contrôle cox	1,45	0,024	17,4	C

Tableau supplémentaire 5 : Classification des moyennes de densité de *A. fabae* pour les modalités de traitements de l'arène

Anova (GLMM Combat en fonction du traitement et de l'espèce de puceron)			
Facteur fixe pour LMM	χ^2	df	P-valeur
Traitement de l'arène	12,352	3	0,006 **
Puceron	0,796	1	0,372

Tableau supplémentaire 6 : résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant l'occurrence des combats en fonction du traitement et de l'espèce de puceron.

Structuration des moyennes -GLMM Combat en fonction du traitement et de l'espèce de puceron				
Modalité du facteur fixe	Moyenne	Ecart-type	df	Groupe
Pucerons-prédateurs	-4,26	0,59	inf	A
Pucerons-miellat	-4,03	0,59	inf	AB
Miellat-prédateur	-2,66	0,32	inf	BC
Contrôle prédation	-2,58	0,24	inf	C

Tableau supplémentaire 7 : Classification des moyennes d'observation de combat pour les modalités de traitements de l'arène

Anova (GLMM léchage des cox en fonction du traitement et de l'espèce de puceron			
Facteur fixe pour LMM	χ^2	df	P-valeur
Traitement de l'arène	3,583	3	0,310
Puceron	0,201	1	0,654

Tableau supplémentaire 8 : résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant l'occurrence du léchage chez la larve de coccinelle en fonction du traitement et de l'espèce de puceron.

Anova (GLMM léchage des syrphes en fonction du traitement et de l'espèce de puceron			
Facteur fixe pour LMM	χ^2	df	P-valeur
Traitement de l'arène	17,255	2	< 0,001 ***
Puceron	< 0,001	1	0,987

Tableau supplémentaire 9 : résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant l'occurrence du comportement de léchage chez la larve de syrphe en fonction du traitement et de l'espèce de puceron.

Structuration des moyennes - GLMM léchage syrphe en fonction du traitement				
modalité du facteur fixe	Moyenne	Ecart-type	df	Groupe
Pucerons-miellat	-1,953	0,245	inf	A
Miellat-prédateurs	-0,773	0,174	inf	B

Tableau supplémentaire 10 : Classification des moyennes d'observation du comportement de léchage du miellat chez la larve de syrphe pour les modalités de traitements de l'arène qui comprennent du miellat.

Anova (GLMM mobilité des cox en fonction du traitement et de l'espèce de puceron			
Facteur fixe pour LMM	χ^2	df	P-valeur
Traitement de l'arène	42605	3	< 0,001 ***
Puceron	275	1	0,232

Tableau supplémentaire 11 : résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant l'occurrence du comportement de mobilité chez la larve de coccinelle en fonction du traitement et de l'espèce de puceron.

Structuration des moyennes -GLMM mobilité des cox en fonction du traitement et de l'espèce de puceron				
Modalité du facteur fixe	Moyenne	Ecart-type	df	Groupe
Contrôle cox	10,4	3,26	76	A
Pucerons-prédateurs	18,5	3,26	76	A
Contrôle prédation	24,3	4,6	76	A

Pucerons-miellat	56	3,26	76	B
Miellat-prédateur	68	3,26	76	C

Tableau supplémentaire 12 : Classification des moyennes d'observation du comportement de mobilité chez la larve de coccinelle pour les modalités de traitements de l'arène.

Anova (GLMM mobilité des syrphes en fonction du traitement et de l'espèce de puceron			
Facteur fixe pour LMM	χ^2	df	P-valeur
Traitement de l'arène	32484	3	< 0,001 ***
Puceron	149	1	0,30

Tableau supplémentaire 13 : résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant l'occurrence du comportement de mobilité chez la larve de syrphe en fonction du traitement et de l'espèce de puceron.

Structuration des moyennes -GLMM mobilité des syrphes en fonction du traitement et de l'espèce de puceron				
Modalité du facteur fixe	Moyenne	Ecart-type	df	Groupe
Contrôle syrphe	6,94	2,77	76	A
Pucerons-prédateurs	8,93	2,77	76	A
Contrôle prédation	10,29	3,92	76	A
Pucerons-miellat	29,38	2,77	76	B
Miellat-prédateur	59,74	2,77	76	C

Tableau supplémentaire 14 : Classification des moyennes d'observation du comportement de mobilité chez la larve de syrphe pour les modalités de traitements de l'arène.

GLMM Répartition des syrphes en fonction du temps				
Temps	Estimate	Erreur std	Z valeur	P-valeur
Intercept	1,70	0,77	2,218	0,027
30	0,86	1,29	0,666	0,505
45	1,69	1,27	1,331	0,182
60	0,97	1,06	0,914	0,361
90	-0,32	0,86	-0,368	0,713
120	-0,04	0,87	-0,046	0,964
240	-0,24	1,00	-0,238	0,811

Tableau supplémentaire 15: résultat du modèle linéaire généralisé mixte décrivant la répartition des syrphes sur les plants T et NT en fonction du temps.

Anova (Répartition des syrphes en fonction du temps et des traitements de miellat)			
Facteur fixe pour GLMM	χ^2	df	P-valeur
Traitements miellat	1,031	2	0,591
Temps	2,591	1	0,107

Tableau supplémentaire 16: résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant la répartition des syrphes sur les plants T et NT en fonction du temps et du traitement du miellat.

Répartition des syrphes en fonction du traitement et du temps					
Traitement	Temps d'observation	Ecart-type (T)	Ecart-type (NT)	Moyenne (T)	Moyenne(NT)
24h	15	1	0,58	1	0,33
24h	30	1,15	0	1,33	0
24h	45	1,15	0	3,67	0
24h	60	0,58	0	4,67	0
24h	90	0,58	0	4,67	0
24h	120	3	0	6	1
24h	240	0,58	0,58	1,33	0,33
48h	15	2	0,58	2	0,33
48h	30	2,31	0,58	1,33	0,33
48h	45	2	0,58	4	0,33
48h	60	1	0,58	3	0,33
48h	90	0	0,58	3	0,33
48h	120	1,73	0,58	3	0,66
48h	240	0	0,58	1	0,66
96h	15	1,15	0	0,66	0
96h	30	0,58	0	1,66	0
96h	45	1,15	0	2,33	0
96h	60	1	0,58	2	0,33
96h	90	0	0,58	4	0,66
96h	120	0,58	0,58	3,33	0,66
96h	240	0	0	2	0

Tableau supplémentaire 17: Moyennes et écart-type du nombre de syrphes présents sur le plant traité (T) et sur le plant témoin (NT) en fonction du traitement et du temps d'observation.

GLMM Répartition 50-50 entre T et NT				
Intercept GLMM	Estimate	Erreur std	z-value	P-valeur
Binomial	-1,93	0,22	-8,825	< 0,001 ***

Tableau supplémentaire 18: Modèle linéaire généralisé mixte comparant la répartition des syrphes sur les plants T et NT avec une répartition 50-50%.

Répartition entre T et NT				
Traitement	Moyenne (T)	Ecart-type (T)	Moyenne (NT)	Ecart-type (NT)
24h	3,1	2,17	0,48	0,68
48h	2,48	1,66	0,43	0,51
96h	2,29	1,23	0,24	0,44

Tableau supplémentaire 19: Nombre de syrphes présents à un instant donné sur le plant traité (T) et sur le plant témoin (NT) selon les modalités de traitement.

GLMM répartition T-NT par rapport au traitement				
Traitement	Estimate	Erreur std	z-value	P-valeur
Intercept	1,87	0,34	5,51	< 0,001
48h	-0,12	0,49	-0,24	0,812
96h	0,39	0,58	0,67	0,501

Tableau supplémentaire 20: résultat du modèle linéaire généralisé mixte décrivant la répartition des syrphes sur les plants T et NT en fonction du traitement.

Anova (GLMM répartition T-NT par rapport au traitement)			
Facteur fixe pour GLMM	χ^2	df	P-valeur
Traitement	0,759	2	0,684

Tableau supplémentaire 21: résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant la répartition des syrphes sur les plants T et NT en fonction du traitement.

GLMM Nombre d'œufs pondus selon les traitements				
Traitement	Estimate	Erreur std	z value	P-valeur
Intercept	2,22	0,13	17,71	< 0,001 ***
24h	3,36	0,14	23,75	< 0,001 ***
48h	3,19	0,15	21,88	< 0,001 ***
96h	2,93	0,14	20,86	< 0,001 ***

Tableau supplémentaire 22: résultat du modèle linéaire généralisé mixte représentant le nombre d'œufs en fonction du traitement.

Anova(GLMM Nombre d'œufs pondus selon les traitements)			
Facteur fixe pour GLMM	χ^2	df	P-valeur
Traitement	820,9	3	< 0,001 ***

Tableau supplémentaire 23: Résultat du test Chi² de Wald (type II) réalisé sur le modèle linéaire généralisé mixte décrivant le nombre d'œufs pondus sur une plante en fonction du traitement.

GLMM Nombre d'œufs pondus selon les traitements			
Traitements	Moyenne	Ecart-type	Groupe
NT	2,22	0,13	A
96h	5,15	0,11	B
48h	5,41	0,11	BC
24h	5,58	0,11	C

Tableau supplémentaire 24: Moyennes et écart-types du nombre d'œufs pondus selon les traitements. Les lettres répartissent les traitements selon des groupes de moyennes équivalentes.

4. Résultats bruts issus du logiciel GCMSsolution

Name	m/z	Ret.time
Isovaleric aldéhyde	44	2,16
2-méthyl-butanal	57	2,245
diméthyl-silane diol	77	3,315
Diméthyle disulfide	94	3,535
Hexaméthyl-cyclotrisiloxane	207	5,325
2,4-Diméthyl-1-heptène	43	6,065
2-Isobutyl-3-méthylpyrazine	108	8,58
2,5-Diméthylhexane-2,5-dihydroperoxide	43	9,15
Benzaldéhyde	106	10,345
Octaméthyl-cyclotétrasiloxane	281	11,005
2,3-bis(tert-butyl-oxo)-p-dioxane	57	11,56
Benzèneacétaldéhyde	91	13,105
Acétophenone	105	13,865
4-méthyl-benzaldéhyde	119	14,475
2,5-Dihydroxybenzaldéhyde, dérivé du 2TMS	267	15
Décaméthyl-Cyclopentasiloxane	73	16,13
L-.alpha.-Terpinéol	59	18,11
Octaméthyl-cyclotétrasiloxane	281	18,785
Acide phosphonoacétique, dérivé du 3TMS	341	19,195
Dodécaméthyl-cyclohexasiloxane	341	21,29
Décaméthyl-cyclopentasiloxane	73	23,025
Tétradécaméthyl-cycloheptasiloxane	281	26,065
2,4-Di-tert-butylphénol	191	27,225

Liste 1 : Composés volatiles retrouvés dans le milieu 863 non inoculé (témoin).

Name	m/z	Ret.time
Acétone	43	2,02
3-méthyl-butanal	57	2,115
2-méthyl-butanal	57	2,16
Diméthyl-silane diol	77	2,69
3-méthyl-1-butanol	55	3,315
Toluène	91	3,92
Hexaméthyl-cyclotrisiloxane	207	5,235
2-méthyl-pyrazine	94	5,63
2,4-Diméthyl-1-heptène	43	5,985
Acétate de 3-méthylbutyle	43	7,285
2,5-diméthyl-pyrazine	108	8,55
2,5-Diméthylhexane-2,5-dihydroperoxide	43	9,11
4-méthyl-2-heptanone	43	9,335
Benzaldéhyde	106	10,225
Diméthyl-trisulfide	126	10,395
Octaméthyl-cyclotétrasiloxane	281	10,98
2,3-bis(tert-butyl-oxo)-p-dioxane	57	11,54
2-éthyl-5-méthyl-pyrazine	122	11,66
2-Acétylthiazole	43	12,21
Benzèneacétaldéhyde	91	13,09
Phénylacétate de 2-(adamantan-1-yl)éthyle	207	14,22
4-méthyl-benzaldéhyde	119	14,46
2,5-Dihydroxybenzaldéhyde, dérivé du 2TMS	267	15,01
Nonanal	57	15,145
Phényléthanol	91	15,485
Décaméthyl-cyclopentasiloxane	73	16,125
L-.alpha.-Terpinéol	59	18,115
Acide phosphonoacétique, dérivé du 3TMS	341	19,205
1,3-bis(1,1-diméthyléthyl)-benzène	175	19,675
Acétate de 2-phényléthyle	104	19,91
Dodécaméthyl-cyclohexasiloxane	341	21,285
Tétradécaméthyl-cycloheptasiloxane	281	26,055
2,4-Di-tert-butylphénol	191	27,215

Liste 2 : Composés volatiles retrouvés dans l'échantillon 1 (milieu 863 inoculé avec *S. sciuri*)

Name	m/z	Ret.time
3-méthyl-butanal	44	2,345
2-méthyl-butanal	57	2,395
Acétone	60	2,83
3-méthyl-1-butanol	55	3,545
Toluène	91	4,165
Hexaméthyl-cyclotrisiloxane	207	5,425
2,4-Diméthyl-1-heptène	43	6,14
Acétate de 3-méthylbutyle	43	7,415
2,5-diméthyl-pyrazine	108	8,68
2,5-Diméthylhexane-2,5-dihydroperoxide	43	9,2
4-méthyl-2-Heptanone	43	9,415
Benzaldéhyde	106	10,305
Diméthyl-trisulfide	126	10,465
Octaméthyl-cyclotétrasiloxane	281	11,03
2,3-bis(tert-butyloxy)-p-dioxane	57	11,59
Benzèneacétaldéhyde	91	13,13
4,6-diméthyl-2-heptanone	43	13,42
Acétophénone	105	13,89
Hexaméthyl-cyclotrisiloxane	207	14,25
4-méthyl-benzaldéhyde	119	14,495
2,2'-Anhydro-1-arabinofuranosyluracil	105	14,855
2,5-Dihydroxybenzaldéhyde, dérivé du 2TMS	267	15,025
Nonanal	57	15,165
Phényléthanol	91	15,535
Décaméthyl-cyclopentasiloxane	73	16,145
L-.alpha.-Terpineol	59	18,13
Décanal	57	18,425
Octaméthyl-cyclotétrasiloxane	281	18,825
Acide phosphonoacétique, dérivé du 3TMS	341	19,205
1,3-bis(1,1-diméthyléthyl)-benzène	175	19,685
Acétate de 2-phényléthyle	104	19,92
Dodécaméthyl-cyclohexasiloxane	341	21,29
Tétradécaméthyl-cycloheptasiloxane	281	26,06
2,4-Di-tert-butylphénol	191	27,22

Liste 3: Composés volatiles retrouvés dans l'échantillon 2 (milieu 863 inoculé avec *S. sciuri*)

5. Molécules volatiles du miellat retrouvées dans différents milieux par GSCMS(Leroy, Sabri, et al., 2011).

Retention time (min)	Volatile compounds	Crude honeydew	Sterilized honeydew	<i>S. sciuri</i> - reinoculated honeydew	<i>A. calcoaceticus</i> - reinoculated honeydew	863 liquid medium	<i>S. sciuri</i> -inoculated 863 liquid medium	<i>A. calcoaceticus</i> - inoculated 863 liquid medium
1.44	Propanone	9.25±2.99	24.62±6.78	10.27±3.20	17.45±5.86	25.63±9.34	15.58±6.46	24.27±10.54
1.76	2,3-Butanedione	2.31±1.26	40.54±13.43	3.56±1.78	15.32±4.63	14.15±5.71	3.14±1.74	31.47±9.55
2.23	3-Methylbutanal	14.01±3.24		5.64±2.65	17.36±6.93	8.98±2.96		
2.32	2-Methylbutanal	12.92±1.33		8.79±1.97	9.56±5.61			12.76±4.26
3.24	3-Hydroxy-2-butanone	0.78±0.24	4.77±2.38	3.12±1.29	2.76±1.32		3.19±1.34	6.21±2.45
3.29	3-Methyl-3-buten-1-ol	0.89±0.39	5.64±2.73	1.05±0.64				
3.36	3-Methyl-1-butanol	12.32±5.58		4.57±1.03		34.22±13.45	24.75±12.75	15.54±5.47
4.37	2-Methyl-2-buten-1-ol	14.41±1.39		21.61±7.32				
4.61	3-Methyl-2-butenal	10.73±2.71		15.82±3.65			14.46±6.34	
5.65	Butanoic acid	6.24±3.45	24.43±8.65	5.67±2.76			12.89±4.67	
9.22	3-Methylbutanoic acid	4.56±0.45		8.67±3.12			9.53±3.56	
9.88	2-Methylbutanoic acid	6.73±5.55		7.31±3.57			9.76±2.87	
10.54	2,5-Dimethylpyrazine	0.31±0.16		1.86±0.89		0.70±0.27	3.10±1.14	1.87±0.98
16.04	Limonene	2.81±0.17			33.1±12.87			
19.92	Benzeneethanol	1.73±0.50		2.06±1.07	4.45±1.75	0.89±0.13	3.60±1.43	7.88±2.67