

Évaluation de la résistance variétale de la betterave sucrière et de ses effets sur le comportement d'alimentation du puceron *Myzus persicae*

Auteur : Trofino, Arnaud

Promoteur(s) : Francis, Frédéric

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

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

Année académique : 2022-2023

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/18180>

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.

ÉVALUATION DE LA RÉSISTANCE VARIÉTALE DE LA
BETTERAVE SUCRIÈRE ET DE SES EFFETS SUR LE
COMPORTEMENT D'ALIMENTATION DU PUCERON *MYZUS*
PERSICAE

ARNAUD TROFINO

Travail de fin d'études présenté en vue de l'obtention du diplôme de master bio-ingénieur en sciences
agronomiques

Année universitaire 2022 - 2023

PROMOTEUR : Pr. Frédéric Francis

© 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 académique de Gembloux Agro-Bio Tech.

Le présent document n'engage que son auteur.

© Any reproduction of this document, by any means whatsoever, is only allowed with the authorization of the author and the academic authority of Gembloux Agro-Bio Tech.

This document reflects only the views of its author.

ÉVALUATION DE LA RÉSISTANCE VARIÉTALE DE LA
BETTERAVE SUCRIÈRE ET DE SES EFFETS SUR LE
COMPORTEMENT D'ALIMENTATION DU PUCERON *MYZUS*
PERSICAE

ARNAUD TROFINO

Travail de fin d'études présenté en vue de l'obtention du diplôme de master bio-ingénieur en sciences
agronomiques

Année universitaire 2022 - 2023

PROMOTEUR : Pr. Frédéric Francis

Remerciements

Ce mémoire conclut ces cinq dernières années d'études. En effet, il m'aurait été impossible d'en arriver là sans le soutien de certaines personnes que je tenais à remercier.

Tout d'abord, je tenais à remercier mon Promoteur, le professeur Frédéric Francis, pour son avis éclairé et pour l'opportunité qu'il m'a offert de travailler dans le service d'entomologie. Je tiens, d'ailleurs, à remercier l'ensemble de l'unité d'entomologie et plus particulièrement Émilie Béra pour sa bienveillance et sa patience, sans oublier mon encadrante, Lallie Glacet pour ses conseils judicieux et son soutien. Un grand merci également à Christiane Then pour son encadrement et à Ibtissem Ben Fehki pour sa sagesse et sa bienveillance. Je voulais aussi remercier Clémence Braun, étudiante de l'Université de Dijon, qui fut d'une grande aide.

Ensuite, il était important pour moi de remercier ma famille, qui au travers de ces années m'a soutenu dans les moments les plus difficiles et les plus joyeux. Un grand merci à mes quatre parents (comme j'aime les appeler) à savoir ma maman : Valérie Winant, mon papa : Philippe Trofino, mon beau-père : Guy Nyssen, et pour finir ma belle-mère : Céline Potvin.

Un tout grand merci à mon frère, Guillaume Trofino, pour nos débats et nos échanges riches de sens.

Un immense merci à ma partenaire, Claire, pour son soutien sans faille, surtout durant derniers mois.

Enfin, j'aimerais remercier ceux qui ont fait de ces années, des années folles. Un immense merci à l'AG et plus précisément aux équipes-bars dont j'ai fait partie ainsi qu'à celle de cette année. Un tout grand merci aux OF7 pour ma retraite dorée. Merci aussi aux colocataires de mes différents Kots. Merci à l'ensemble des personnes merveilleuses que j'ai pu rencontrer au sein de ces murs et qui m'ont permis de grandir et d'en arriver là aujourd'hui. Merci à Rem's, Sky, Johnny, Bigou, Lounis, Pierre, Louis, Grygry, Tinmar, Verjaune, Rizzo, Tom, Aenor et Muller.

Résumé

Récemment, l'Europe a interdit l'usage de certains insecticides, dont les néonicotinoïdes. Ces interdictions engendrent la recrudescence de maladies qui étaient contrôlées depuis longtemps dans nos régions du monde, telles que la jaunisse de la betterave, responsable de pertes de rendement conséquentes. En vue de développer des solutions durables pour contrôler le *Beet Mild Yellow Virus* (BMV) ainsi que son vecteur principal, *Myzus persicae*, certains semenciers ont développé des variétés annoncées comme résistantes. Les objectifs de ce mémoire consistent à réaliser une analyse éthologique et virologique de cette prétendue résistance. Afin d'établir l'analyse comportementale, l'ElectroPénétrationGraphie (EPG) ainsi que des tests de choix ont été effectués. En ce qui concerne l'analyse virologique, elle a été réalisée à l'aide d'une méthode immuno-enzymatique (ELISA pour « Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay ») permettant de mesurer les charges virales par lecture de l'absorbance.

Les tests ELISA ont mis en évidence qu'il existe une résistance si l'ensemble des variétés résistantes est considéré, mais ne permet pas d'affirmer une résistance au BMV pour une variété donnée.

Les résultats obtenus par l'EPG démontrent que la variété 8062 a induit une modification des phases alimentaires en augmentant l'apparition de phases xylémiennes et en provoquant un dérèglement des stylets. Cependant, cette variété semble plus sensible que les résistantes. En effet, cette variété tolère des phases d'alimentation phloémiques (phase d'alimentation normale de *M. persicae*) plus longues (en durée cumulée) que la variété résistante 8063.

Les résultats du test de choix ne permettent pas de déterminer s'il existe une réelle aversion de *M. persicae* pour les variétés annoncées comme résistantes. Néanmoins, d'autres expériences pourraient être intéressantes à réaliser afin les variétés 8063 et 8060 par un test de choix entre elles.

En conclusion, une résistance virologique certaines des variétés a pu être observée. En revanche, les modifications éthologiques observées sont moins précises et l'effet sur le comportement du puceron vecteur est plus nuancé.

Mots-clés : Interdiction, Insecticides, Néonicotinoïdes, Jaunisse de la betterave (BMV), Variétés résistantes, Éthologie, Virologie, EPG (Electrical Penetration Graph), ELISA, Betterave, Betterave sucrière, *Beta vulgaris var. saccharifera*.

Abstract

Recently, Europe implemented bans on the usage of several insecticides, including neonicotinoids. These bans have resulted in the resurgence of diseases that were previously under control in our regions, such as beet yellows, leading to significant yield losses. To address these challenges, certain seed companies have developed varieties that they claim to be resistant to *Beet Mild Yellow Virus* (BMV) and its primary vector, *Myzus persicae*. The objectives of this thesis encompass conducting both an ethological and virological analysis of the supposed resistance. For ethological analysis, an Electrical Penetration Graphy (EPG) and choice tests were performed. Concurrently, the virological analysis was based on ELISA for « Enzyme-Linked Immunosorbent Assay » tests to gauge various viral loads through absorbance measurements.

The ELISA test indicated an overall resistance when considering all the purportedly resistant varieties together. However, it did not unequivocally establish resistance to BMV in each individual variety.

The EPG results demonstrated that variety 8062 may induce alterations in feeding phases, potentially increasing the occurrence of the xylem phase while causing disruptions in the stylets. Nevertheless, this particular variety seemed to be more susceptible compared to the other resistant variants. In fact, this variety tolerates more extended phloem feeding phases (the standard feeding phase of *M. persicae*) in cumulative duration when contrasted with the resistant variety 8063.

The outcomes from the choice test do not offer a definitive determination regarding the actual aversion of *M. persicae* towards the resistant varieties. Nevertheless, based on the findings, it might be worthwhile to compare varieties 8063 and 8060 using a choice test specifically between these two varieties.

In summary, the virological analysis revealed resistance within the supposedly resistant varieties. However, the observed ethological changes were somewhat less precise and require further qualification.

Table des matières

1	Introduction générale	8
2	État de l'art	9
2.1	<i>Myzus persicae</i> : un important ravageur	9
2.1.1	Taxonomie, origine et distribution	9
2.1.2	Biologie de <i>Myzus persicae</i>	11
2.1.3	Description morphologique des larves	13
2.1.4	Description morphologique de l'imago	13
2.1.5	Alimentation	14
2.1.6	Nuisibilité et importance économique	14
2.2	La betterave sucrière : une culture économiquement importante	15
2.2.1	Taxonomie	15
2.2.2	Importance agronomique et répartition	15
2.2.3	Les produits phytosanitaires dans la culture de la betterave sucrière :	16
2.3	Pathologies : Les virus de la betterave et leurs dangers	18
2.3.1	Rendement	18
2.3.2	Répartition	19
2.3.3	Propagation :	20
2.3.4	Hôtes et réservoirs du virus :	20
2.3.5	Détection des virus :	21
3	Objectifs de recherche	22
4	Matériel et méthodes	23
4.1	Matériel inerte et vivant	23
4.1.1	Conduite de <i>Beta vulgaris var. saccharifera</i>	23
4.1.2	Conduite de l'élevage de <i>Myzus persicae</i>	24
4.2	Expérimentation et méthode :	24
4.2.1	Test de transmission et Elisa	24
4.2.2	L'électropénétrographie	27
4.2.3	Test de choix	29
4.3	Analyses statistiques	30
4.3.1	Statistiques du test ELISA	30
4.3.2	Statistiques de l'EPG	30
4.3.3	Statistiques du test de choix	31
5	Résultats	32
5.1	Évaluation de la charge virale par test ELISA	32
5.1.1	Statistiques descriptives	32
5.1.2	Statistiques appliquées	32
5.2	5.2 Comportements alimentaires des pucerons par l'EPG	33
5.2.1	Statistiques descriptives	33
5.2.2	Statistiques appliquées	33
5.3	Tests de choix de variétés de betteraves par les pucerons.	37
5.3.1	Statistiques descriptives	37
5.3.2	Statistiques appliquées	37
6	Discussions	38
6.1	6.1 Evaluation de la charge virale par ELISA	38
6.2	Comportements alimentaires des pucerons par EPG	38
6.3	Tests de choix de variétés de betteraves par les pucerons	40
7	Conclusions et perspectives	41
8	Contribution personnelle	41

9	Annexes	46
9.1	Normalité des résultats de l'EPG	46
9.2	Graphique récapitulatif du test ELISA	47
9.3	Statistiques descriptives des EPG	48
9.4	Explication de l'ensemble des phases d'alimentations observables par l'EPG	50

Table des figures

1	Représentation géographique de la structure génétique des différents clones de <i>Myzus persicae</i> regroupés par pays d'origine (SINGH et al. 2021)	11
2	Cycle reproductif de <i>Myzus persicae</i> montrant l'alternance des phases sexuées et asexuées en fonction des saisons (DELUZARCHE 2023)	12
3	Schéma représentant les deux possibilités de croissance de <i>Myzus persicae</i> en fonction des conditions environnementales (Encyclop Aphid, 2019).	12
4	Illustration de la forme ailée d'un puceron adulte chez <i>Myzus persicae</i>	13
5	Illustration de <i>M. persicae</i> adulte de forme aptère	14
6	Répartition géographique de <i>Beta vulgaris</i> var. <i>saccharifera</i> (CABI 2021)	15
7	Classement des différents pays d'Europe en fonction de leur rendement par hectare de betterave sucrière en 2018 (<i>Netherlands</i> , 2019) ³	16
8	Schéma explicatif du blocage des récepteurs nicotiniques par les néonicotinoïdes (BODEREAU 2012)	17
9	Graphique reprenant les pertes de rendements engendrées par les différents virus en mono, co et multi-infections (<i>ITB2020</i>) ⁵	18
10	Tableau récapitulatif des pourcentages d'échantillons positifs à la présence de BYV, des Polerovirus, ou BtMV (<i>ITB2020</i>) ⁵	19
11	Tableau récapitulatif du nombre d'échantillons positifs à la présence de BMV, de BChV et BWYV en culture de betteraves (<i>ITB2020</i>) ⁵	19
12	Schéma explicatif de la méthode ELISA (<i>Moleculardevice2020</i>) ⁶	21
13	Schéma d'une plaque ELISA : la première colonne est composée de deux puits remplis de « substrate buffer » ensuite les quatre puits suivants sont les contrôles négatifs et positifs, les deux derniers puits étant vides. Le reste de la plaque est constitué des échantillons, chaque puits correspond à une plante et chaque couleur à une association entre une variété et un clone de <i>Myzus persicae</i>	26
14	Schéma explicatif du dispositif de l'Electro-Penetro-Graphie	27
15	Illustration de l'Electro-Penetro-Graphie sur des plants de betterave sucrière	28
16	Illustration des ondulations perçues pendant la réalisation de l'EPG	28
17	Dispositif expérimental du test de choix	29
18	Charges virales moyennes des variétés de betteraves de référence (R et S pour résistante et sensible).	32
19	Graphique synthétique des résultats du test de Dunn.	36
20	Graphiques permettant d'étudier la normalité des populations issues de comptage	46
21	Boxplot du test ELISA	47
22	Moyenne précise des modalités du test ELISA	47
23	Graphique du modèle GLMM	47

Liste des tableaux

1	Tableau récapitulatif de l'ensemble des noms de <i>M. persicae</i> dans la littérature	10
2	Synthèse indiquant les différents modes de transmission en fonction de chaque virus (<i>ITB2020</i>) ⁵	20
3	Tableaux répertoriant la sensibilité de chaque variété à la jaunisse de la betterave ainsi que le numéro utilisé pour les citer dans ce travail.	23
4	Tableaux reliant les dates d'arrivée au laboratoire de chaque clone de <i>Myzus persicae</i> à leur provenance.	24
5	Tableau récapitulatif des formulations des différents tampons utilisés pour les tests ELISA.	25
6	Récapitulatif de l'ensemble des paramètres de l'EPG sélectionné	30
7	Tableau récapitulatif des statistiques descriptives de la GLMM	32
8	Tableau récapitulatif de la GLMM	32
9	Tableau récapitulatif de chaque ordonnée à l'origine déterminé par le modèle pour chaque plaque utilisée.	33
10	Tableau récapitulatif des résultats de la fonction ANOVA appliquée sur le modèle GLMM	33
11	Tableau récapitulatif des valeurs du test de Kruskal-Wallis	34
12	Résultat du Test de Dunn afin d'observer la structuration des moyennes.	34
13	Tableau récapitulatif des tests Shapiro et Wilk pour les paramètres de durée de phase	35
14	Tableau des statistiques descriptives liées aux durées d'observations.	37
15	Tableau des statistiques descriptives liées au facteur variété	37
16	Résumé du test de Shapiro appliqué sur la distribution du nombre de pucerons par betterave de variétés différentes.	37

Liste des abréviations

BMV : Beet mild yellow virus

EPG : Électropenetrographie

ELISA : Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay.

MYZ-1 : Clone de myzus persicae étudié lors de ce mémoire

BYV : beet yellow virus

BChV : beet chlorosis virus

BtMV : beet mozaic virus

ITB : institut technique de la betterave

PCR : Polymerase Chain reaction

TFE : travail de fin d'étude, mémoire

IRBAB : Institut Royal Belge pour l'Amélioration de la Betterave asbl

GLMM : Global linear mixed model

K-W : Kruskal-wallis

HR : Humidité relative

1 Introduction générale

Dans le cadre de la pollution mondiale de notre planète, l'agriculture tient un rôle essentiel. Les grandes puissances de ce monde commencent à le réaliser et à prendre des mesures pour limiter l'impact environnemental de nos productions agricoles. Cependant, ces mesures engendrent souvent des changements radicaux auxquels les producteurs et industriels ne sont pas préparés.

Par exemple, en Europe, l'interdiction de l'usage des néonicotinoïdes en vue de protéger les insectes pollinisateurs (TU et CHEN 2021) a provoqué une recrudescence des cas de jaunisse de la betterave. La jaunisse est un problème majeur de l'industrie sucrière, car elle entraîne de grandes pertes de rendement (HOSSAIN et al. 2021).

En Belgique, l'industrie sucrière est un secteur fort développé avec une activité économique importante dont la majorité de la population dépend directement ou indirectement. L'ensemble de la filière est représenté sur le territoire, de sa production à sa consommation en passant par sa transformation.

Afin de conserver et de protéger ce secteur économique, et dans le but de respecter l'environnement, il est désormais nécessaire de développer des solutions durables afin de lutter plus « proprement » contre les pertes de rendement engendrées par les viroses de la jaunisse de la betterave.

Les solutions de lutte sont nombreuses et s'axent majoritairement autour de l'interaction betteraves-virus et betteraves-pucerons. Ainsi, certaines entreprises de semences ont mis au point des variétés « résistantes » aux différents virus qui composent la jaunisse de la betterave. Dans le cadre de ce mémoire, nous tenterons d'observer comment cette résistance variétale se traduit pour le BMV et si celle-ci a un impact éthologique sur une population de *Myzus persicae* originaire de Belgique.

2 État de l'art

2.1 *Myzus persicae* : un important ravageur

2.1.1 Taxonomie, origine et distribution

Myzus persicae a été décrit pour la première fois par Sluzer en 1776 sous le nom d'*Aphis persicae*. Ensuite, d'autres taxonomistes comme Börner (1952) et Remaudiere collecteront l'ensemble des noms du puceron afin d'en déterminer une liste. La taxonomie actuelle sera apportée par Blackman et Paterson (1986). Cette dernière classification fait référence à la large gamme d'hôtes sur lesquels *M. persicae* peut se développer, et ce, même s'il existe au sein de cette espèce des populations adaptées à un type d'hôte précis comme le tabac.

Taxonomie complète de *Myzus Persicae* :

Domaine : Eukaryota

Règne : Metazoa

Phylum : Arthropoda

Sub-phylum : Uniramia

Classe : Insecta

Ordre : Hemiptera

Sous-ordre : Sternorrhyncha

Super-famille : Aphidoidea

Famille : Aphididae

Genre : *Myzus*

Espèces : *Myzus persicae*

M. persicae se retrouve sur l'ensemble des continents et possède donc de nombreuses appellations vernaculaires. De plus, il s'agit d'une espèce largement étudiée à travers le monde, et ce, depuis minimum 1776 (date de la première description par Sluzer), ce qui lui confère également de nombreux noms au sein de la littérature scientifique (Tableau :1).

TABLE 1 – Tableau récapitulatif de l'ensemble des noms de *M. persicae* dans la littérature

Autres noms scientifiques présents dans la littérature			
<i>Aphis convolvuli</i> Kaltenbach, 1843		<i>Myzus dianthi</i> Schrank	
<i>Aphis cynoglossi</i> Walker, 1848		<i>Myzus malvae</i> Oestl., 1886 (sec. Theob.)	
<i>Aphis derelicta</i> Walker, 1849		<i>Myzus nicotianae</i> Blackman	
<i>Aphis dianthi</i> Schrank, 1801		<i>Myzus pergandei</i> Sanders, 1901 sec. Patch	
<i>Aphis dubia</i> Curtis, 1842		<i>Myzus persicae</i> var. <i>cerastii</i> Theobald	
<i>Aphis egressa</i> Walker, 1849		<i>Myzus persicae</i> var. <i>sanguisorbella</i> Theobald, 1926	
<i>Aphis malvae</i> Mosl, 1841		<i>Nectarosiphon persicae</i> Sulzer	
<i>Aphis persicae</i> Sulzer, 1776		<i>Phorodon cynoglossi</i> Williams, 1891, sec. Davis, 1911	
<i>Aphis persiciphila</i>		<i>Phorodon persicae</i> Sulzer	
<i>Aphis persola</i> Walker, 1848		<i>Rhopalosiphum betae</i> Theobald, 1913	
<i>Aphis rapae</i> Curtis, 1842		<i>Rhopalosiphum calthae</i> Koch, 1854	
<i>Aphis redundans</i> Walker, 1849 sec. Laing, 1925		<i>Rhopalosiphum dianthi</i>	
<i>Aphis suffragans</i> Walker, 1848		<i>Rhopalosiphum lactucellum</i>	
<i>Aphis tuberoscellae</i>		<i>Rhopalosiphum lactucellum</i> Theobald, 1915	
<i>Aphis vastator</i>		<i>Rhopalosiphum persicae</i>	
<i>Aphis vulgaris</i> Kyber, 1815 (sec. Walker)		<i>Rhopalosiphum solani</i> Theobald, 1912, nonKalt, 1843	
<i>Aulacorthum convolvuli</i>		<i>Rhopalosiphum tuberosellae</i> Theobald, 1922	
<i>Myzodes persicae</i> Sulzer		<i>Rhopalosiphum tulipae</i> Thos, 1879 sec. Davis, 1911	
<i>Myzodes tabaci</i> Mordvilko, 1914		<i>Siphonophora achyranthes</i> Mon, 1879	
<i>Myzoides persicae</i>		<i>Siphonophora nasturtii</i> Koch, 1855	
Noms communs au niveau international			
Anglais	Espagnol	Français	Portugais
cabbage aphid	afido amarillo del tabaco	pucceron des carottes	pulgao verde do pessegueiro
green sesame aphid	afido verde	pucceron gris du pecher	
peach aphid	afido verdozo	pucceron vert du pêcher	
peach curl aphid	pulgón verde		
peach-potato aphid	pulgón verde del melocotonero		
potato aphid			
tobacco aphid			
Noms communs locaux			
Argentine	République Dominicaine	Finlande	Allemagne
pulgón verde del duraznero	melaïto	persikkakirva	Bocksdorn-Blattlaus
Brésil	melaïto verde	perunakirva	Gruene Pfirsichblattlaus
pulgao verde da batatinha	Israël	Pays-Bas	Nelken-Blattlaus
Danemark	knimat haafarsek	Groene Perzikbladluis	Italie
ferskenbladluis	Norvège	Groene Tabaksluis	afide verde del pesco
Japon	ferskenbladluis	Suède	Turquie
momoaka-aburamusi		persikbladluis	seftali yaprak biti

Les origines géographiques de *M. persicae* sont extrêmement difficiles à déterminer, car d'une part, ce puceron évolue sur l'ensemble des continents du monde et d'autre part, il existe peu de sources confirmant ou infirmant la situation de la population initiale. En effet, cet insecte possède une grande capacité de dispersion via, notamment, les vents dominants ou via un comportement autostoppeur (c'est-à-dire en utilisant les moyens de transports humains pour se déplacer à travers le monde). Néanmoins, certaines sources décriraient *M. persicae* comme originaire d'Asie (EMDEN et al. 1969). Cet insecte possède donc, à ce jour, une importante répartition à travers le monde (Turpeau, et al. 2010). En effet, grâce à ses capacités d'adaptation, ce ravageur peut évoluer dans des régions climatiques très différentes (SINGH et al. 2021). Il est, par exemple, observé aux États-Unis, dans l'ensemble de l'Europe, mais aussi en Afrique du Nord et en Asie (SINGH et al. 2021) (Figure : 1)

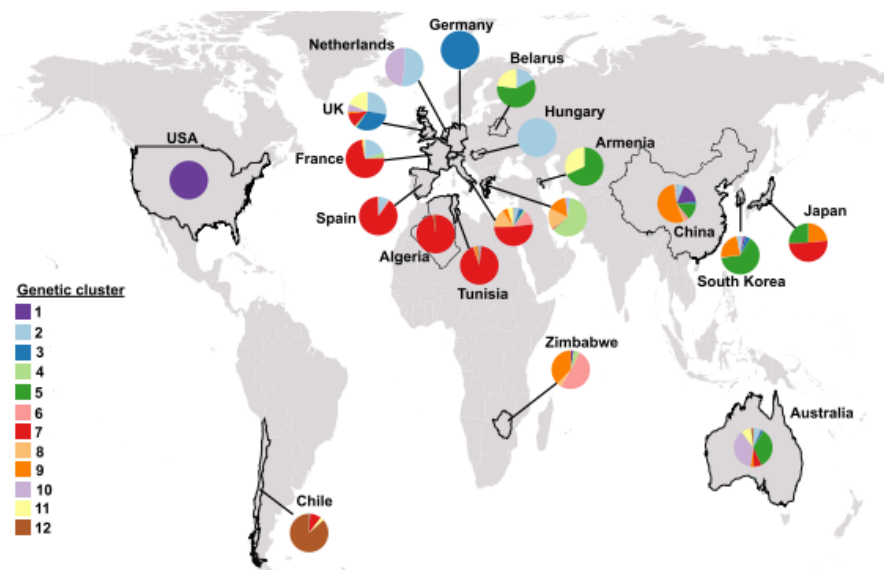


FIGURE 1 – Représentation géographique de la structure génétique des différents clones de *Myzus persicae* regroupés par pays d'origine (SINGH et al. 2021)

Myzus persicae se reproduisant principalement de manière asexuée, les populations de l'espèce sont répertoriées par « Clones ». Ces clones ont de nombreuses particularités comme l'adaptation à des plantes hôtes particulières comme le tabac. Ces adaptations propres à chaque population de clone les différencient, à tel point que certaines populations ne peuvent se nourrir que de plantes très spécifiques, différentes du régime alimentaire du reste des populations de *M. persicae* (EMDEN et al. 1969).

2.1.2 Biologie de *Myzus persicae*

M. persicae a pour base un cycle parthénogénétique thélytoque, c'est-à-dire que les individus se reproduisent sans reproduction sexuée et n'engendrent que des femelles. Ce type de reproduction est commun à de nombreux autres pucerons et a lieu principalement au printemps et en été lorsque la plupart des plantes hôtes sont disponibles et que les températures permettent un développement aisé. Néanmoins, lorsque les conditions deviennent moins propices (températures en chute, raréfaction des sources de nourriture) *M. persicae* se reproduit de manière sexuée. Ce type de reproduction se déroule fin de l'été, voire début de l'automne. La reproduction sexuée permet à *M. persicae* de passer l'hiver sous forme d'œufs et de naître au printemps, période où la reproduction asexuée est favorisée. L'ensemble de ces caractéristiques font de *M. persicae* un puceron capable de se reproduire de manière asexuée et donc d'être qualifié de puceron anholocyclique, mais également de se reproduire de manière sexuée lors des périodes difficiles et donc d'opter pour un cycle holocyclique (BLACKMAN 1974). Cette alternance de types de reproduction n'est pas obligatoire. En effet, si les conditions climatiques de la zone d'implantation d'une population sont favorables (climat sans hiver, présence de plante nourricière toute l'année), alors *M. persicae* se reproduit exclusivement de manière asexuée (BLACKMAN 1974).

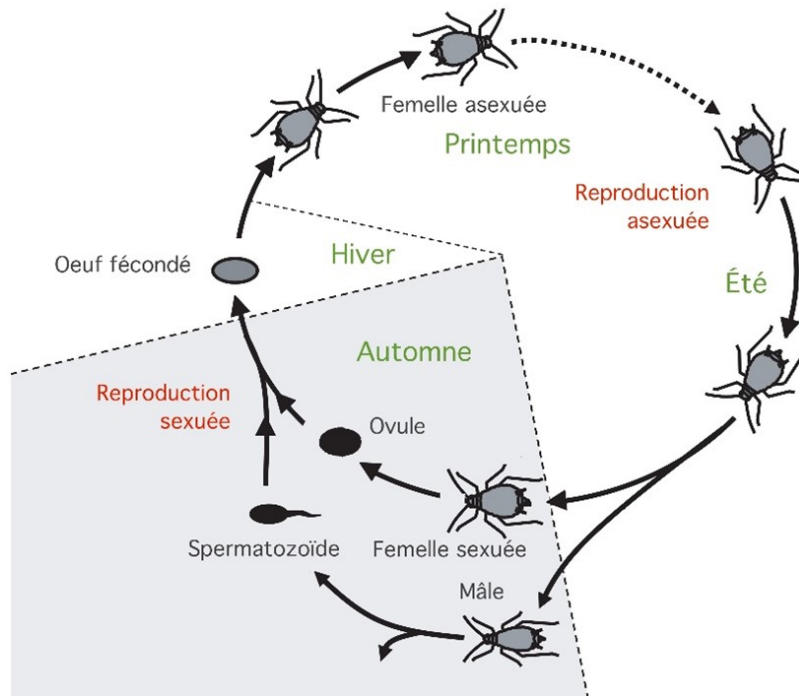
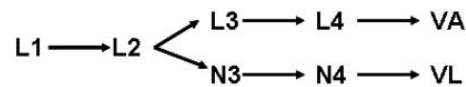


FIGURE 2 – Cycle reproductif de *Myzus persicae* montrant l'alternance des phases sexuées et asexuées en fonction des saisons (DELUZARCHE 2023)

Le cycle de *M. persicae* se compose de quatre stades larvaires et d'un stade adulte. Cependant, *M. persicae* a la particularité de pouvoir développer des formes adultes ailées et aptères (BLACKMAN 1974).



Avec L1, L2, L3, L4 : larves d'aptères aux différents stades
 N3, N4 : larves à ptérothèques des stades 3 et 4
 VA : adulte virginipare aptère
 VL : adulte virginipare ailé

(les stades larvaires à ptérothèques N3 et N4 sont abusivement appelés nymphes)

FIGURE 3 – Schéma représentant les deux possibilités de croissance de *M. persicae* en fonction des conditions environnementales (Encyclop Aphid, 2019)¹.

1. Source : <https://www6.inrae.fr/encyclopedie-pucerons/Qu-est-ce-qu-un-puceron/Morphologie/Stades-de-developpement>

2.1.3 Description morphologique des larves

La morphologie de l'insecte va varier énormément sur l'ensemble du cycle de développement en fonction des paramètres abiotiques, saisonniers ou encore de l'environnement dans lequel il se trouve. L'insecte étant hétérométabole, la larve est très semblable à l'adulte de forme aptère. Il existe néanmoins quatre stades larvaires bien distincts. Les larves pouvant être légèrement différentes en fonction des différentes morphologies imaginaires, ne seront décrites ici que les caractéristiques communes au stade larvaire de la forme aptère et ailée.

Le premier stade est décrit par un corps d'un vert pâle pour l'ensemble de ses parties, variant d'une taille entre 0,62 et 0,72 mm de long pour une largeur oscillant entre 0,31 et 0,42 mm. Les antennes sont composées de 5 segments, l'ensemble de l'antenne étant aussi long que 86 à 90 % de la taille du corps de l'individu. Le premier stade larvaire possède également des yeux composés et un rostre atteignant le milieu de l'abdomen. Le rostre apparaît donc dès le premier stade larvaire et est une adaptation des pièces buccales propre aux hémiptères. En effet, les pièces buccales, de type piqueur-suceur, de *M. persicae* sont regroupées en stylets (WRÓBEL 2009), c'est-à-dire que l'ensemble des pièces buccales ont été modifiées afin de permettre le nourrissage par la succion. (BROŽEK et al. 2015)

Le second stade varie entre 0.72 et 0.95 mm de long et entre 0,41 et 0,57 mm de large. La taille des antennes quant à elle varie désormais entre 76 et 92 % de la longueur de l'animal. Le rostre s'étend jusqu'au coxa postérieur. Le troisième varie entre 0.96-1.12 mm et les antennes passent de 5 à 6 segments pour une taille entre 89 et 91 % de la longueur de l'animal. Le quatrième stade se caractérise par une couleur plus prononcée. La longueur de l'insecte à ce stade varie entre 1,34 et 1,68 mm. Les antennes atteignent une longueur variant entre 84 et 96 pour cent de la longueur du corps. Ce stade correspond au dernier stade larvaire (DEVI et SINGH 2007)

2.1.4 Description morphologique de l'imago

La forme ailée du puceron vert du pêcher arbore une couleur vert clair qui peut aller jusqu'au noir lorsque l'individu est en conditions de stress. Il est pourvu d'une plaque échanquée, perforée et sombre. Les tubercules frontaux sont considérés comme proéminents et convergents. Il possède également des antennes d'une taille variant entre 80% et 90% de la taille du corps à l'âge adulte. Les antennes sont également pourvues de pigments exceptés sur l'article III (DEVI et SINGH 2007 Figure : 4)



FIGURE 4 – Illustration de la forme ailée d'un puceron adulte chez *Myzus persicae*

La forme aptère arbore des couleurs allant de vert clair à jaunâtre. Les tubercules frontaux sont seulement convergents. De plus, les cornicules sont légèrement renflées, assez longues et claires (DEVI et SINGH 2007) (Figure : 5)



FIGURE 5 – Illustration de *M. persicae* adulte de forme aptère

2.1.5 Alimentation

L'alimentation et le développement de *M. persicae* sont étroitement liés. En effet, *M. persicae* est caractérisé d'espèce dioécique, c'est-à-dire que l'ensemble du cycle de développement se réalise sur des plantes de familles botaniques différentes. *M. persicae* possède comme hôtes primaires (hôtes sur lesquels les individus sexués ont pondu) les plantes du genre *Prunus* et comme hôtes secondaires une cinquantaine de familles incluant beaucoup de familles largement répandues en agronomie comme les *Solanaceae*, les *Brassicaceae*. (EMDEN et al. 1969) La grande diversité de plantes hôtes de ce ravageur fait de lui un des grands dangers de l'agriculture moderne (FERNANDEZ-QUINTANILLA et al. 2002).

2.1.6 Nuisibilité et importance économique

L'ordre des Hémiptères et plus particulièrement les pucerons et les aleurodes sont vecteurs de plus de 500 espèces de virus (FERNÁNDEZ-GRANDON 2012). Cela est principalement dû à leur mode d'alimentation. En effet, ces insectes se nourrissent de la sève des plantes, ce qui engendre des blessures, mais aussi ce qui permet aux différentes viroses d'être directement au contact avec le système circulatoire (CORBAZ 1990).

En termes d'importance économique, les pucerons représentent des pertes de rendement importantes. Cela varie cependant d'une espèce à l'autre et en fonction des diverses conditions météorologiques. La principale cause de la chute de rendement est la transmission de virus pouvant mener à une diminution de rendement allant jusqu'à 85% pour de l'orge infectée par la jaunisse naissante. Alternativement, l'infestation d'une culture par un surnombre de pucerons, non-infectés, n'engendre qu'une réduction de 5 à 10% de rendement. De plus, il est rare d'observer une infestation de pucerons aussi importante. Les diminutions de rendement se traduisent par une chute de volume de production, mais aussi par l'apparition d'un déficit de qualité (DEDRYVER, LE RALEC et FABRE 2010).

M. persicae est connu pour être un vecteur important de maladies phytosanitaires (EMDEN et al. 1969). En effet, la transmission de plus de 100 virus phytopathogènes lui est attribuée (CABI 2021). Parmi ceux-ci, beaucoup sont des pathogènes de grandes cultures comme le Potato Leafroll virus (PLRV) (EIGENBRODE et al. 2002), le Tobacco Mozaic Virus (TMV) (LOJEK et ORLOB 1972), ou encore différents virus engendrant la jaunisse de la betterave tels que le Beet Mild Yellow Virus ou le Beet Yellow Virus (BMYV, BYV). En effet, *M. persicae* est le vecteur principal de la jaunisse de la betterave (FINGU-MABOLA et FRANCIS 2021).

2.2 La betterave sucrière : une culture économiquement importante

2.2.1 Taxonomie

La taxonomie de *Beta vulgaris subsp vulgaris* est complexe et a de nombreuses fois été modifiée avant d'arriver à la taxonomie présentée aujourd'hui (LANGE, BRANDENBURG et BOCK 1999)

Taxonomie complète de *Beta vulgaris var. saccharifera* :

Domaine : Eukaryota

Règne : Plantae

Phylum : Spermatophyta

Sub-phylum : Angiospermae

Classe : Dicotyledonae

Ordre : Caryophyllales

Famille : Chenopodiaceae

Genre : Beta

Espèces : *Beta vulgaris var. saccharifera*

La betterave sucrière ne possède pas une diversité de noms aussi importante que celle de *M. persicae*. En effet, dans la littérature scientifique, elle est principalement connue sous le nom de *Beta vulgaris var. saccharifera*. Le nom vernaculaire le plus utilisé est « sugarbeet ». Néanmoins, il existe quelques noms connus de manière internationale. En français, il existe l'appellation « betterave », en espagnol : « remolacha » et en anglais : « fodder beet, sugar beet ».

2.2.2 Importance agronomique et répartition

L'importance agronomique de *B. vulgaris* est mondiale. En effet, la culture de la betterave s'effectue partout dans le monde. Cependant, les origines de la betterave sucrière sont difficiles à déterminer

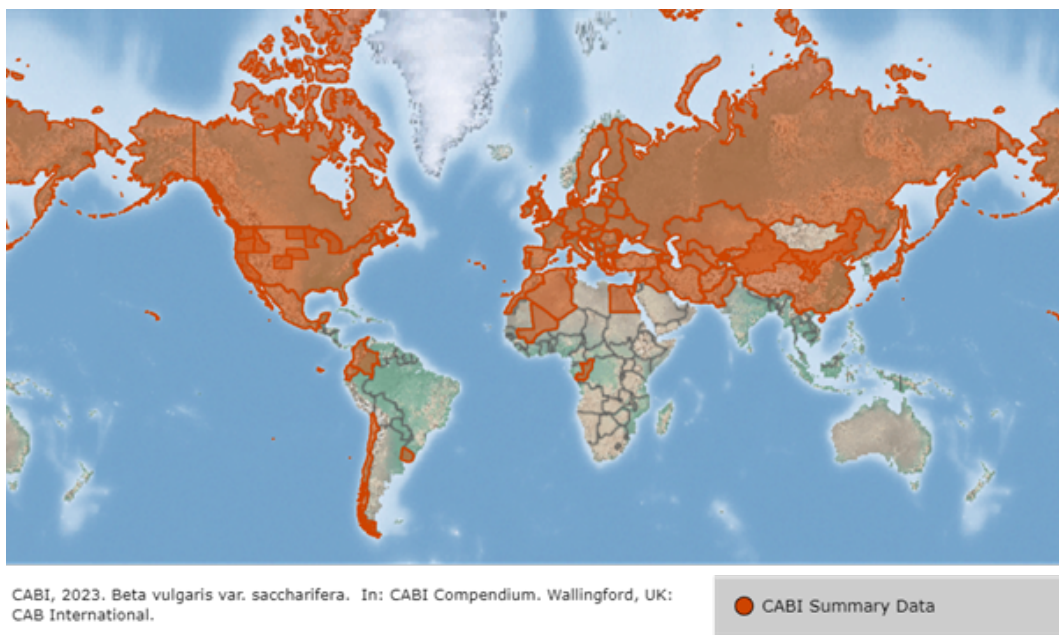


FIGURE 6 – Répartition géographique de *Beta vulgaris var. saccharifera* (CABI 2021)

En ce qui concerne l'importance agronomique en Belgique, la betterave sucrière est une culture prospère et fortement développée. En effet, 36 538 ha de la SAU (Surface Utile Agricole) sont utilisés afin de produire de la betterave sucrière. Cela signifie que 30% des exploitations wallonnes en cultivent en moyenne 10 ha. Or seulement 37 hectares sont en production biologique (35,5 en conversion) (SPW 2023)². Ces chiffres témoignent de la dépendance du secteur betteravier aux différents produits phytosanitaires. La culture de la betterave se déroule en Belgique de mi-mars à fin novembre, voire début décembre (EUBEN 2018). Le semis doit être réalisé dans des conditions particulières afin de maximiser la production et de protéger au mieux la culture (EUBEN 2018). Par exemple, la betterave nécessite un lit de semis travaillé avec un sol composé d'agrégats lisses et petits sans pour autant être semée dans un sol compacté (DÜRR et AUBERTOT 2000) Les rendements en Belgique atteignent en moyenne entre 82 et 86 tonnes à l'hectare (SPW 2023)². En 2018, ces rendements ont placé la Belgique au rang de deuxième meilleur rendement de l'Union européenne, juste derrière l'Espagne qui a atteint une production 86,7 tonnes à l'hectare.

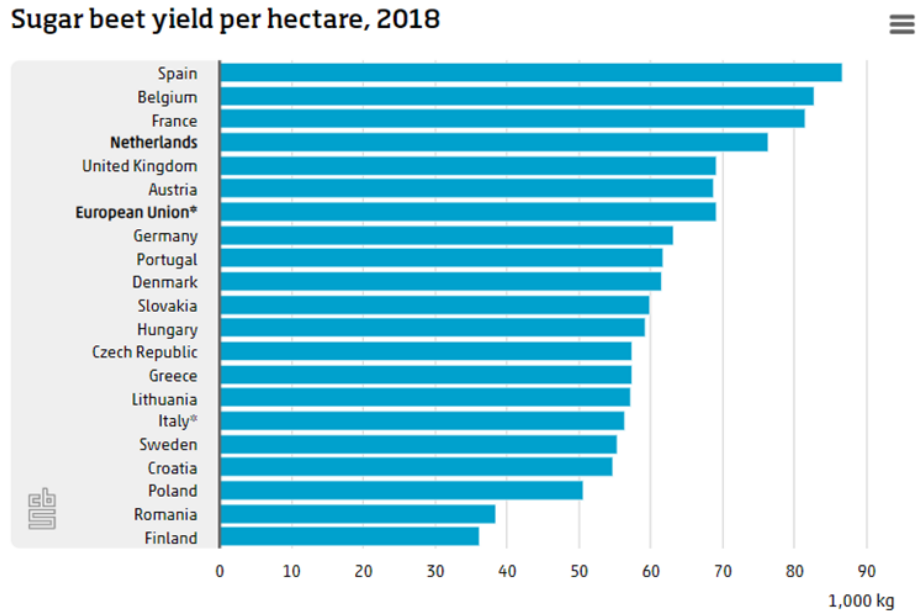


FIGURE 7 – Classement des différents pays d'Europe en fonction de leur rendement par hectare de betterave sucrière en 2018 (Netherlands, 2019)³

2.2.3 Les produits phytosanitaires dans la culture de la betterave sucrière :

Historiquement, les graines de betterave sucrière étaient enrobées d'insecticide afin de les protéger des pucerons et autres insectes ravageurs. Ces insecticides sont des produits phytopharmaceutiques employés depuis longtemps dans la culture betteravière qui agissent sur le système nerveux central des insectes et regroupent une dizaine de molécules souvent dérivées de chlore ou du soufre. Plus précisément, ces insecticides interagissent avec les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine situés dans les agglomérats nerveux des insectes et sont appelés néonicotinoïdes (BODEREAU 2012).

2. Source : http://etat-agriculture.wallonie.be/cms/render/live/fr/sites/reaw/contents/indicatorsheets/EAW-C_III_b_5.html

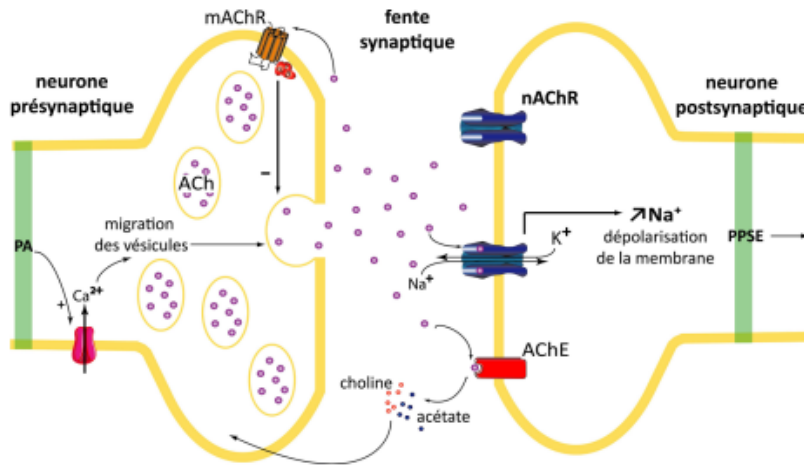


FIGURE 8 – Schéma explicatif du blocage des récepteurs nicotiniques par les néonicotinoïdes (BODEREAU 2012)

Ces insecticides sont mis au point dans l'industrie agricole en 1980 par un Japonais du nom de Shinzo Kagabu qui travaillait alors pour le laboratoire pharmaceutique Bayer. L'essor de ces pesticides se fera dans les années 1990 et ils seront, dès lors, utilisés de manière systématique en agriculture conventionnelle (KAGABU 2011). Suite à diverses études démontrant leur toxicité sur les insectes pollinisateurs (HAUER et al. 2017) les néonicotinoïdes ont été interdits dans l'ensemble de l'Union européenne en 2018. En effet, cette toxicité des néonicotinoïdes est fortement pointée du doigt par les défenseurs de l'environnement ainsi que par les acteurs du secteur apicole qui désignent principalement ces molécules comme raison de la disparition des abeilles et autres hyménoptères pollinisateurs. Cependant, il existe quelques dérogations à cette interdiction étant donné l'importance de ces insecticides dans la gestion des différents risques liés à la culture de la betterave (Corder ASBL, 2018)⁴. Aujourd'hui, de nombreuses recherches sont menées afin de trouver des solutions viables pouvant remplacer de manière durable les néonicotinoïdes. Ces solutions sont très diverses, elles s'étendent de l'impact des bactéries et champignons symbiotiques ou entomopathogènes jusqu'aux développements de variétés résistantes ou d'itinéraires techniques agricoles adaptés. Par exemple, les variétés résistantes à diverses maladies et en particulier à la jaunisse de la betterave sont fortement étudiées et commencent à apparaître dans les catalogues de divers semenciers européens (ITB,2020)⁵.

3. Source : <https://www.cbs.nl/en-gb/search?q=sugar+beet+yield>

4. Source : https://www.corder.be/fr/news/les-neonicotinoides-rappel-sur-les-restrictions-de-rotation?gclid=Cj0KCQjw8e-gBhD0ARIsAJiDsaUvowwvoAChwLXX7VMFWG_EBb1dEiDNidVHG4DH9bKCbR-SDa0eIGMaAgUYEALw_wcB

5. Source : <https://www.itbfr.org/pnri/les-fermes-pilotes-dexperimentations/utilisation-de-varietes-tolerantes-ou-resistantes-aux-virus-de-jaunisse/>

2.3 Pathologies : Les virus de la betterave et leurs dangers

La jaunisse de la betterave est une maladie complexe composée de quatre virus distincts qui infectent la plante dans un ordre précis (ITB, 2020)⁵. Les virus qui composent la jaunisse appartiennent à différents genres de virus : le Beet Mild Yellowing Virus (BMV) et le Beet Chlorosis Virus (BCV) appartiennent au genre des polérovirus. Le Beet Yellow Virus (BYV) est un virus du genre des Clostérovirus et le virus de la mosaïque (BtMV), quant à lui, se classe dans le genre des Potyvirus (FERERES et RACCAH 2015)(Figure :2). Chacun est responsable de symptômes particuliers. En effet, les virus BMV et BCV engendrent les symptômes modérés de la jaunisse, alors que le BYV est responsable des symptômes « graves » de la jaunisse. C'est donc ce virus qui engendre les pertes les plus importantes. (DEDRYVER, LE RALEC et FABRE 2010)

2.3.1 Rendement

La jaunisse de la betterave est aujourd'hui une maladie qu'il est important de prendre en considération. Depuis l'interdiction d'utilisation de trois des néonicotinoïdes permettant la protection de la culture contre les pucerons vecteurs de la maladie, les pertes de rendement (en termes de taux de sucre) augmentent et tournent en moyenne aux alentours de 24% de perte par plant infecté (ANTOONS 2020)(Figure :9).

Ces baisses de rendement sont corrélées aux dégâts engendrés par le virus le plus développé dans la culture. Ainsi, le BYV est celui qui a le plus haut potentiel destructeur puisque, généralement, le premier présent dans la culture. L'association de ce virus avec les autres n'augmente que faiblement les diminutions de rendement. Le laps de temps pour trouver une solution ou alternative aux néonicotinoïdes étant relativement court, il semble primordial de se concentrer sur les plus grands risques.

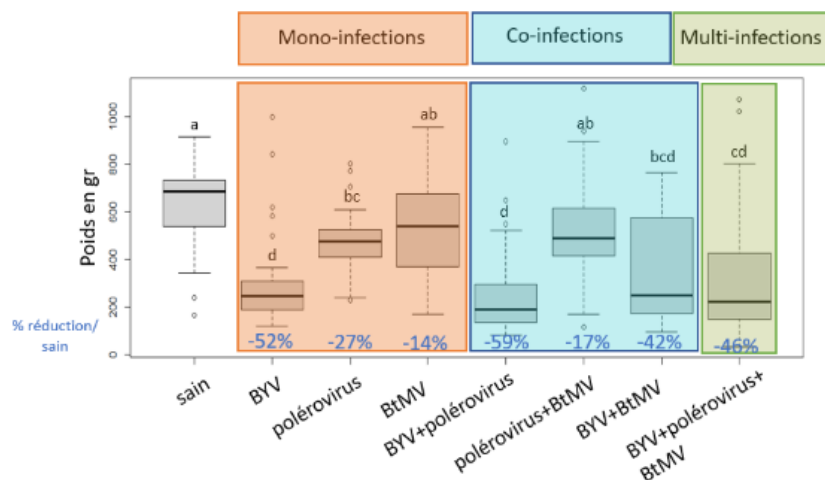


FIGURE 9 – Graphique reprenant les pertes de rendements engendrées par les différents virus en mono, co et multi-infections (ITB2020)⁵

2.3.2 Répartition

La répartition au sein de l'Europe des différentes viroses pouvant engendrer les symptômes de la jaunisse de la betterave n'est pas égale (Figure :10et11). En effet, des pays comme l'Allemagne ou le Royaume-Unis semblent souffrir plus fortement des infections de BYV que la Belgique (HOSSAIN et al. 2021).

Country	No. of samples			BYV (%)			Poleroviruses (%)			BtMV (%)		
	2017	2018	2019	2017	2018	2019	2017	2018	2019	2017	2018	2019
Germany	2,290	961	610	16.6	2.5	7.4	4.6	8.3	18.9	1.3	0.4	0.8
UK	74	67	31	56.8	4.8	35.5	13.5	3.6	25.8	24.3	7.5	0
Netherlands	123	52	76	7.3	0	1.3	0	0	40.8	0.8	0	0
France	363	208	269	30.9	30.3	3.0	25.6	0	67.3	5.5	0	0
Belgium	30	30	30	0	0	3.3	0	0	26.7	0	0	0
Italy	60	60	30	0	0	6.7	3.3	0	3.3	0	0	0
Denmark	31	82	100	3.2	0	0	0	0	0	0	0	0
Sweden	30	121	120	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spain	60	30	68	63.3	0	91.2	0	0	5.9	0	13.3	2.9
Hungary	30	0	0	0	—	—	0	—	—	0	—	—
Total	3,091	1,611	1,334	18.9	5.6	9.7	6.8	7.1	25.7	2.2	0.8	0.5

FIGURE 10 – Tableau récapitulatif des pourcentages d'échantillons positifs à la présence de BYV, des Polerovirus, ou BtMV (ITB2020)⁵

Year	Country	No. of samples	BMYV	BChV	BWYV
2017	Germany	28	20	8	0
	France	18	1	17	0
	UK	9	3	6	0
2018	Germany	23	22	1	0
	France	15	1	14	0
	UK	1	0	1	0
2019	Germany	45	20	25	0
	France	28	11	17	0
	UK	5	2	3	0
	Spain	4	3	1	0
	Netherlands	8	5	3	0
	Belgium	2	2	0	0

FIGURE 11 – Tableau récapitulatif du nombre d'échantillons positifs à la présence de BMYV, de BChV et BWYV en culture de betteraves (ITB2020)⁵

2.3.3 Propagation :

Les virus responsables de la jaunisse sont des virus avec des modes de propagations différents. En ce qui concerne le BMYV, il s'agit du mode de transmission dit « persistant ». Ce mode de transmission possède des caractéristiques propres, comme une durée d'acquisition virale allant de 12 à 72h. Ce laps de temps relativement long s'explique par la circulation du virus à travers la lumière du tube digestif avant d'arriver dans l'hémolymphe et puis seulement d'atteindre les glandes salivaires. Le BYV possède un autre mode de transmission, dit semi-persistant. Le temps d'acquisition est bien plus rapide et peut s'effectuer en quelques heures, voire quelques minutes. Cependant, la transmission semi-persistante n'offre qu'un délai infectieux de 48h voire seulement 24h.

En ce qui concerne le virus de la mosaïque, son mode de transmission est non persistant. Ce dernier diffère des deux précédents par son temps d'acquisition de quelques secondes (ITB, 2020)⁵ (Tableau : 2)

TABLE 2 – Synthèse indiquant les différents modes de transmission en fonction de chaque virus (ITB2020)⁵.

	BMYV	BYV	BtMV
Nom anglais	Beet mild yellow virus	Beet yellows virus	Beet mosaic virus
Nom français	Virus de la jaunisse modérée	Virus de la jaunisse grave	Virus de la mosaïque
Genre	Polérovirus	Clostérovirus	Potyvirus
Vecteur principaux	<i>Myzus Persicae</i>	<i>Myzus Persicae</i> , <i>Aphis fabae</i>	<i>Myzus Persicae</i>
Mode de transmission	Persistant	Semi-persistant	Non persistant

2.3.4 Hôtes et réservoirs du virus :

Un grand nombre de plantes peuvent jouer le rôle de réservoir pour les différents virus énoncés précédemment. Certaines de ces plantes sont communes à l'état sauvage comme le lamier pourpre (*Lamium purpureum*) réservoir du BYV ou la capselle bourse à pasteur (*Capsella bursa pastoris*) qui est réservoir du BMYV. Ces deux plantes sont également des plantes hôtes de *M. persicae* qui est le principal vecteur de ses viroses. En outre, il existe également de nombreuses plantes cultivées qui sont sensibles à ces différents virus comme les épinards ou encore d'autres *Chenopodiaceae*, mais aussi la betterave sucrière (MASON 1921).

À cela, il faut ajouter les adventices très communes dans la culture de betterave comme le mouron blanc (*Stella maria*) ou d'autres *Amarantaceae* qui peuvent également servir de réservoir pour la jaunisse aux symptômes graves ou faibles (MASON 1921) Enfin, il existe d'autres vecteurs comme *Aphis Fabae* pour le BYV. Ce virus est d'autant plus dangereux qu'il possède différents vecteurs.

2.3.5 Détection des virus :

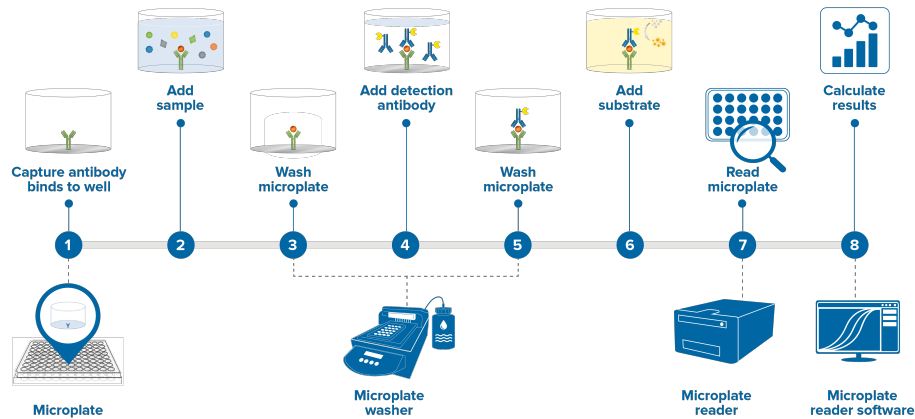


FIGURE 12 – Schéma explicatif de la méthode ELISA (*Moleculardevice2020*)⁶

Le fonctionnement du test ELISA repose sur la réaction anticorps-antigène. Les principales étapes du protocole sont les suivantes : à l'aide d'une substance tampon, un anticorps est fixé au fond d'un puits. Ensuite, après plusieurs lavages, l'échantillon à analyser est placé dans ce même puits. Après une phase plus ou moins longue d'incubation, l'ensemble des puits est de nouveau lavé à l'aide d'une substance tampon. La fin du protocole varie et peut se réaliser de deux manières. Soit par l'ajout d'un anticorps modifié colorant la solution directement après la réaction anticorps-antigène. Soit, après l'ajout du dernier anticorps, on ajoute une substance réactive supplémentaire qui permettra d'obtenir une coloration dont la concentration donnera le résultat. (WARITANI et al. 2017; STEVENS 1997)

Une autre méthode de détection est la PCR (Polymerase Chain Reaction). Cette technique multiplie des fragments d'ADN du virus et permet de déterminer précisément la concentration ainsi que la nature d'un virus. Cette technique nécessite l'achat préalable d'amorces propres au virus étudié. Cette méthode est plus précise que la méthode ELISA, elle s'avère néanmoins plus coûteuse à réaliser.

La méthode utilisée dans le cadre de ce travail de fin d'études sera l'ELISA. Cette technique possède de nombreux avantages. En effet, l'ELISA est une technique fiable surtout en utilisant le protocole fourni par LOWE. Le test ELISA est adapté pour des détections qui requièrent un grand nombre d'échantillons et est très simple à mettre en œuvre, ce qui limite au maximum les erreurs dues aux manipulations. De plus, la réalisation d'un test ELISA est moins onéreuse que celle d'une PCR quand un grand nombre d'échantillons doit être traité.

6. Source : <https://fr.moleculardevices.com/technology/absorbance>

3 Objectifs de recherche

Afin de répondre à la demande d'alternative efficace contre la propagation du BMV, un projet d'études de variétés résistantes en collaboration avec certains semenciers, la faculté de Gembloux Agro-Bio Tech et l'IRBAB est en cours. C'est dans le cadre de ce projet qu'un TFE avec les objectifs suivants a été demandé :

1. De déterminer l'existence de résistance variétale au virus du BMV parmi une diversité de variétés de betterave.
2. Suite à l'observation de résistance virale, investiguer l'impact sur le comportement de *M. persicae* ?

Chacun de ses objectifs possède ses propres hypothèses et attentes. En effet, le premier objectif de ce travail a pour hypothèse l'observation d'une réelle résistance au virus du BMV et celle-ci se traduirait par une charge virale tissulaire moins importante. Pour démontrer cette hypothèse, la réalisation de tests ELISA sur les feuilles de plantes infectées seront réalisés. En ce qui concerne le deuxième objectif, les hypothèses sont doubles. Premièrement, une modification dans les phases d'alimentation devrait être observées. Deuxièmement, il est possible que le puceron soit moins enclin à consommer les variétés résistantes. Afin de vérifier ces hypothèses, la réalisation d'une EPG permettant d'observer l'ensemble des phases alimentaires ainsi que des tests de choix de plantes hôtes permettant d'illustrer une préférence pour les variétés sensibles sont nécessaires.

4 Matériel et méthodes

Ce travail fait partie d'un projet de recherche sur le développement de moyens de lutte contre la jaunisse de la betterave sucrière en collaboration avec l'IRBAB (Institut Royal Belge pour l'amélioration de la Betterave). L'ensemble des élevages de pucerons se déroule dans les laboratoires d'entomologie de l'université Gembloux Agro-bio Tech (ULiège, Belgique).

4.1 Matériel inerte et vivant

4.1.1 Conduite de *Beta vulgaris var. saccharifera*

Ce mémoire a pour objectif de comparer quatre variétés de *Beta vulgaris var. saccharifera*, certaines annoncées comme résistantes au BMVYV. L'ensemble des semences a été fourni par l'IRBAB qui s'est lui-même fourni chez différents semenciers (Tab : 3).

TABLE 3 – Tableaux répertoriant la sensibilité de chaque variété à la jaunisse de la betterave ainsi que le numéro utilisé pour les citer dans ce travail.

Numéros d'origine	Sensibilité à la jaunisse
8053	Sensible
8060	Résistante
8062	Résistante
8063	Résistante

Le semis a été réalisé dans des pots en plastique de 3 cm de côtés reliés entre eux. Après 1 ou 2 semaines, les plants ont été repiqués dans des pots carrés de dimension 5*5*5 cm. Le terreau utilisé est le même durant l'entièreté de l'expérience, il s'agit du terreau universel de la marque "la plaine Chassart" (conditionnement de 50L). Durant l'entièreté de l'expérimentation, les plants de betteraves sont arrosés tous les 2-3 jours en fonction des besoins hydriques des plantes. Les différentes phases de croissance des plants se déroulent au sein de cage en nylon de type Bugdom© de dimension 92*47,5*47,5 cm. Au-dessus de chacune des cages est disposé un éclairage composé de LED (Profile(s) 1,9x1,1x101cm, 23W, Vegeled Bi phosphoreux white 4K- N1 Spectrum, 2950lm/m, 128LED 2835/m, 24VDC CV, 1m cbl), d'une longueur d'un mètre, ceux-ci sont reliés par des transformateurs (Meanwell encl. switch. Pow. sup. IP67 Full AC-DC in active PFC 320W 24VDC tun). L'éclairage est en fonctionnement 16h par jour. La température est de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ avec une humidité relative de 70%. La température et l'humidité sont maintenues durant l'entièreté de l'expérience.

4.1.2 Conduite de l'élevage de *Myzus persicae*

Les pucerons sont issus de différents laboratoires et correspondent donc à plusieurs souches différentes nommées en fonction de leur provenance (Tableau : 4). Ces souches sont appelées clones et sont centralisées par l'IRBAB qui fournit ensuite le laboratoire d'entomologie afin de réaliser les expériences qui ont permis l'élaboration de ce travail. Les pucerons sont élevés sur des plantes « sources » c'est-à-dire des plantes dont l'infection aux virus BMYV ou BYV est confirmée par un test ELISA dont la valeur d'absorbance est supérieure à 0,300. Cet élevage se réalise à une température de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, les cages utilisées afin de contenir les pucerons sont des cages en nylon de type Bugdom© de dimension $92*47.5*47.5$ cm semblables à celles utilisées pour les betteraves. Les pucerons sont soumis à une photopériode de 16 heures à une HR de 70%.

TABLE 4 – Tableaux reliant les dates d'arrivée au laboratoire de chaque clone de *Myzus persicae* à leur provenance.

Dates de livraison	Noms du puceron	Entreprises
26-10-21	Myz1	IRBAB
28-10-21	Myz S	Stube
29-10-21	Myz V	SES Vanderhave
12-11-21	Myz K	KWS Saat
26-11-21	Myz V	SES Vanderhave
07-12-21	Myz C	INRA Colmar
07-12-21	Myz VC	SES Vanderhave / INRA Colmar
01-02-22	Myz SW	DLF beet seed
17-08-22	Myz N	IRS Netherlands
26-11-21	Myz V	SES Vanderhave

4.2 Expérimentation et méthode :

4.2.1 Test de transmission et Elisa

Le test de transmission se réalise à l'aide de 5 pucerons adultes élevés dans les conditions décrites précédemment. Les pucerons adultes appartenant à la même souche sont déplacés de la plante source vers la plante test à l'aide d'un pinceau. Cette opération est réalisée sur 15 plantes d'une même variété. Cet ensemble de 15 plantes est appelé série. Une expérience complète comprend 3 séries de 15 plantes de même variété, chacune des plantes portant 5 pucerons préalablement infectés soit par le virus BYV, soit par le virus BMYV. Les pucerons sont laissés durant 48h sur le plant dans les conditions d'élevage des pucerons. Ensuite, les plantes sont pulvérisées avec un insecticide à base d'acétamide (insecticide systémique de la famille des néonicotinoïdes) de la marque « Multisect ». À la suite de l'élimination des pucerons, les plantes sont placées dans une chambre d'incubation pendant une période de trois semaines. Dans cette chambre, la température est de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ et l'humidité relative est de $70 \pm 10\%$.

Le protocole ELISA utilisé provient de l'entreprise « LOWE ». Afin de mesurer rapidement et facilement l'infection des différentes variétés testées, un test ELISA de type sandwich (Figure :13) est réalisé sur l'ensemble des plantes précédemment utilisées dans le test de transmission. Pour réaliser ce test ELISA, certains tampons et solutions spécifiques doivent être préalablement préparés (Tableau : 5).

TABLE 5 – Tableau récapitulatif des formulations des différents tampons utilisés pour les tests ELISA.

Noms des solutions tampons	Formulations	PH des solutions tampons
Coating Buffer	1.59 g Na ₂ CO ₃ 2.93 g NaHCO ₃	9,6
Wash Buffer	8.0 g NaCl 2,9 g Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O 0,2 g KH ₂ PO ₄ 0,2 g KCl 0,5 ml Tween 20l	7,2-7,4
Conjugate/Sample Buffer	Wash buffer 20 g polyvinylpyrrolidone (K ₁₀ –K ₄₀) 2 g d'albumine de sérum bovin	7,4
Substrate Buffer	97 ml C ₄ H ₁₁ NO ₂ 0.2 g MgCl ₂ x 6 H ₂ O	9,8
Substrate Solution	1mg / ml C ₆ H ₄ NO ₆ P ₂ Na x 6 H ₂ O	

1^{ère} étape : application du « coating-antibody » :

Le test ELISA a été réalisé grâce à des plaques Nunc-Immuno MicroWell 96 well. Le test débute par l'enrobage des puits par l'anticorps d'enrobage (anticorps choisi en fonction du type de virus testé). Ces anticorps sont dilués à 1 :200 dans le « coating buffer ». Ensuite 0,2 ml de la solution tampon-anticorps est versé par puits. La plaque est placée dans un sac en plastique refermable et hermétique dans un four à 37 degrés durant 4h. Après l'incubation, 4 lavages de 5 min avec le « wash buffer » sont réalisés.

2^{ème} étape : application de l'échantillon :

À l'aide du tube eppendorf de 50 ml, quatre disques sont découpés sur chacune des plantes ayant subi les tests de transmission. Les 4 ronds représentent un échantillon de 0,5 g de tissus de betterave. Cet échantillon sera mis en présence de 10 ml de «sample buffer» et ensuite broyé mécaniquement. Cela étant fait, 0,2 ml de la solution échantillon-tampon sera placé dans chacun des puits de la plaque. Après une période d'incubation de 16h à 4 degrés, 4 lavages de la plaque seront réalisés avec le «wash buffer». Durant la période d'incubation, un schéma de plaque est réalisé afin de faire correspondre chacun des puits à une modalité expérimentale précise (Figure : 13).

3^{ème} étape : Application du « antibody-AP-Conjugate » :

Les « antibody-AP-Conjugate » sont ensuite dilués dans le « conjugate buffer » avec une dilution de 1 :250. 0,2 ml de la solution sera placé dans chacun des puits. S'ensuit alors une incubation de 4h à 37°C.

4^{ème} étape : réaction Enzymatique :

La dernière étape du test ELISA consiste à réaliser la « substrat solution» en ajoutant 1 mg de C₆H₄NO₆P Na x 6H₂O par ml de « substrate buffer ». Ensuite 0,2 ml de la solution sera versé par puits. Après une exposition de 4h à la lumière, la densité optique de chaque puits est mesurée par Fisher Scientific™ Labsystems™ Multiskan™ RC 351 et et Thermo Scientific™ Ascent™ Software 2.4.2.

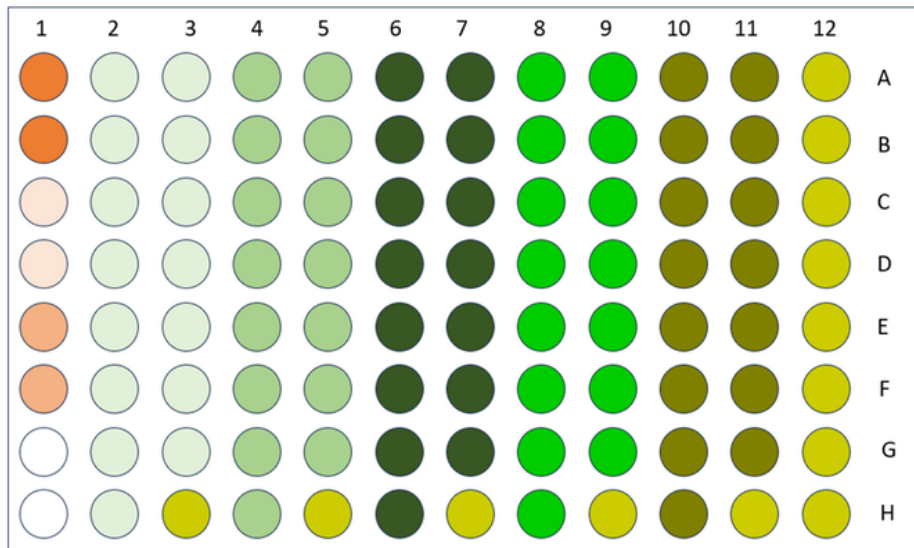


FIGURE 13 – Schéma d'une plaque ELISA : la première colonne est composée de deux puits remplis de « substrate buffer » ensuite les quatre puits suivants sont les contrôles négatifs et positifs, les deux derniers puits étant vides. Le reste de la plaque est constitué des échantillons, chaque puits correspond à une plante et chaque couleur à une association entre une variété et un clone de *Myzus persicae*

4.2.2 L'électropénétrographie

L'EPG ou électropénétrographie est une technique visant à mettre en évidence le comportement nourricier d'un insecte suceur. Cette technique utilise la différence de potentiel électrique entre les différents tissus pour déterminer si l'insecte étudié se nourrit du xylème, du phloème ou d'autres parties de la plante (Figure : 14). Cette technique permet aussi de savoir si l'insecte réalise des piqures tests ou s'il se nourrit réellement. Le protocole utilisé pour la réalisation des EPG est un protocole issu de Wageningen University and Research. Il a notamment été utilisé par SARRIA et al. 2009 dans leur article « Excel Workbook for automatic parameter calculation of EPG data ».

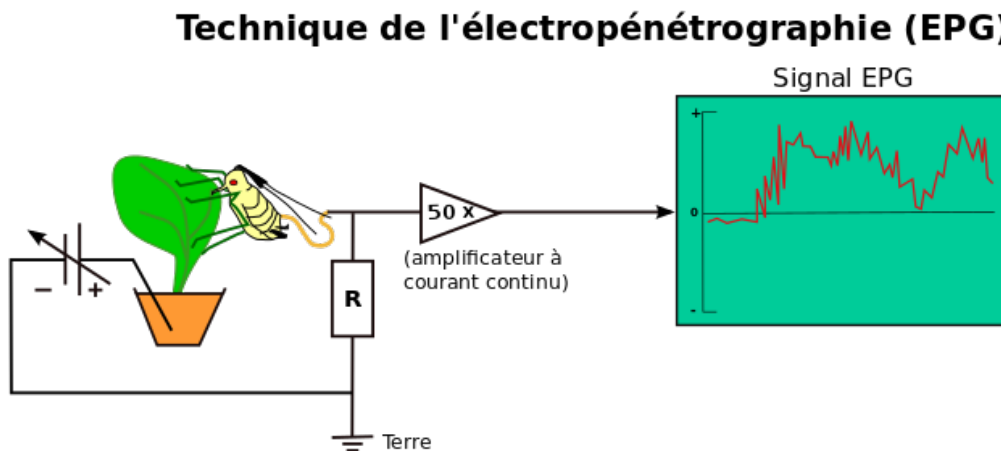


FIGURE 14 – Schéma explicatif du dispositif de l'Electro-Penetro-Graphie

Le dispositif est donc composé d'une électrode plantée dans le pot de la plante étudiée. Un fil d'or relie le puceron à un « canon » (objet permettant d'envoyer un courant électrique). L'ensemble forme un circuit électrique qui se ferme lorsque le puceron « pique » la plante. La variation de l'intensité électrique permet de déterminer le comportement nourricier du puceron. Le dispositif est répété sur 8 plantes, celles-ci sont regroupées 4 par 4 dans des cages en métal faisant office de cage de Faraday. Ces cages permettent d'éviter les influences que pourrait avoir un courant extérieur à l'expérience comme de l'électricité statique par exemple. Lors de la réalisation de cette expérience, les pucerons utilisés sont au stade adulte. L'identification du stade s'est faite à l'aide d'une loupe et des caractéristiques morphologiques. La mise en place de l'EPG se déroule comme suit :

1^{ère} étape : réalisation de la colle :

La colle permet le lien entre le puceron et le dispositif de mesure. Elle est constituée de poudre d'argent avec des grains de 5-8 μm , 99,9% de pureté de la marque « ALDRICH ». Mais aussi de glue provenant d'un « tesa glue pen » et d'eau distillée (1/3, 1/3, 1/3). Cependant, les différentes proportions de ce mélange peuvent varier en fonction de la glue utilisée.

2^{ème} étape : assemblage du dispositif :

Le dispositif nécessaire à la réalisation d'une EPG se constitue de trois éléments assemblés grâce à la colle préalablement réalisée. Le premier élément est un clou en laiton de 5 cm fixé sur une extrémité de fil d'or (second élément) d'une taille de 6 cm de long pour 0,2 mm. Le dernier élément est le puceron qui est, lui aussi, fixé par de la colle à l'autre extrémité du fil d'or.

3^{ème} étape : mise en place du dispositif :

Le dispositif réalisé peut maintenant être placé dans des « canons », qui sont en réalité les points d'ancrage du clou afin d'y faire circuler un courant électrique. Le puceron est placé sur un plant de betterave et peut s'y déplacer librement. Dans le pot (dimensions, voir tests transmission) de la plante est placée une électrode permettant de fermer le circuit électrique. Les plantes sont disposées sur des pots retournés sur lesquels se trouve un couvercle de boîte de pétri rempli d'eau. (Figure : 15)



FIGURE 15 – Illustration de l'Electro-Penetro-Graphie sur des plants de betterave sucrière

4^{ème} étape : prise de mesures et résultats :

La durée totale de l'expérimentation est fixée à 8 h afin d'améliorer la robustesse de la prise de mesure. Durant l'entièreté de l'expérience, un logiciel (EPG Stylet+d) enregistre l'ensemble des fluctuations dans le champ électrique et les retranscrit sous forme d'ondulations (Figure :16). L'allure des « vagues » peut ensuite être analysée et peut permettre de déterminer le comportement nourricier observé par le puceron à un moment t.

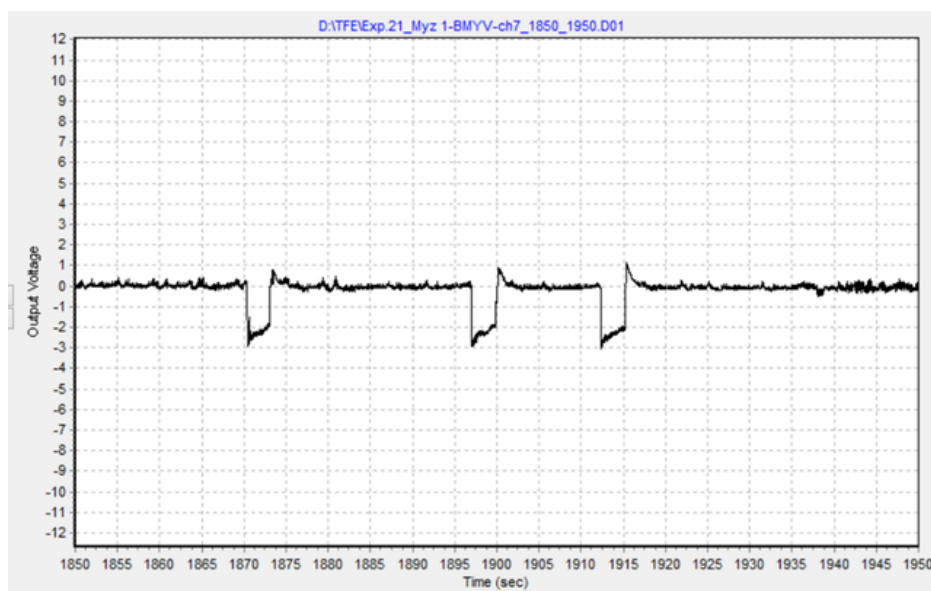


FIGURE 16 – Illustration des ondulations perçues pendant la réalisation de l'EPG

Chaque schéma d'ondulation correspond à un comportement précis, ce qui permet de comparer les différents comportements en fonction des différentes variétés testées. L'ensemble des fluctuations enregistrées sont analysées à l'aide du logiciel EPG Stylet+a. Les différentes variétés ont été réparties aléatoirement sous chacun des canons (qui représente une unité de mesure). L'EPG est constituée de deux cages en métal pouvant accueillir chacune quatre plantes. Parmi les 8 plantes, une est issue d'une variété sensible et sert de témoin (variété 8053) alors que les autres sont les variétés résistantes (variété 8060,8062,8063).

4.2.3 Test de choix

Le test de choix est réalisé afin d'observer si *M. persicae* a une tendance à se nourrir préférentiellement sur des variétés dites « sensibles ». L'expérimentation est assez simple, une variété sensible et une variété résistante sont mises dans une cage d'élevage. Une réglette en polystyrène expansé de dimension 15*5*0,5 cm est disposée entre les deux plantes (Figure : 17). Une ligne est tracée au feutre au niveau de la moitié de la réglette et 15 pucerons au stade subadulte (stade précédent le stade imaginal (Larousse)) (afin d'éviter au maximum les naissances pouvant perturber le comptage) y sont disposés à l'aide d'un pinceau humide. Un comptage du nombre de pucerons sur chaque plante est effectué après les périodes suivantes : 8h, 24h, 48h, 5 jours.

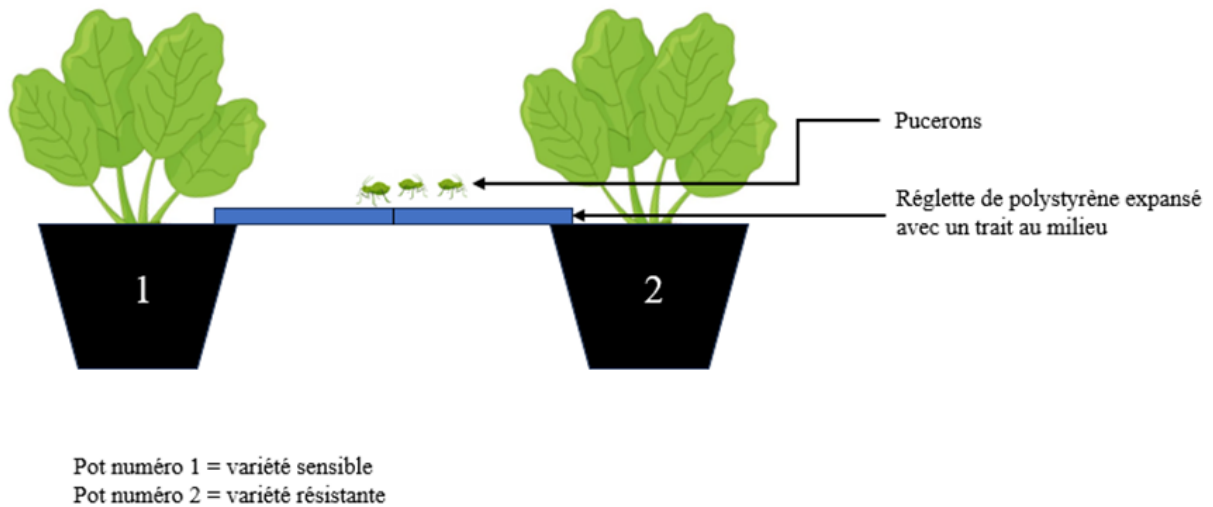


FIGURE 17 – Dispositif expérimental du test de choix

4.3 Analyses statistiques

L'ensemble de l'analyse statistique a été réalisé avec le logiciel R-Studio (version 4.2.0 (2022-04-22 ucrt))

4.3.1 Statistiques du test ELISA

L'analyse statistique de l'ELISA a été réalisée à l'aide du package (Glm) qui permet de réaliser des modèles statistiques, notamment le modèle du même nom. Ce modèle statistique permet de réaliser une équation de droite essayant de déterminer comment chacun des facteurs explique les variables observées. Dans le cadre de cette expérience, les facteurs observés sont le facteur aléatoire « plaque » et le facteur fixe sensibilité, le modèle est donc mixte. Le premier facteur indique de quelle plaque 96 puits provient l'échantillon analysé, alors que le second facteur est la « sensibilité », et se compose de deux modalités : variété sensible et variété résistante au BMVYV. Suite à la réalisation du modèle GLMM, le package « car » a été chargé afin d'en utiliser la fonction « Anova » qui nous a permis de réaliser une analyse de la déviance du facteur « sensibilité ». Cela a pour objectif de confirmer ou d'infirmer les observations données par le modèle.

4.3.2 Statistiques de l'EPG

L'analyse de l'EPG réalisée lors de ce travail ne prend en considération que certains paramètres (Tableau :6). Ceux-ci ont été choisis d'après les travaux de SAUVION et RAHBE 1999 dans leur article « Recording feeding behaviour of Hemiptera with the EPG method : A review ».

TABLE 6 – Récapitulatif de l'ensemble des paramètres de l'EPG sélectionné

Phases	Dénominations	Explications	Types
s_Pr n_Pr	Durée de la phase "Probing" Nombre de "probing phase" en 8h	Phase arrivant généralement au début de l'EPG, indicateur de la résistance de la plante	Temps Comptage
s_C n_C	Durée de la phase "C" Nombre de " phase" en 8h	Phase indicatrice d'une nutrition phloémique	Temps Comptage
s_F n_F	Durée de la phase "F" Nombre de "F phase" en 8h	Phase qui indique des "stylets déréglés", donne peu d'information sur la résistance à proprement parler	Temps Comptage
s_E1 n_E1	Durée de la phase "E1" Nombre de "E1 phase" en 8h	Indicateur des phases de nutrition phloémique.	Temps Comptage
s_E2 n_E2	Durée de la phase "E2" Nombre de "E2" en 8h	Indicateur des phases de nutrition phloémique.	Temps Comptage
n_sE2	Nombre de "sE2" en 8h	Indicateur des phases de nutrition phloémique.	Comptage
s_E t>1E n_E	Durée de la phase "E" Temps avant la première phase E Nombre de "E" en 8h	Indicateur des phases de nutrition phloémique, cet indicateur regroupe l'ensemble des phases "E1" et "E2"	Temps Temps Comptage
t>1E2 t>1sE2	Temps avant la première phase E2 Temps avant la première phase sE2	Indicateur des phases de nutrition phloémique. Indicateur des phases de nutrition phloémique.	Temps Temps

Certains paramètres semblent indiquer les mêmes informations, cependant il existe certaines nuances qui les différencient. Ces nuances seront développées lors de la discussion de ce mémoire. Un test de Shapiro (directement implémenté dans R) a été réalisé afin de vérifier la normalité des différentes populations de chaque paramètre mesuré. Étant donné l'absence de normalité, peu importe le paramètre étudié, la suite de l'analyse a été réalisée de manière non paramétrique. Afin de commencer l'analyse non paramétrique, un test de Kruskal Wallis a été appliqué pour chacune des variables dépendantes mesurées, ce test a été rendu disponible par le package (Kruskal) de R-studio. Par la suite, les variables dépendantes qui ont donné des résultats significatifs au test de K-W ont été soumises à un test de Dunn afin de structurer les moyennes.

4.3.3 Statistiques du test de choix

Le test de choix possède comme variable dépendante le nombre de pucerons par plantes. Les facteurs de cette expérience sont « période » et « variété ». Comme expliqué précédemment, le facteur « période » reprend les différents intervalles de temps entre les comptages et le facteur « variété » reprend la variété sensible (8053) et les variétés résistantes (8060,8062 et 8063). Ces deux facteurs sont considérés comme fixes et possèdent quatre modalités chacun. Chacune des modalités d'un facteur est croisée avec l'ensemble des modalités de l'autre facteur. L'analyse des résultats a débuté par un Shapiro-Test (directement implémenté dans R) qui a permis de déterminer si la population étudiée était de distribution normale ou non. La p-valeur obtenue n'étant pas significative, une analyse non paramétrique avec un test de Scheirer-Ray-Hare sera réalisé (fonction disponible dans le package « rcompnion »).

5 Résultats

5.1 Évaluation de la charge virale par test ELISA

5.1.1 Statistiques descriptives

Le test ELISA ne sera pas analysé entre variétés, mais par une comparaison entre les variétés sensibles et les variétés résistantes. Ce choix a été fait afin d'agrandir le nombre de données et de pouvoir réaliser des statistiques plus robustes dont les conclusions pourront être plus fiables.

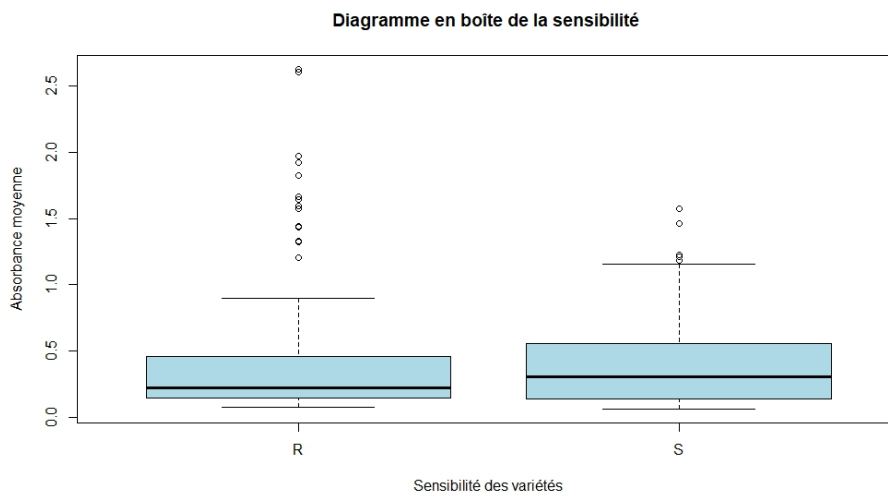


FIGURE 18 – Charges virales moyennes des variétés de betteraves de référence (R et S pour résistante et sensible).

L'analyse des statistiques descriptives semble démontrer que globalement, les variétés résistantes ont tendance à être légèrement moins infectées que les variétés sensibles. Cependant, ces observations ne sont pas suffisantes pour infirmer ou affirmer une hypothèse (Figure : 18).

5.1.2 Statistiques appliquées

Les statistiques appliquées démontrent une non-normalité de la population. Néanmoins, la distribution de la population semble suivre une distribution gaussienne inverse. Une GLMM basée sur une distribution de gaussienne inverse a donc été réalisée (Annexe : 1).

TABLE 7 – Tableau récapitulatif des statistiques descriptives de la GLMM

Min	1Q	Médiane	3Q	Max
-1,26	-0,7	-0,25	0,26	5,57

TABLE 8 – Tableau récapitulatif de la GLMM

	Coefficients	Erreur standard	t-valeur	p-valeur
intercept	3,58	6,31E-01	5,68	$P < 0,001^{***}$
HV\$sensitivityS	-4,82E-01	2,31E-01	-2,08	$P = 0,03,7^*$

La GLMM met en évidence plusieurs éléments (Annexe : 1). Premièrement, une valeur significative pour l'interception est observée. Cela signifie que le modèle possède une ordonnée à l'origine et donc une valeur significativement différente de zéro lorsque l'ensemble des autres variables sont à leur niveau de référence. Dans le cadre d'un modèle mixte, cela signifie aussi que le facteur aléatoire a une influence dans l'explication des valeurs observées (HARRISON

et al. 2018). Dans ce cas-ci, l'observation d'une valeur significative pour « intercept » démontre un impact du facteur aléatoire « plaque » (Tableau :7,8).

TABLE 9 – Tableau récapitulatif de chaque ordonnée à l'origine déterminé par le modèle pour chaque plaque utilisée.

\$HV\$plaque'	
modalité	(Intercept)
19	0,30
21	2,33
22	-2,06
23	-1,72
28	0,77
29	0,35

Les coefficients expliquent comment les variables explicatives contribuent au modèle réalisé. Les erreurs standards faibles indiquant des coefficients précis. Le coefficient du facteur plaque étant le plus important et sa valeur plus significative, cela indique que ce facteur explique plus les valeurs observées. Cependant, le facteur sensibilité est, lui aussi, significatif et donc explique aussi l'observation des valeurs mesurées.

Une analyse de la déviance sur le modèle a été réalisée.

TABLE 10 – Tableau récapitulatif des résultats de la fonction ANOVA appliquée sur le modèle GLMM

	Chisq	DF	Pr(>Chisq)
Sensibilité	4,34	1	0,04*

Cette fonction permet d'évaluer l'importance de chaque variable explicative individuellement, tout en tenant compte des autres variables dans le modèle, à l'aide d'un test chi-carré. Les résultats obtenus confirment que le facteur sensibilité a une influence significative sur les valeurs d'absorbance mesurées (Tableau :10).

5.2 Comportements alimentaires des pucerons par l'EPG

5.2.1 Statistiques descriptives

- **Analyse des données de comptage .**

Ces paramètres représentent, pour une phase d'alimentation donnée, le nombre de fois où celle-ci se produit au cours des 8h d'expérimentation. Leurs statistiques descriptives ne permettent pas d'observer de grandes différences entre les diverses variétés (Annexe : 2).

- **Analyse des durées cumulées par phases .**

Ces mesures correspondent aux durées cumulées observées pour une phase d'alimentation donnée. C'est-à-dire le temps passé par le puceron à réaliser une phase sur l'ensemble des 8h. De plus, les mesures de temps contiennent aussi le temps avant la première observation d'une phase choisie. Les observations des statistiques descriptives ne permettent pas de prévisualiser de potentielles différences entre les différentes variétés (Annexe : 2).

5.2.2 Statistiques appliquées

- **Analyse des données de comptage.**

Les populations issues de comptage ne possèdent pas de distribution normale (Annexe : 1). Le test de Shapiro et Wilk donne d'ailleurs des p-valeurs oscillants entre 5,60e-17 et 4.56e-06. L'analyse statistique réalisée sera donc non paramétrique. Le test de Kruskal-Wallis a été appliqué à l'ensemble des populations. Un seul résultat significatif a été observé pour le facteur "n_F"(Tableau : 11).Cela signifie qu'il existe probablement une différence entre les différentes modalités du facteur variété pour le paramètre "n_F". Les résultats non significatifs signifient qu'il n'existe aucune différence entre les différentes modalités du facteur

TABLE 11 – Tableau récapitulatif des valeurs du test de Kruskal-Wallis

Facteur	Chi-carré	P-valeur	Degré de liberté
n_Pr	1,50	0,680	3
n_C	1,21	0,750	3
n_F	7,69	0,05	3
n_E1	0,68	0,880	3
n_E2	1,77	0,620	3
n_sE2	3,27	0,350	3
n_E	1,50	0,680	3

Le seul paramètre avec une p-valeur significative est donc soumis à un test de Dunn afin d'analyser les différences entre les modalités. Une seule différence est observée entre la modalité "8060" et la modalité "8062" avec une p-valeur de 0,03 (Tableau :12).

TABLE 12 – Résultat du Test de Dunn afin d'observer la structuration des moyennes.

	8053	8060	8062
8060	1,12		
	0,79		
8062	-1,24	-2,62	
	0,65	0,03	
8063	0,65	-0,48	2,04
	1,00	1,00	1,00

- **Analyse des données de mesure de durées.**

Afin de vérifier la normalité, chacune des populations a été soumise à un test de Shapiro et Wilk. Aucune des populations analysées n'est normale. Une analyse non paramétrique sera réalisée sur l'ensemble des mesures réalisées. Cette analyse commence par un test de Kruskal-Wallis qui mettra en évidence que les phases F, E2 et G (qui correspondent respectivement aux phases de « stylets dérégulés », « alimentation dans le phloème » et « phase de nutrition dans le xylème ») possèdent toutes les trois une p-valeur inférieure à 0,05 (respectivement :0,030;0,050;0,020)(Tableau :13. Suite à ces observations, la réalisation d'un test de Dunn sur ces variables précises a été effectuée et met en évidence une différence significative entre la variété 8060 et la variété 8062 pour le paramètre la phase F (p-valeur = 0.020) ainsi que pour la phase E2. Le test permet d'identifier aussi une différence significative entre les variétés 8062 et 8063 (p-valeur = 0.05) pour la phase E2. La phase G possède une p-valeur de 0,010 qui différencie significativement les variétés 8053 et 8062.

TABLE 13 – Tableau récapitulatif des tests Shapiro et Wilk pour les paramètres de durée de phase

Mesure	W	p-valeur
s_Pr	0,5	9,19E-15
s_C	0,62	6,83E-13
s_F	0,26	6,37E-18
s_E1	0,5	8,20E-15
s_E2	0,9	2,12E-05
s_E	0,93	5,00E-04
s_G	0,47	3,06E-15
t_1E	0,73	1,18E-10
t_1E2	0,77	1,20E-09
t_1sE2	0,78	1,67E-09

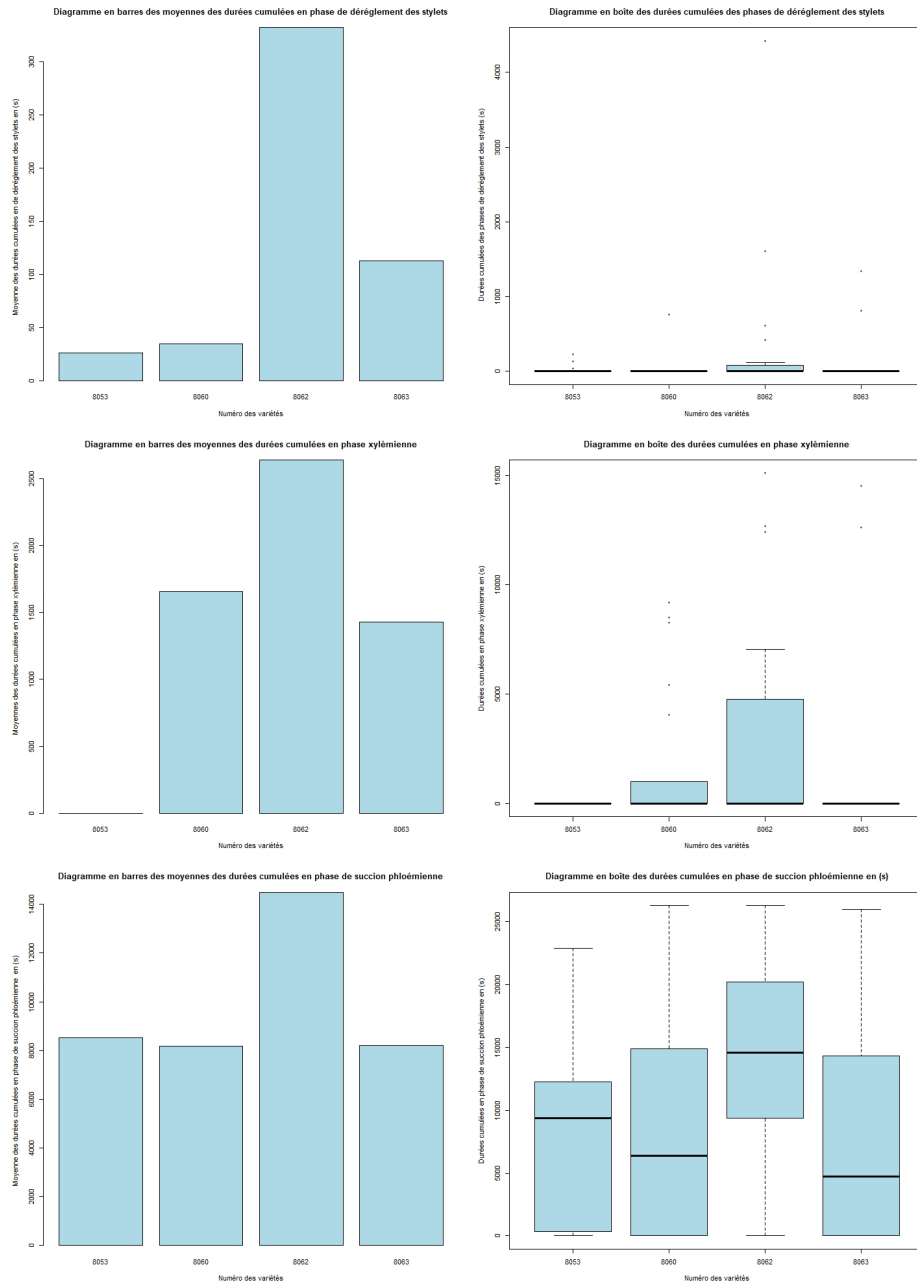


FIGURE 19 – Graphique synthétique des résultats du test de Dunn.

Suite aux observations du test de Kruskal-Walis, un test de Dunn a donc été réalisé. Afin de visualiser les résultats, une représentation graphique du test de Dunn a été réalisée (Figure :19). Cependant, lorsque l'on met en vis-à-vis, pour un paramètre donné, le graphique du test de Dunn et le « Boxplot » de la population, des différences s'observent. En effet, les moyennes étant fortement sensibles aux valeurs extrêmes, l'interprétation du test de Dunn doit donc être nuancée.

5.3 Tests de choix de variétés de betteraves par les pucerons.

5.3.1 Statistiques descriptives

L'observation des statistiques descriptives illustre de légères différences entre les moyennes, aussi bien pour le facteur « période » que pour le facteur « variété » (Tableaux :14 et 15) En effet, la période de 48h ainsi que la variété 8060 possèdent des moyennes relativement éloignées des autres modalités. Cependant, l'observation des statistiques descriptives seule ne suffit pas pour mettre en évidence une réelle différence.

TABLE 14 – Tableau des statistiques descriptives liées aux durées d'observations.

Périodes	Nombres d'observations	Moyennes	Médianes	Écarts types	Min	Max
8H	18	2,72	3	1,74	0	7
24H	18	3,11	3	2,03	0	15
48H	18	4,56	4	3,47	0	15
5J	18	2,72	3	4,31	0	6

TABLE 15 – Tableau des statistiques descriptives liées au facteur variété

Variétés	Nombres d'observations	Moyennes	Médianes	Écarts types	Min	Max
8053	36	2,97	2,5	2,57	0	8
8060	12	6,08	4,5	4,52	1	15
8062	12	4,25	4,0	2,60	1	10
8063	12	2,67	3,0	2,10	0	7

5.3.2 Statistiques appliquées

Suite aux observations de l'analyse descriptive, un test de Shapiro-Wilk a été appliqué afin de vérifier si la distribution du nombre de pucerons était normale ou non.

TABLE 16 – Résumé du test de Shapiro appliqué sur la distribution du nombre de pucerons par betterave de variétés différentes.

Résultat du Test de Shapiro	
W	0,874
P-valeur	3,13896e-06

La p-valeur étant fortement inférieure à la valeur de 0,05, la normalité de la distribution n'est pas vérifiée (Figure :16). La suite de l'analyse statistique sera réalisée en non paramétrique.

- **Analyses non paramétriques..**

Étant donné la présence de deux facteurs fixes (« période » et « variété »), un test de Scheirer-Ray-Hare a été utilisé pour vérifier, d'une part, s'il y a interaction entre les facteurs et, d'autre part, si un des deux facteurs exerçait une influence significative sur le nombre de pucerons présents sur chaque plante. Une p-valeur significative de 0,04 pour le facteur "variété" est obtenue, ce qui indique un impact de ce facteur sur le nombre de pucerons observés par plante. Un test post-hoc de Dunn a alors été réalisé et a permis d'observer une p-valeur de 0,04 entre la variété 8053 et la variété 8060 démontrant une différence réelle entre ces deux variétés. Le facteur période ne présente aucune p-valeur significative, ce facteur n'influence pas le nombre de pucerons observés par plante. Les autres variétés ne présentent aucune valeur significative.

6 Discussions

6.1 6.1 Evaluation de la charge virale par ELISA

Le test ELISA est un test fiable pour déterminer un niveau d'infection virale (STEVENS 1997). Dans de ce mémoire, la détermination d'une résistance à l'inoculation du BMYV sur de nouvelles variétés de *B. vulgaris* a été investiguée.

Le test ELISA met en évidence un impact réel du facteur sensibilité sur les valeurs d'absorbances observées. Cela signifie qu'il semble exister une réelle différence d'infection entre les variétés résistantes et les variétés sensibles. En effet, les moyennes d'infection confirment, cette tendance en précisant que les variétés sensibles sont, en moyenne, plus infectées que les variétés résistantes.

Cependant, ces résultats sont une combinaison de résultats issus de différentes variétés, car une analyse par variété ne permettait pas de mettre en évidence une quelconque différence entre elles. Cette absence de résultat peut s'expliquer par un trop faible nombre de répliquas.

La présence d'une réelle résistance semble donc se confirmer. Néanmoins, certains résultats portent à confusion. En effet, si l'on regarde ceux issus de la GLMM, le modèle semble être plus expliqué par le facteur « plaque » que par le facteur d'intérêt (sensibilité). Ce résultat peut s'expliquer par un protocole permettant trop de variations entre les diverses répétitions. En d'autres termes, le protocole utilisé est trop peu répétable (MONTI 2011). En effet, le protocole utilisé étant long et complexe, il semble cohérent qu'il existe des variations relativement importantes entre les diverses plaques réalisées. De plus, dans le cadre de ce mémoire, ce protocole a été de nombreuses fois retouché et modifié sans pour autant exclure les résultats précédemment obtenus. Les modifications réalisées concernent notamment la concentration d'anticorps utilisé. Ce type de modifications peut grandement affecter les données et leurs interprétations (BUTLER et al. 1978).

En conclusion, l'analyse de l'ELISA semble mettre en évidence une réelle résistance des variétés préalablement identifiées comme telle par les fabricants. Cependant, une expérimentation plus poussée comme la réalisation d'une PCR permettant d'obtenir une charge virale plus précise ainsi qu'une augmentation du nombre de répliquas permettraient de confirmer cette analyse.

6.2 Comportements alimentaires des pucerons par EPG

- **Données de comptage .**

Les données issues de comptages sont composées du nombre de fois qu'un comportement choisi est observé sur une période de 8h. Cette information permet d'observer la facilité ou la difficulté avec laquelle le puceron peut se nourrir sur la plante étudiée. La répétition d'une phase au cours d'une période d'alimentation permet d'obtenir des informations précieuses sur la résistance de la plante aux ravageurs (Annexe : 3).

Comme énoncé précédemment, les différents comptages ne permettent pas d'observer de résultats significatifs. Cela signifie que la fréquence d'apparition d'un comportement n'est pas significativement différente entre les différentes variétés, hormis pour le nombre de phases de dérèglement des stylets (phase F). En effet, cette phase met en évidence une différence significative entre les variétés 8062 et 8060.

La phase « F » est une phase d'alimentation durant laquelle le puceron a des difficultés à se nourrir. En effet, cette phase est caractérisée par le fait que le puceron peut potentiellement se nourrir dans l'ensemble des tissus vasculaires de la plante, à savoir le xylème et le phloème. Les résultats statistiques semblent indiquer que le puceron n'a donc pas les mêmes facilités à se nourrir entre les variétés 8060 et 8062.

Cette différence de la variété 8062 peut s'expliquer par une résistance réelle qui induirait une difficulté du puceron à recruter ces stylets (GHAFAR 2011), comme semble le confirmer le test de Kruskal-Willis. Cependant, le test de Dunn qui met en évidence cette différence significative de la moyenne n'est pas très fiable, car les phases F ne sont pas nombreuses dans la majorité des cas, excepté pour certains individus dont les valeurs obtenues sont extrêmes et influencent fortement le nombre moyen de phases F par variété. Ce qui a tendance à nettement influencer le test de Dunn (qui est un test de structuration des moyennes et qui, de ce fait, est sensible lui aussi aux valeurs extrêmes). À cela s'ajoute qu'à l'heure actuelle, la phase F est encore une phase d'alimentation relativement peu connue. Les valeurs obtenues à propos de cette phase (que ce soit des durées ou des dénombrements) sont donc controversées dans la littérature (HUANG et al. 2012). En ce qui concerne ce mémoire, il est impossible d'affirmer avec certitude que *M. persicae* a un nombre de dérèglements des stylets provoqués par les variétés étudiées. Néanmoins, les résultats observés permettent de renforcer l'idée qu'en augmentant le nombre de répétitions par variétés, il serait possible d'observer des résultats plus robustes.

- **Durées cumulées de chacune des phases d'alimentation**

Seules la phase pholémienne (E2), la phase de dérèglement des stylets (F) et la phase xylémienne (G) ont des durées cumulées moyennes significativement différentes pour certaines variétés. Les autres phases d'alimentation étudiées ne permettant pas d'établir des différences variétales significatives.

Afin de présenter une lecture plus simple, chaque phase ainsi que ses résultats seront discutés individuellement. Une conclusion générale des résultats obtenus sera ensuite réalisée.

1. **Durée cumulée de la phase F (phase du dérèglement des stylets)**

Une fois de plus, une différence significative entre les moyennes de durées cumulées de la phase F est observée entre la variété 8060 et la variété 8062. Il semble donc difficile d'affirmer un impact réel de la variété 8062 sur le dérèglement des stylets de *M. persicae* (HUANG et al. 2012). Cependant, le fait que cette observation apparaisse à la fois pour le nombre et pour la durée cumulée de la phase F. Cela semble confirmer que, malgré le nombre restreint d'échantillons, il existerait une potentielle résistance de la variété 8062 qui induirait un dérèglement des stylets de *M. persicae*. Ce dérèglement pourrait expliquer, en partie, la résistance observée par le test ELISA. Pour assurer ces observations, il est nécessaire d'augmenter le nombre de répétitions.

2. **Durée cumulée de la phase G (phase de l'alimentation xylémienne).**

La phase d'alimentation xylémienne est souvent associée à un dysfonctionnement de l'expérimentation (SARRIA et al. 2009). C'est pourquoi, dans le cadre de ce mémoire, seule sa durée cumulée a été prise en considération. Cependant, l'observation de la moyenne variétale pour la durée cumulée de cette phase indique une différence significative des moyennes entre les variétés 8053 (variété sensible au BMV) et 8062 (variété résistante au BMV).

Cette différence semble indiquer que *M. persicae* (MYZ-1) a des difficultés à arriver au phloème de la variété 8062 et doit se contenter d'un accès au xylème. Cela peut s'expliquer de deux manières :

Soit la plante, possède une réelle résistance, empêchant le puceron de se nourrir correctement du phloème. Soit, certaines des plantes utilisées étaient trop faibles et produisaient un phloème en trop faible quantité ou de mauvaise qualité (SARRIA et al. 2009), augmentant donc la durée des phases xylémiennes.

Une différence entre le boxplot et le graphique des moyennes apparaît. En effet, le même constat que pour la phase F peut être réalisé. Il y a peu d'individus qui possèdent une phase G, de plus, les phases observées sont extrêmes et influencent fortement la structuration des moyennes (F.-G. Carpentier, 2013-2014).

Ces observations faites, il semble donc plus plausible que certaines plantes utilisées étaient simplement trop faibles.

3. **Durée cumulée de la phase E2 (phase d'alimentation phloémienne).**

Il existe plusieurs phases d'alimentation phloémienne. La phase E2 est particulière, elle correspond à la phase durant laquelle le puceron ingère le phloème à proprement parler. En d'autres termes, il s'agit de la phase de succion (TJALLINGII 2006). De plus, c'est durant cette phase que les virus persistants (comme le BMV) se propagent dans la plante hôte (ZHU et al. 2023). Cette phase est donc importante dans l'alimentation de *M. persicae*.

Comme énoncé dans la partie résultat, les moyennes de durées cumulées de phases E2 sont différentes entre les variétés 8060 et 8062 ainsi qu'entre les variétés 8062 et 8063. En effet, la variété 8062 possède une moyenne (pour la durée cumulée de phase E2) significativement plus grande de celle des variétés 8063 et 8062. Cette observation semble être en opposition réelle avec tous les résultats préalablement analysés. Toutefois, il est intéressant de constater que les différences significatives observées ne concernent que des variétés résistantes et non la variété 8053 qui est le témoin de l'expérience. La seule conclusion possible est donc que la variété 8062 est significativement plus sensible que les variétés résistantes 8060 et 8063. Cela illustre simplement, en ce qui concerne la phase E2, que *M. persicae* a plus de facilités à se nourrir correctement sur la variété 8062 que sur les variétés 8060 et 8063. Mais pas que la variété 8062 est plus sensible que la variété 8053 (variété sensible).

4. Conclusions de la partie comportementale par l'EPG.

Les résultats obtenus étant complexes à analyser et parfois contradictoires, la mise en place d'un résumé des informations générées pour chacune des variétés testées sera réalisé ci-après.

Premièrement, pour la variété sensible 8053, l'EPG ne permet pas d'apprendre de nouvelles informations (ce qui est logique, car cette variété jouait un rôle de témoin dans l'expérimentation).

Deuxièmement, pour la variété résistante 8060, l'EPG n'a pas permis de mettre en évidence une potentielle modification du comportement alimentaire de *M. persicae* (MYZ-1). Il en est de même pour la variété 8063.

Troisièmement, et pour terminer, pour la variété résistante 8062, l'EPG a permis de mettre en évidence de potentielles modifications du comportement de *M. persicae*. En effet, il a été observé que cette variété pourrait induire un dérèglement de l'utilisation des stylets ainsi qu'une augmentation de la durée cumulée des phases xylémiennes. Cependant, ces constatations sont remises en cause par certaines faiblesses statistiques (sensibilité du test de Dunn). De plus, lors de la discussion autour de la phase d'alimentation phloémienne, il a été observé que la variété 8062 admet une sensibilité plus importante que les autres variétés résistantes étudiées.

6.3 Tests de choix de variétés de betteraves par les pucerons

Les résultats des tests de choix mettent en évidence l'existence d'une différence significative entre les variétés 8060 et 8063, mais pas de différence entre les divers intervalles de comptage. Cette observation est intéressante, car elle met en relation deux variétés résistantes. De plus, il s'agit des variétés résistantes avec lesquelles la variété 8062 avait une différence significative pour la phase E (phase d'alimentation phloémienne) de l'EPG.

Étant donné que chaque variété résistante formait un duo avec la variété sensible (8053). Il semble particulier d'observer une différence significative entre deux variétés résistantes, mais pas avec la variété témoin (8053). Cette différence de nombre moyen de pucerons par plante peut s'expliquer par le fait que la variété 8060 attire un nombre plus important de pucerons que la variété 8060 sans pour autant être préférentiellement choisie par rapport à la variété sensible.

En extrapolant ces résultats, la variété 8063 pourrait donc être reconnue comme moins attractive que la variété 8060. Cette observation semble donc confirmer celles réalisées lors de la discussion de l'EPG à savoir que les variétés résistantes ne le sont pas toutes de la même façon. Cependant, ceci reste à confirmer par la mise en place d'un test de choix opposant ces deux variétés.

Quant au facteur « période », qui répertorie les différents intervalles entre les comptages, celui-ci ne possède pas d'effets significatifs. Cette observation peut s'expliquer par le fait que les pucerons utilisés lors du test sont des pucerons subadultes (forcément aptères) qui ne changent d'hôtes que rarement (Fericean et al. 2011). Une fois le choix effectué, le facteur temps n'intervient plus dans le déplacement de *M. persicae*.

7 Conclusions et perspectives

En conclusion, il est évident qu'il existe des relations complexes entre *M. persicae*, *B. vulgaris* et le BMV et que l'étude de ces relations doit se poursuivre afin de comprendre le mieux possible les mécanismes qui les régissent et, dans un futur proche, pouvoir utiliser ces mécanismes pour lutter plus efficacement contre les divers bioagresseurs. Dans le cadre de ce mémoire, les objectifs étaient de vérifier la résistance de certaines variétés de betterave fournie par plusieurs fabricants selon un axe éthologique et un axe virologique.

Premièrement, l'éthologie. Certaines modifications comportementales de *M. persicae* ont pu être observées par la réalisation de l'EPG. En effet, un potentiel dérèglement des stylets, une augmentation de la durée cumulée de la phase xylémienne ou une augmentation sensible de la durée cumulée de la phase phloémienne ont pu être observés pour la variété 8062. Cependant, une augmentation du nombre d'échantillons est nécessaire pour consolider ces observations.

Le test de choix ne permet pas de mettre en évidence une préférence variétale de la part de *M. persicae*. En revanche, il met en lumière une possible différence de sensibilité entre la variété 8060 et la variété 8063 qui doit être confirmée par la réalisation d'un test de choix entre ces deux variétés.

Deuxièmement, l'approche virologique. Le test ELISA nous permet de démontrer une différence significative entre l'ensemble des variétés sensibles et l'ensemble des variétés résistantes. En revanche, cette expérience ne permet pas de déterminer si une variété précise possède une résistance accrue au BMV. Afin de déterminer s'il existe une résistance variétale individuelle, il est nécessaire d'augmenter le nombre de répétitions par variété afin d'obtenir une population d'échantillons plus importante qui permettra de produire des résultats statistiques plus robustes. De plus, une amélioration du protocole ainsi qu'une standardisation de celui-ci entre les diverses répétitions permettra également de rendre les résultats plus fiables.

Dans l'ensemble, les résultats des différents tests éthologiques sont intéressants, mais difficiles à interpréter. Alors que les résultats du test ELISA sont plus sûrs et concrets.

Il est donc intéressant, dans l'avenir, d'augmenter le nombre de répliquas des différentes expériences présentées afin de rendre les observations réalisées plus robustes et de permettre d'observer des résistances variétales plus marquées. Les perspectives de ce type de recherches sont nombreuses. En effet, dans le cadre de ce mémoire, il a été permis d'observer de potentiels effets sur *M. persicae* ainsi qu'une diminution certaine de la charge virale des plantes résistantes. En raison de ces observations, il pourrait être intéressant de focaliser la recherche sur l'interaction betterave-BMV qui semble être la plus prometteuse.

Néanmoins, il ne faut pas sous-estimer l'impact que peut avoir la plante sur le vecteur. Certes, les observations faites lors de ce mémoire, ne permettent pas de conclure définitivement à une quelconque modification comportementale chez *M. persicae*. Cependant, les quelques observations réalisées démontrent un certain potentiel qui mérite que la recherche les explore.

8 Contribution personnelle

L'étudiant a accompli seul le travail de bibliographie permettant de comprendre et de cerner les objectifs du sujet propre à ce mémoire. L'étudiant a effectué l'ensemble des expérimentations de manière autonome. Il a également réalisé et interprété l'ensemble des statistiques présentes dans ce travail de fin d'étude. De plus, il s'est formé à l'usage de différents logiciels propres aux expérimentations, il a aussi appris à utiliser le langage "LATEX" afin d'améliorer la mise en page de son rapport. L'étudiant a réfléchi et choisi lui-même les différentes expérimentations afin que celles-ci soient cohérentes et permettent d'obtenir une réponse claire aux hypothèses préalablement définies.

Références

- ANTOONS, Kathleen (2020). « Le bilan jaunisse après cette première année sans néonicotinoïdes dans l'enrobage des semences de betterave sucrière ». In.
- BLACKMAN, R. L. (juin 1974). « Life-cycle variation of *Myzus persicae* (Sulz.) (Hom., Aphididae) in different parts of the world, in relation to genotype and environment ». In : *Bull. Entomol. Res.* 63.4, p. 595-607. ISSN : 0007-4853, 1475-2670. DOI : 10.1017/S0007485300047830. URL : https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0007485300047830/type/journal_article (visité le 21/06/2023).
- BODEREAU, Béatrice (2012). « REÇEPTEURS NICOTINIQUES NEURONAUX D'INSECTES ET INSECTICIDES : CARACTERISATION DE FACTEURS CELLULAIRES IMPLIQUES DANS LA MODULATION DE L'EFFICACITE DES NEONICOTINOÏDES ». In.
- BROŽEK, Jolanta et al. (1^{er} sept. 2015). « The structure of extremely long mouthparts in the aphid genus *Stomaphis* Walker (Hemiptera : Sternorrhyncha : Aphididae) ». In : *Zoomorphology* 134.3, p. 431-445. ISSN : 1432-234X. DOI : 10.1007/s00435-015-0266-7. URL : <https://doi.org/10.1007/s00435-015-0266-7> (visité le 30/03/2023).
- BUTLER, J.E. et al. (fév. 1978). « The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) : A measure of antibody concentration or affinity? » In : *Immunochemistry* 15.2, p. 131-136. ISSN : 00192791. DOI : 10.1016/0161-5890(78)90053-6. URL : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0161589078900536> (visité le 05/08/2023).
- CABI (28 mai 2021). « Beta vulgaris var. saccharifera (sugarbeet) ». In : *CABI Compendium* CABI Compendium. Publisher : CABI International, p. 8779. DOI : 10.1079/cabicompendium.8779. URL : <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/10.1079/cabicompendium.8779> (visité le 21/06/2023).
- CORBAZ, Roger (1990). *Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes*. Google-Books-ID : IvHeHvypiaQC. PUR presses polytechniques. 308 p. ISBN : 978-2-88074-201-0.
- DEDRYVER, Charles-Antoine, Anne LE RALEC et Frédéric FABRE (1^{er} juin 2010). « The conflicting relationships between aphids and men : A review of aphid damage and control strategies ». In : *Comptes Rendus Biologies. Les pucerons : modèles biologiques et ravageurs des cultures* 333.6, p. 539-553. ISSN : 1631-0691. DOI : 10.1016/j.crv.2010.03.009. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1631069110001150> (visité le 30/03/2023).
- DELUZARCHE, Céline (2023). *Définition | Puceron - Aphide | Futura Planète*. Futura. URL : <https://www.futura-sciences.com/planete/definitions/insecte-puceron-18654/> (visité le 01/08/2023).
- DEVI, Potshangbam Bijaya et SINGH (2007). « Studies on the morphometry of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera : Aphididae) ». In : *Entomological Research* 37.2. _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/15967.2007.00055.x>, p. 81-85. ISSN : 1748-5967. DOI : 10.1111/j.1748-5967.2007.00055.x. URL : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1748-5967.2007.00055.x> (visité le 29/03/2023).
- DÜRR, Carolyne et Jean-Noël AUBERTOT (1^{er} mars 2000). « Emergence of seedlings of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) as affected by the size, roughness and position of aggregates in the seedbed ». In : *Plant and Soil* 219.1, p. 211-220. ISSN : 1573-5036. DOI : 10.1023/A:1004723901989. URL : <https://doi.org/10.1023/A:1004723901989> (visité le 22/06/2023).
- EIGENBRODE, Sanford D. et al. (7 mars 2002). « Volatiles from potato plants infected with potato leafroll virus attract and arrest the virus vector, *Myzus persicae* (Homoptera : Aphididae) ». In : *Proceedings of the Royal Society of London. Series B : Biological Sciences* 269.1490. Publisher : Royal Society, p. 455-460. DOI : 10.1098/rspb.2001.1909. URL : <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rspb.2001.1909> (visité le 30/03/2023).
- EMDEN, H. F. van et al. (1969). « The Ecology of *Myzus persicae* ». In : *Annual Review of Entomology* 14.1. _eprint : <https://doi.org/10.1146/annurev.en.14.010169.001213>, p. 197-270. DOI : 10.1146/annurev.en.14.010169.001213. URL : <https://doi.org/10.1146/annurev.en.14.010169.001213> (visité le 20/02/2023).
- EUBEN, Ronald (2018). « Les bons préparatifs pour une saison betteravière gagnante! » In.
- FERERES, Alberto et Benjamín RACCAH (15 avr. 2015). « Plant Virus Transmission by Insects ». In : Accepted : 2015-08-18T09 :12 :01Z ISBN : 9780470015902 Publisher : John Wiley & Sons. URL : <https://digital.csic.es/handle/10261/121160> (visité le 30/03/2023).
- FERNÁNDEZ-GRANDON, G. (1^{er} oct. 2012). « The effect of the aphid sex pheromone on the aphid *Myzus persicae* and its parasitoid *Aphidius colemani* ». Thèse de doct.
- FERNANDEZ-QUINTANILLA, C. et al. (2002). « Development and reproduction of *Myzus persicae* and *Aphis fabae* (Hom., Aphididae) on selected weed species surrounding sugar beet fields ». In : *Journal of Applied Entomology* 126.4. _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1439-0418.2002.00627.x>, p. 198-202. ISSN : 1439-0418. DOI : 10.1046/j.1439-0418.2002.00627.x. URL : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1439-0418.2002.00627.x> (visité le 08/02/2023).
- FINGU-MABOLA, Junior Corneille et Frédéric FRANCIS (29 mai 2021). « Aphid-Plant-Phytovirus Pathosystems : Influencing Factors from Vector Behaviour to Virus Spread ». In : *Agriculture* 11.6, p. 502. ISSN : 2077-0472. DOI : 10.3390/agriculture11060502. URL : <https://www.mdpi.com/2077-0472/11/6/502> (visité le 09/02/2023).

- GHAFFAR, Mohamad Bahagia AB (14 juill. 2011). « Brown Planthopper (*N. lugens* Stal) Feeding Behaviour on Rice Germplasm as an Indicator of Resistance ». In : *PLOS ONE* 6.7. Publisher : Public Library of Science, e22137. ISSN : 1932-6203. DOI : 10.1371/journal.pone.0022137. URL : <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0022137> (visité le 09/08/2023).
- HARRISON, Xavier A. et al. (23 mai 2018). « A brief introduction to mixed effects modelling and multi-model inference in ecology ». In : *PeerJ* 6. Publisher : PeerJ Inc., e4794. ISSN : 2167-8359. DOI : 10.7717/peerj.4794. URL : <https://peerj.com/articles/4794> (visité le 09/08/2023).
- HAUER, Melanie et al. (1^{er} mars 2017). « Neonicotinoids in sugar beet cultivation in Central and Northern Europe : Efficacy and environmental impact of neonicotinoid seed treatments and alternative measures ». In : *Crop Protection* 93, p. 132-142. ISSN : 0261-2194. DOI : 10.1016/j.cropro.2016.11.034. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026121941630357X> (visité le 08/02/2023).
- HOSSAIN, Roxana et al. (2021). « New insights into virus yellows distribution in Europe and effects of beet yellows virus, beet mild yellowing virus, and beet chlorosis virus on sugar beet yield following field inoculation ». In : *Plant Pathology* 70.3. _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/ppa.13306>, p. 584-593. ISSN : 1365-3059. DOI : 10.1111/ppa.13306. URL : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ppa.13306> (visité le 13/02/2023).
- HUANG, Fang et al. (2012). « EPG waveform characteristics of solenopsis mealybug stylet penetration on cotton ». In : *Entomologia Experimentalis et Applicata* 143.1. _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1570-7458.2012.01233.x>, p. 47-54. ISSN : 1570-7458. DOI : 10.1111/j.1570-7458.2012.01233.x. URL : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1570-7458.2012.01233.x> (visité le 09/08/2023).
- KAGABU, Shinzo (13 avr. 2011). « Discovery of Imidacloprid and Further Developments from Strategic Molecular Designs ». In : *J. Agric. Food Chem.* 59.7. Publisher : American Chemical Society, p. 2887-2896. ISSN : 0021-8561. DOI : 10.1021/jf101824y. URL : <https://doi.org/10.1021/jf101824y> (visité le 22/06/2023).
- LANGE, Wouter, Willem A. BRANDENBURG et Theo S. M. De BOCK (mai 1999). « Taxonomy and culonomy of beet (*Beta vulgaris* L.) » In : *Botanical Journal of the Linnean Society* 130.1, p. 81-96. ISSN : 00244074. DOI : 10.1111/j.1095-8339.1999.tb00785.x. URL : <https://academic.oup.com/botlinnean/article-lookup/doi/10.1111/j.1095-8339.1999.tb00785.x> (visité le 20/02/2023).
- LOJEK, J. S. et G. B. ORLOB (1972). « Transmission of Tobacco Mosaic Virus by *Myzus persicae* ». In : *Journal of General Virology* 17.1. Publisher : Microbiology Society, p. 125-127. ISSN : 1465-2099. DOI : 10.1099/0022-1317-17-1-125. URL : <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/0022-1317-17-1-125> (visité le 30/03/2023).
- MASON, Arthur C. (1921). « A Host Plant List of Aphids in the Vicinity of the University of Florida ». In : *The Florida Entomologist* 5.2. Publisher : Florida Entomological Society, p. 21-25. ISSN : 0015-4040. DOI : 10.2307/3491957. URL : <https://www.jstor.org/stable/3491957> (visité le 23/03/2023).
- MONTI, Martin (2011). « Statistical Analysis of fMRI Time-Series : A Critical Review of the GLM Approach ». In : *Frontiers in Human Neuroscience* 5. ISSN : 1662-5161. URL : <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnhum.2011.00028> (visité le 05/08/2023).
- SARRIA, E. et al. (1^{er} juin 2009). « Excel Workbook for automatic parameter calculation of EPG data ». In : *Computers and Electronics in Agriculture* 67.1, p. 35-42. ISSN : 0168-1699. DOI : 10.1016/j.compag.2009.02.006. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168169909000283> (visité le 16/07/2023).
- SAUVION, Nicolas et Yvan RAHBE (1^{er} déc. 1999). « Recording feeding behaviour of Hemiptera with the EPG method : A review ». In : *Annales de la Societe Entomologique de France* 35, p. 175-183.
- SINGH et al. (7 juill. 2021). « Global patterns in genomic diversity underpinning the evolution of insecticide resistance in the aphid crop pest *Myzus persicae* ». In : *Commun Biol* 4.1, p. 847. ISSN : 2399-3642. DOI : 10.1038/s42003-021-02373-x. URL : <https://www.nature.com/articles/s42003-021-02373-x> (visité le 21/03/2023).
- SPW (2023). *Betterave sucrière : produits, charges et marge brute*. Etat de l'Agriculture Wallonne. URL : http://etat-agriculture.wallonie.be/cms/render/live/fr/sites/reaw/contents/indicatorsheets/EAW-C_III_b_5.html (visité le 22/03/2023).
- STEVENS (1^{er} oct. 1997). « Comparison of ELISA and RT-PCR for the detection of beet yellows closterovirus in plants and aphids ». In : *Journal of Virological Methods* 68.1, p. 9-16. ISSN : 0166-0934. DOI : 10.1016/S0166-0934(97)00103-1. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166093497001031> (visité le 10/02/2023).
- TJALLINGII, Fred (1^{er} fév. 2006). « Salivary secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses ». In : *Journal of experimental botany* 57, p. 739-45. DOI : 10.1093/jxb/erj088.
- TU, Xijuan et Wenbin CHEN (19 mai 2021). « Overview of Analytical Methods for the Determination of Neonicotinoid Pesticides in Honeybee Products and Honeybee ». In : *Critical Reviews in Analytical Chemistry* 51.4,

- p. 329-338. ISSN : 1040-8347, 1547-6510. DOI : 10.1080/10408347.2020.1728516. URL : <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408347.2020.1728516> (visité le 12/08/2023).
- WARITANI, Takaki et al. (1^{er} jan. 2017). « An ELISA protocol to improve the accuracy and reliability of serological antibody assays ». In : *MethodsX* 4, p. 153-165. ISSN : 2215-0161. DOI : 10.1016/j.mex.2017.03.002. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215016117300122> (visité le 31/03/2023).
- WRÓBEL, Sławomir (1^{er} jan. 2009). « The retention of PVY in the stylet of *Myzus persicae* Sulz. after the application of mineral oil on potato plants ». In : *Plant Breeding and Seed Science* 60.1. ISSN : 2083-599X, 1429-3862. DOI : 10.2478/v10129-010-0001-y. URL : <http://archive.sciendo.com/PLASS/plass.2009.60.issue--1/v10129-010-0001-y/v10129-010-0001-y.pdf> (visité le 30/03/2023).
- ZHU, Yunsheng et al. (15 juin 2023). *Sugar beet resistance to green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer) and black bean aphid *Aphis fabae* (Scop.) : Mechanisms and Implications for breeding*. DOI : 10.21203/rs.3.rs-3043142/v1. URL : <https://www.researchsquare.com> (visité le 10/08/2023).

9 Annexes

9.1 Normalité des résultats de l'EPG

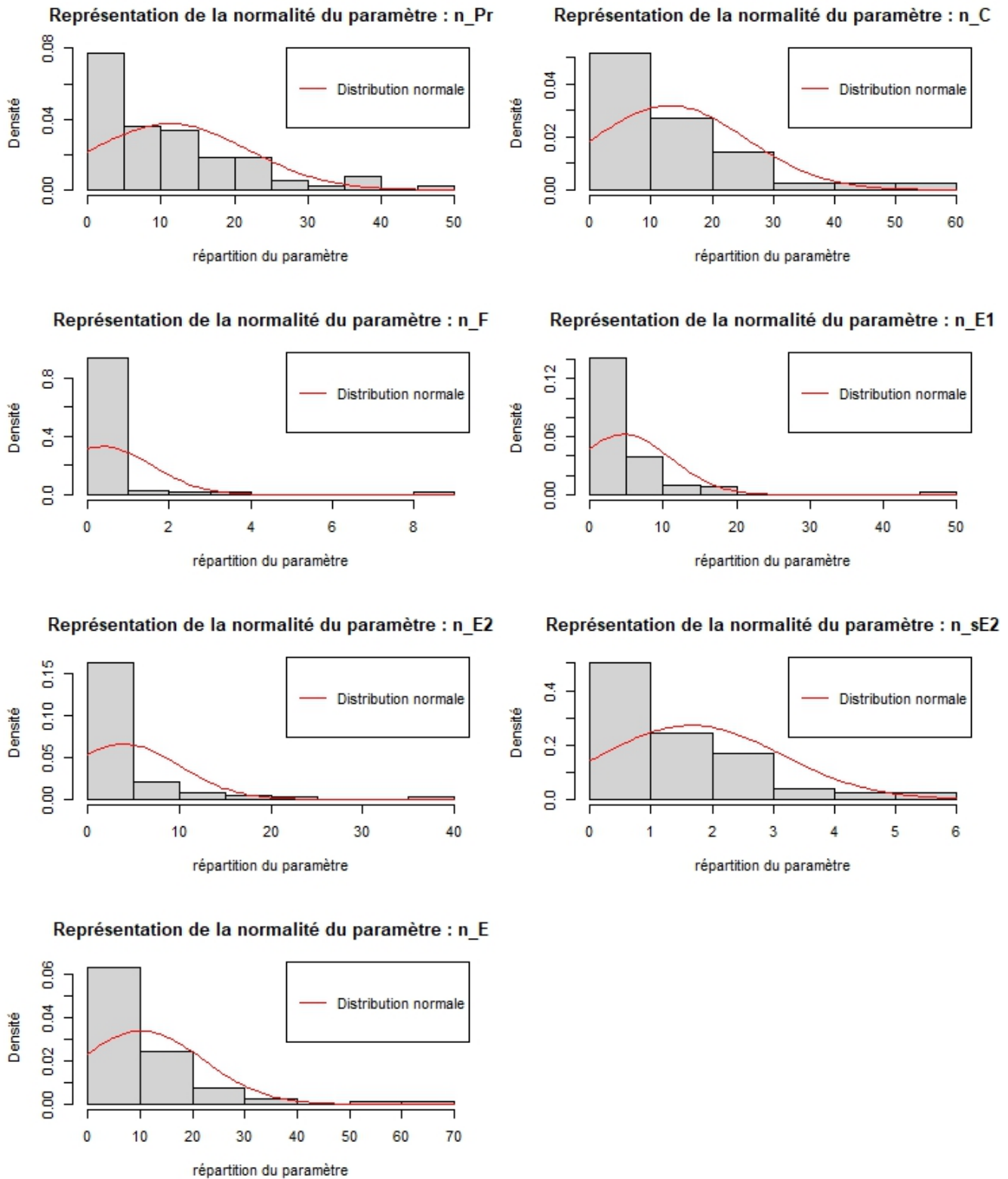


FIGURE 20 – Graphiques permettant d'étudier la normalité des populations issues de comptage

9.2 Graphique récapitulatif du test ELISA

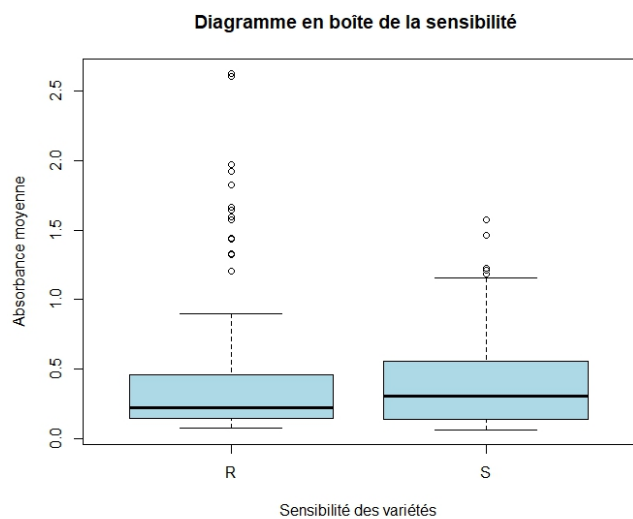


FIGURE 21 – Boxplot du test ELISA

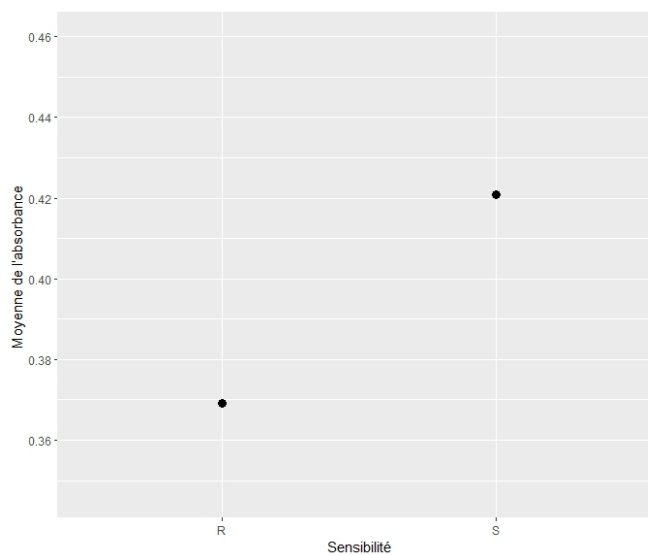


FIGURE 22 – Moyenne précise des modalités du test ELISA

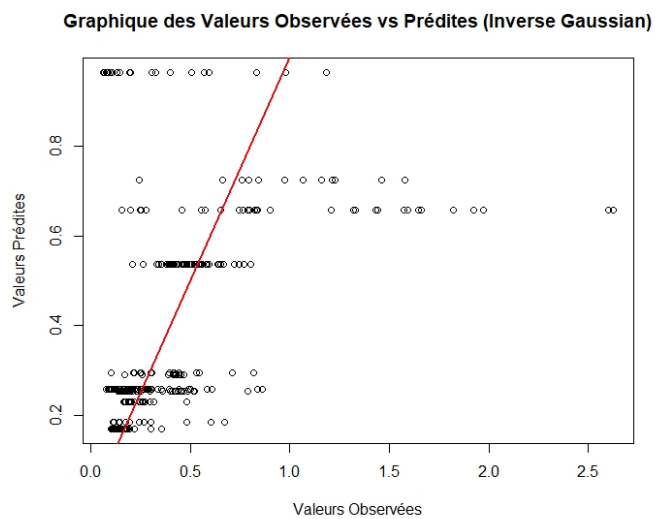


FIGURE 23 – Graphique du modèle GLMM

9.3 Statistiques descriptives des EPG

groupe	Moyenne "s_Pr"	Médiane "s_Pr"	EcartType "s_Pr"	Minimum "s_Pr"	Maximum"s_Pr"
8053	36815,99	25154,41	42060,65	0	140841,31
8060	26923,61	26949,2	21998,37	0	94553,18
8062	54618,78	28712,98	90674,36	0	440416,65
8063	33741,83	26466,58	42213,61	0	139680,04
groupe	Moyenne "s_C"	Médiane "s_C"	EcartType "s_C"	Minimum "s_C"	Maximum"s_C"
8053	9341,32	6896,28	9918,8	0	33304,8
8060	10796,6	7556,93	13940,87	0	50042,45
8062	17312,31	9160,99	25616,33	0	103592,69
8063	8560,06	4448,28	16687,26	0	74463,69
groupe	Moyenne "s_F"	Médiane "s_F"	EcartType "s_F"	Minimum "s_F"	Maximum"s_F"
8053	26,13	0	65,26	0	227,68
8060	34,51	0	161,89	0	759,31
8062	331,96	0	982,39	0	4420,92
8063	112,9	0	349,79	0	1340,73
groupe	Moyenne "s_E1"	Médiane "s_E1"	EcartType "s_E1"	Minimum "s_E1"	Maximum"s_E1"
8053	2581,67	184,51	5368,94	0	18320,45
8060	2168,23	261,49	6241,04	0	28770,04
8062	1391,01	261,28	2624,65	0	10416,68
8063	2127,14	1245,1	2689,26	0	9206,37
groupe	Moyenne "s_E2"	Médiane "s_E2"	EcartType "s_E2"	Minimum "s_E2"	Maximum"s_E2"
8053	8512,28	9343,65	7779,04	0	22884,41
8060	8184,78	6384,04	8747,92	0	26261,77
8062	14488,47	14567,2	7412,91	0	26251,99
8063	8194,84	4715,54	9135,5	0	25967,83
groupe	Moyenne "n_sE2"	Médiane "n_sE2"	EcartType "n_sE2"	Minimum "n_sE2"	Maximum"n_sE2"
8053	2,07	2	1,79	0	5
8060	1,36	1,5	1,26	0	4
8062	1,91	2	1,27	0	6
8063	1,42	1	1,61	0	6
groupe	Moyenne "t_1E"	Médiane "t_1E"	EcartType "t_1E"	Minimum "t_1E"	Maximum"t_1E"
8053	6922,3	6964,76	7627,39	0	27681,98
8060	3816,26	2757,49	3602,84	0	11608,73
8062	6216,66	3102,19	7360,66	0	27998,2
8063	4855,88	2129,1	8226,72	0	27842,07
groupe	Moyenne "t_1E2"	Médiane "t_1E2"	EcartType "t_1E2"	Minimum "t_1E2"	Maximum"t_1E2"
8053	7292,61	7171,15	7849,38	0	28799,98

8060	4886,9	2885,62	6414,53	0	28799,98
8062	6037,39	4082,53	5619,36	0	23559,43
8063	2577,51	2698,38	2547,22	0	9080,03
groupe	Moyenne "s_G"	Médiane "s_G"	EcartType "s_G"	Minimum "s_G"	Maximum "s_G"
8053	0	0	0	0	0
8060	1655,84	0	3174,47	0	9185,99
8062	2640,37	0	4843,47	0	15098,9
8063	1428,7	0	4290,95	0	14512,97
groupe	Moyenne "n_Pr"	Median "n_Pr"	EcartType "n_Pr"	Minimum "n_Pr"	Maximum "n_Pr"
8053	14,2	12	13,47	0	49
8060	12,36	11,5	11,1	0	39
8062	10,09	7	10,12	0	39
8063	8,63	7	8,12	0	28
groupe	Moyenne "n_C"	Médiane "n_C"	EcartType "n_C"	Minimum "n_C"	Maximum "n_C"
8053	17,13	13	17,48	0	57
8060	13,77	15	12,39	0	41
8062	12,23	9	11,54	0	42
8063	9,95	7	8,87	0	28
groupe	Moyenne "n_F"	Médiane "n_F"	EcartType "n_F"	Minimum "n_F"	Maximum "n_F"
8053	0,27	0	0,59	0	2
8060	0,14	0	0,64	0	3
8062	0,77	0	1,93	0	9
8063	0,26	0	0,93	0	4
groupe	Moyenne "n_E1"	Médiane "n_E1"	EcartType "n_E1"	Minimum "n_E1"	Maximum "n_E1"
8053	6,47	4	11,81	0	48
8060	4,5	4,5	4,62	0	16
8062	4,18	3	4,14	0	16
8063	3,79	3	4,14	0	13
groupe	Moyenne "n_E2"	Médiane "n_E2"	EcartType "n_E2"	Minimum "n_E2"	Maximum "n_E2"
8053	5,27	3	6,98	0	24
8060	3,59	3	4,35	0	15
8062	4,09	2	7,9	0	38
8063	3,11	1	4,85	0	18
groupe	Moyenne "s_E"	Médiane "s_E"	EcartType "s_E"	Minimum "s_E"	Maximum "s_E"
8053	10555,09	12214,51	8330,18	0	23101,41
8060	10353	8811,42	9275,91	0	28770,04
8062	15879,48	15587,85	6897,07	0	26448,51
8063	10321,98	8742,56	9519,59	0	25967,83
groupe	Moyenne "n_E"	Médiane "n_E"	EcartType "n_E"	Minimum "n_E"	Maximum "n_E"

8053	13,8	11	17,89	0	70
8060	9,45	8,5	8,93	0	28
8062	10,18	6,5	10,98	0	51
8063	8,32	6	9,8	0	36
groupe	Moyenne "t_1sE2"	Mediane "t_1sE2"	EcartType "t_1sE2"	Minimum "t_1sE2"	Maximum "t_1sE2"
8053	8396,18	5544,74	9475,93	0	28799,98
8060	6710,46	5204,58	8399,55	0	28799,98
8062	6135,54	4082,53	5570,2	0	23559,43
8063	3886,21	2943,86	5038,91	0	21106,51

9.4 Explication de l'ensemble des phases d'alimentations observables par l'EPG

Liste des variables EPG normalisées

définitions et calculs

dernière mise à jour : 01/08/2011

Colomnes:

- #, nombre: Numéro variable arbitraire dans ce cas, les nombres peuvent changer lors des insertions ultérieures lors des détections
- Acronymes : Séquence cohérente de lettres, de symboles et de séparateurs à utiliser comme brèves références aux variables
- Remarques: Définition complémentaire et/ou explication de la définition
- Astuces: Conseils pour enregistrer ou calculer la variable sous certaines conditions
- Applications: Évaluation biologique de la variable et comment l'utiliser comme indicateur des propriétés du puceron/de la plante. Cela devrait être étendu avec des références à l'utilisation réelle de la variable.

Variables d'abord non séquentielles puis séquentielles, section pd à la fin.

Remarques générales:

De nombreuses variables sont des indicateurs importants pour les facteurs génotypiques et phénotypiques des plantes ainsi que pour des parties ou des tissus végétaux spécifiques. Ces facteurs stimulent ou inhibent les occurrences, les durées ou la première apparition des formes d'onde (activité des pucerons). De nombreuses variables sont mutuellement dépendantes. Il sera souvent préférable de présenter une sélection des (meilleures) variables plutôt que de toutes (listées ici ou ailleurs). De plus, non seulement les variables qui diffèrent sont importantes, mais aussi certaines qui ne sont pas différentes peuvent fournir des informations importantes. Les valeurs variables résultantes dépendront du temps de recodage utilisé. Un temps d'enregistrement approprié doit être établi sur la base des questions de recherche concernées et de certaines expériences pilotes.

La liste est divisée en une première partie avec des variables non séquentielles et une seconde partie avec des variables séquentielles. Les gouttes potentielles sont répertoriées séparément, après toutes les autres formes d'onde car il n'est souvent pas nécessaire de les analyser (ce qui prend beaucoup de temps). Les variables de chute potentielles et mésophylliens inadaptés sont également divisées en variables non séquentielles et séquentielles.

Pièges dans les calculs de variables :

- Les moyennes et les médianes sont toutes deux affectées lorsqu'une forme d'onde est enregistrée comme la dernière, qui est artificiellement terminée par l'enregistrement. Cela peut fournir une différence indésirable entre les traitements.
- Dans les variables séquentielles, le temps jusqu'à une première période d'une certaine forme d'onde ne peut pas être calculé dans les enregistrements (répétitions) dans lesquels cette forme d'onde n'est pas affichée. Par exemple, le temps jusqu'au premier E (phase du phloème) dans les enregistrements sans aucun E. Il y a 3 options : 1) Inter un tel enregistrement (ou insérer 'NV', aucune valeur). Seules les répétitions montrant la forme d'onde contribuent à la moyenne du traitement et réduisent les possibilités de tests statistiques ultérieurs. De plus, la moyenne du traitement sera biaisée et sous-estimera le temps jusqu'au premier E. 2) Utiliser le temps total d'enregistrement (ou le temps dans la ligne de sonde jusqu'à la fin de l'enregistrement) sera une meilleure solution, au moins dans la variable temps jusqu'au premier E car cela réduit le biais et n'affectera pas le nombre de répétitions. 3) Insertion de la valeur '0' pour cette variable. Dans cet exemple, ce sera la pire solution, mais dans d'autres cas, cela pourrait être correct. La meilleure stratégie de ces 3 est indiquée dans la liste par la police du numéro de variable. Alternativement, les variables qui sont affectées si une forme d'onde n'est pas affichée pourraient être évitées ou remplacées par des variables telles que le pourcentage de pucerons montrant cette forme d'onde, ou le temps minimum nécessaire pour l'attacher.
- Toutes les variables de forme d'onde du phloème sont affectées par des durées de forme d'onde non-phloème. Un chemin plus long (C), une mécanique de stylet déraillé (F) ou une ingestion de xylème (G) signifient des formes d'onde de phloème retardées et donc plus courtes et une probabilité plus faible de montrer un sE2. Ainsi, les plantes peuvent obtenir un score moins approprié, parfois malgré une bonne qualité du phloème. Il peut s'agir d'une différence d'importation entre les plantes exposées aux pucerons enregistrés par EPG en laboratoire et les plantes sur le terrain où le « temps d'exposition » peut être beaucoup plus long et peut entraîner des « facteurs de phloème » très différents sur le terrain. L'exposition au champ peut également être beaucoup plus courte lorsque les pucerons décollent sur la base de facteurs épidermiques et mésophylliens inadaptés ou peut être beaucoup plus longue si ces facteurs conduisent au décollage. Voir, temps de recodage ci-dessus.

variables variables non séquentielles

Les variables non séquentielles comprennent des nombres, des moyennes, des médianes et des sommes de périodes et de durées pour chaque forme d'onde. Les moyennes et les médianes sont toutes deux importantes car les valeurs des durées des périodes de forme d'onde ne sont généralement pas distribuées normalement (asymétrie) et leurs médianes pourraient refléter un meilleur critère dans les statistiques ultérieures que les moyennes. Avec de nombreuses variables non séquentielles, il faut être conscient que des nombres élevés indiquent souvent une propriété biologique opposée aux moyennes, médianes et sommes élevées. Ces variables présentent des caractéristiques générales des interactions pucerons-plantes, dont certaines sont importantes mais d'autres non ou dont les valeurs sont difficiles à interpréter en termes d'adéquation des plantes aux pucerons élevés.

#	Acronyme	Définition des variables	Remarques	Conseils/Calcul	Évaluation
1	n_Np	nombre de non-sondage (Np) périodes	comprend le 1er et le dernier Np, si seulement, n_Np est égal à 0 ou 1 plus de n_Pr.	non-sondage Tous les EPG commencent par n_Np mais il n'est enregistré que si l'acquisition est commutée sur les pucerons filaires zone mis sur les plantes	indicateur de résistance des plantes mais plus n_Pr au début de l'EPG uniquement, indique un non-phloème inapproprié
2	a_Np	Np moyen (durée par période)			points facteurs moins appropriés dans la zone non phloème
3	m_Np	Np médian			- identifiant -
4	s_Np	somme de Np (temps)	au-dessus de 75 %, répétition rejetée	indique un échec de réplication	si long, indique un mauvais état de réplication
5	mx_Np	Np maximal			
6	Radio Nationale	nombre de sondes (Pr)	quelle devrait être l'exigence minimale pour considérer un signal comme une sonde ?	sonder Semblable à n_Np, nombres plus élevés indiquent des plantes ou des tissus plus pauvres	
7	avr	Pr moyenne		*	
8	m_Pr	Pr médian		*	
9	s_Pr	somme de Pr	s_Pr + s_Np = temps d'enregistrement	*	Des valeurs élevées indiquent tissu stimulant signaux, voir aussi C
10	NC	nombre de périodes C	C est considéré comme tout A, B, C, et y compris tous les pd mais sans E1, F et G	sentier *	Difficile d'exprimer une valeur à C dans termes de qualité des plantes. Signaux par approprié <u>les tissus autres que le phloème augmentent la durée</u> de C mais les facteurs négatifs du phloème le font aussi
11	a_C	durée moyenne période C		*	
12	m_C	durée médiane période C		*	
13	s_C	somme de C			
14	n_F	nombre de périodes F	G commence parfois par une courte fréquence F élevée	mécanique du stylet déraillé	Pas de relation claire avec la plante l'adéquation a été établie jusqu'à présent
15	un_F	durée moyenne période F			
16	m_F	durée médiane période F			
17	s_F	somme de F			
18	n_G	nombre de périodes G	G reflète le stress hydrique et principalement semble un indicateur de soif.	xylème	Pas de relation directe avec la qualité de la plante mais les plantes pauvres améliorent les longues périodes G. Sans phloème, les insectes se nourrissent avoir soif et montrer plus G
19	a_G	durée moyenne période G			
20	m_G	durée médiane période G			
21	s_G	somme de G			
22	n_E1e	nombre de périodes E1e	Forme d'onde extracellulaire E1.	voie salivation (?)	Aucune corrélation de forme d'onde montrée, jusqu'à présent. Ainsi, aucune relation avec la qualité de la plante n'est évidente. Il est possible que les résultats futurs en montrent quelques-uns. Après E2, points extracellulaire, niveau à la mort SE?
23	a_E1e	durée moyenne période E1e	E1e peut survenir pendant une période de C mais aussi après E2., qui ira à un extracellulaire niveau puis en C mx_E1e		
24	m_E1e	durée médiane période E1e			
25	s_E1e	somme de E1e			
26	n_sgE1	nombre de périodes E1 simple	uniquement E1 sans précédent ou période E2 ultérieure	phloème	Indique les difficultés initiales du phloème pour supprimer le colmatage des protéines SE ou SE acceptation pour se nourrir. Quoi qu'il en soit si faible/bref, ces var. indiquer l'adéquation SE. Si il est long, il souligne les difficultés éventuellement mieux que seulement a_m_ et s_
27	a_sgE1	durée moyenne période sgE1			
28	m_sgE1	durée médiane période sgE1			
29	s_sgE1	somme sg E1			
30	mx_sgE1	durée maximale période sgE1			
31	n_frE1	nombre de fraction E1 périodes	seulement E1 avec un précédent ou période E2 ultérieure		Indique des difficultés de phloème ultérieures. Colmatage qualité, rejet du phloème pendant E2
32	a_frE1	fraction E1 moyenne			les fractions longues indiquent difficultés de phloème, semblable à la var. 26 max. prend en charge var. 32-35, voir 30 aussi
33	m_frE1	fraction E1 médiane			
34	s_frE1	somme des fractions de temps E1			
35	mx_frE1	max. Fraction E1			
36	n_E1	nombre de périodes E1	périodes sgE1 et frE1	*	Élevé ou faible suggère une mauvaise acceptation SE élevé indique une mauvaise acceptation SE
37	a_E1	durée moyenne période E1		Utilité en plus de _sgE1 et _frE1 var. ?	
38	m_E1	durée médiane période E1			
39	s_E1	somme E1		Utilité?	Un s_E1 élevé ou nul suggère une mauvaise acceptation de SE.
40	mx_E1	période E1 maximale			
41	n_E12	nombre de E12	périodes avec E1 et E2		Plus de périodes E12 que n_sgE1 et légèrement moins de n_fr E1 suggèrent un bon SE.
42	a_E12	moyenne E12			
43	m_E12	E12 médian			longue a_E12, m_E12, et s_E12 suggère bon Acceptation SE.
44	s_E12	somme du temps E12			
45	mx_E12	maxi E12,		Utilité en complément de mx_E2 ?	
46	n_E2	nombre de E2		Écarts :	Élevé ou zéro suggère une mauvaise qualité SE
47	a_E2	moyenne E2		*	Élevé indique une bonne qualité de sève SE
48	m_E2	E2 médian			- identifiant -
49	s_E2	somme de E2			- identifiant -
50	mx_E2	maxi E2		dernier E2 artificiel terminé ? Si faible, pas toujours pertinent	
51	n_sE2	nombre de E2	E2 soutenu = E2 > 10 min		Si > 0 indique une bonne qualité SE
52	a_sE2	signifie sE2			valeur ajoutée ?
53	m_sE2	sE2 médian			
54	s_sE2	somme de sE2	Et si le dernier artificiel de l'E2 se terminait ?	Utilité?	Si faible, pas toujours pertinent

variables séquentielles

De nombreuses variables utilisent le temps pour une certaine forme d'onde. Toutes ces variables sont définies comme le temps depuis le début de la 1ère sonde sauf var. 54, temps jusqu'à la 1ère sonde qui est mesuré à partir du temps 0. Dans d'autres variables, le temps est mesuré à partir d'un certain autre point, qui est défini ensuite. Si ce n'est pas le temps d'enregistrement qui est concerné mais par exemple uniquement le temps C (var. 57-59) celui-ci est défini et indiqué dans les sigles.

		sonder			
55	d>1Pr	temps jusqu'à la 1ère sonde	enregistrement ; = d_1Np ; seulement ce t>... var. depuis le temps 0	Très variable, influencé par l'état du puceron et famine avant l'enregistrement affectée par la maladie des puc Long.	facteurs végétaux volatils et de surface
56	d_1Pr	durée de la 1ère sonde		titon, voir var.1 et 55	
		phase phloème			
57	d>1E	temps à 1er E	temps à toujours depuis le début de la 1ère sonde , sauf en var. 55 bien sûr	NEST PAS : le temps nécessaire à atteindre le phloème	Court, indique un bon non-phloème et Acceptation SE. Voir par 67
58	tC>1E/1pr	temps C à 1stE dans 1er Pr avec E	seulement 1ère sonde avec E	Si pas de E, calculez, il est temps de finir	
59	tC>1E/pr	moy. temps C à 1stE en Pr	Remarque : s'il y a un F ou un G avant le 1er E, utilisez toutes les sondes avec E	Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	Court, indique peu de barrières avant le phloème
60	nmC>1E/pr	min. temps C à 1stE en Pr	toutes les sondes avec E	Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	- identifiant -
61	n_bp>1E	Non. brèves sondes jusqu'au 1stE	bref est < 3 min	Si F > 1er E, rejeter var.	- id - dans la meilleure situation
62	n_Pr>1E	Non. de sondes jusqu'au 1erE	toutes les sondes par puceron	Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	Élevé indique des facteurs négatifs dans épiderme et mésophylle
63	d>1E12	temps pour le 1stE12		Si pas de E, calculez, il est ten	faible indique une bonne qualité de la plante
64	d>1E2	temps pour le 1stE2		Si pas de E, calculez, il est ten	toute valeur supplémentaire à var. 57 et 67 ?
65	d>1sE2	temps pour 1stE2			indique l'acceptation de la sève SE
66	n_Pr>1sE2	Non. de sondes jusqu'au 1erE2		Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	difficile à séparer de var. 67
67	n_Pr>1sE2	Non. de sondes jusqu'au 1ersE2		Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	utile en complément du 59 ?
68	n_Pr<1sE	nombre de Pr après 1èresE2		Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	utile en complément des 59 et 63 ?
69	n_E2>1sE2	Non. de E2 avant les 1ersE2		Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	faible indique une bonne acceptation de la sève SE
		rapports de phase du p			
70	%_E2/C	Rapport E2/C	(s_E2+1)/s_C (%)	Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	élevé indique une bonne qualité de la plante
71	%_E1/tousE	Indice E1	nouvelle var.	Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	élevé, indique une mauvaise adéquation SE et
72	n_frE1/n_E1E2	E fractionnement	nouveau pair	Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	- identifiant -
73	%_E2/tous<1E2	Indice E2	% de E2/tous les temps après le 1er départ E2	Si l'y n'y a pas de E, jetez var.	

baisses potentielles

Attention : au sein des baisses de potentiel, les sous-phases sont souvent difficiles à analyser – début des sous-phases II-1 et II-2, notamment – et donc, ces variables sont pour la plupart peu fiables. Le transitoire de la sous-phase II-2 à II-3 est souvent plus clair et puisque la durée de la sous-phase II-3 est la principale différence entre les pd « standards » et « longs », la durée de II-3 sera une variable mieux définie que la nombre de périodes pd-S et pd-L, arbitrairement séparées.

-- non séquentielle

74	n_pd	nombre de pd			
75	a_pd	durée moyenne de pd			
76	m_pd	durée médiane de pd			
77	s_pd	somme de temps pd			
78	a_pd II-1	durée moyenne pd II-1	Les variables de cette zone grise sont difficiles à dériver des signaux EPG depuis le II-1 / II-2 le transitoire est souvent flou	Séparation de II-1 et II-2 est souvent problématique	Aucune preuve qu'une moyenne élevée signifie une meilleure inoculation
79	m_pd II-1	durée médiane pd II-1		De plus, II-1 contient peut-être 2 sous-phases	
80	s_pd II-1	somme des temps pd II-1 périodes			
81	a_pd II-2	durée moyenne pd II-2			
82	m_pd II-2	durée médiane pd II-2			
83	s_pd II-2	somme des temps pd II-2 périodes			
84	a_pd II-3	durée moyenne pd II-3	le transitoire II-2/II-3 est beaucoup plus clair		
85	m_pd II-3	durée médiane pd II-3			
86	s_pd II-3	somme des temps pd II-3 périodes			

----- séquentiel -----

87	d>1pd	temps pour 1er pd	de la 1ère sonde dans n'importe quelle sonde idem 94 si 1ère sonde avec pd		Longue 1ère sonde avec beaucoup de pd, indique une valeur élevée
88	d>1pd/1pr	temps jusqu'au 1er pd dans la sonde avec pd	dans la 1ère sonde avec pd diffère de 93 si 1ère sonde sans pd		transmission de virus non/semi-persistants
89	à>1pj/pr	temps moyen jusqu'au 1er pd	dans toutes les sondes		Court, indique une transmission rapide de virus non/semi-persistants
90	m_Pr<1pd	temps médian jusqu'au 1er pd	dans toutes les sondes		- identifiant -
91	mnt_1pd/1pd	min. temps pour 1er pd	dans la 1ère sonde uniquement		- identifiant -
92	n_pj/minC	Non. pd par trajet minute	uniquement pour les sondes avec pd		- identifiant - virus non/semi-persistants
93	n_pd/1Pr	Non. pd dans la 1ère sonde			> haute densité de pd, indique une transmission élevée
94	%_Pr_pd	% sondes avec pd			> inoculation améliorée donnera la probabilité de sondes courtes pour montrer un pd et reflètent les facteurs épidermiques provoquant des pd, ainsi un % élevé signifie un risque élevé d'inoculation par des non-pers. Virus
95	n_Pr<1pd	Non. pr avant le 1er pd			> inoculation retardée
96	s_pdl-3/5pd	somme II-3 en 1er 5 pds	uniquement la sous-phase II-3	autres séparations de sous-phases ne sont pas fiables	sans doute un critère de bonne non-pers- acquisition du virus de la tente

variables de traitement

variables à calculer une fois toutes les répétitions terminées et ajoutées aux totaux de traitement

97	%_E2/Tr	% pucerons avec E2	valeur de traitement	indique une bonne qualité SE/plante
98	%_sE2/Tr	% de pucerons avec sE2	valeur de traitement	indique une bonne qualité SE/plante

Prochaines étapes : Après le calcul des valeurs individuelles, les moyennes ou les médianes par traitement seront calculées. Pour certaines variables avec moy. ou médianes (a_ ou m_) des individus, il peut être préférable de ne pas utiliser avg. ou médianes des individus mais au contraire, de regrouper toutes les données d'un traitement. Des ensembles de données par traitement peuvent être testés. Les statistiques non paramétriques sont recommandées car de nombreuses variables n'ont pas de distribution normale.