

**ETUDE DYNAMIQUE DE L'ATTRACTIVITE DES FEMELLES DELIA  
PLATURA (DIPTERA : ANTHOMYIIDAE) VIS-A-VIS D'UN COUVERT  
VEGETAL EN DECOMPOSITION**

**REKINGER MELANIE**

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

**ANNÉE ACADÉMIQUE 2019-2020**

**PROMOTEUR: PR. FRANÇOIS VERHEGGEN**

©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.

**ETUDE DYNAMIQUE DE L'ATTRACTIVITE DES FEMELLES DELIA  
PLATURA (DIPTERA : ANTHOMYIIDAE) VIS-A-VIS D'UN COUVERT  
VEGETAL EN DECOMPOSITION**

**REKINGER MELANIE**

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

**ANNÉE ACADÉMIQUE 2019-2020**

**PROMOTEUR: PR. FRANÇOIS VERHEGGEN**

## Remerciements

Ce mémoire est l'aboutissement de 6 années d'études pendant lesquels il y a eu des moments de joie mais aussi de doute. Au terme de ce travail, je me dois de remercier les personnes ayant pris part à ce parcours.

Je tiens tout d'abord à remercier mon promoteur, Pr. François Verheggen qui m'a encadrée et conseillée tout au long de ce mémoire. Je vous suis également reconnaissante pour l'intérêt que vous avez éveillé en moi dès vos premiers cours en bachelier. Cela m'a décidée dans le choix de mon orientation définitive.

Mes remerciements s'adressent aussi à Mr. François Fournier du Collège Montmorency au Québec pour son aide précieuse dans la mise en place de mon élevage. Vos connaissances sur la mouche des semis m'ont grandement aidées.

J'aimerais aussi remercier Pr. Yves Brostaux qui, a de nombreuses reprises, m'a aidée avec mes analyses statistiques.

Je ne voudrais surtout pas oublier toute l'équipe de doctorants qui m'a entourée et supportée. Solène Blanchard, Chloé Galland, Diana La Forgia, Nicolas Leroy, Clément Martin merci pour votre aide et votre accueil. Votre bonne humeur était communicative. Sans vous ce mémoire n'aurait pas été pareil.

Merci à Damien Minchilli et Rhoxane Schelkens de m'avoir accompagnée du début à la fin de ce mémoire. Damien ton aide pendant ces longues heures de travail et ta présence à mes côtés m'ont rassurée et permis d'avancer.

Je tiens également à remercier Pr. Yves Beckers, mon responsable de master, qui a su judicieusement me conseiller et m'orienter au fil de mon parcours académique.

Pour finir, il me faut remercier tout particulièrement mes parents. Merci de m'avoir donné l'opportunité de réaliser mes études. Merci pour votre soutien, votre confiance, vos encouragements pendant les moments de doute et vos conseils qui m'ont suivi tout au long de ces années. Grâce à vous je peux enfin dire, j'ai fini !

## Résumé

Le diptère *Delia platura* est un ravageur présent dans de nombreuses cultures. Les femelles pondent préférentiellement dans des sols riches en matière organique. Nous avons donc étudié l'impact de la matière organique en décomposition dans le sol sur le comportement de ponte des femelles. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence que la présence de matière organique en décomposition augmente la ponte. De plus, il semblerait qu'après un certain stade de dégradation, les sols deviennent moins attractifs pour les femelles avec un nombre moins important d'œufs pondus. Ces différences d'oviposition s'expliqueraient par une différence de profil odorant entre le sol contenant de la matière organique en décomposition par opposition à un sol n'en contenant pas. Le diméthyl disulfure (DMDS) était ainsi présent dans le sol attirant les femelles avec décomposition. De plus, la présence de microorganismes inoculés semblent stimuler les femelles. En effet, certains composés organiques volatils provenant de la fermentation microbienne, comme le 1-octen-3-ol et le 3-octanone, ont été détectés. Ces molécules ont d'ores et déjà été identifiées dans la littérature comme modulant le comportement de ponte des femelles gravides *D. platura*.

**Mots clés :** *Delia platura*, matière organique, décomposition, composés organiques volatils, oviposition, DMDS, 1-octen-3-ol et le 3-octanone.

## Abstract

The diptera *Delia platura* is a pest found in many cultures. Females preferentially lay eggs in soils rich in organic matter. We therefore studied the impact of decaying organic matter in the soil on the laying behavior of females. Thus, we were able to demonstrate that the presence of decomposing organic matter increases this behaviour. In addition, it would appear that after a certain stage of degradation, the soils become less attractive to females with a lower number of eggs laid. These differences in oviposition can be explained by a difference in the odor profile between a soil containing decaying organic matter as opposed to a soil free from decomposition. Dimethyl disulfide (DMDS) was thus present in the soil attracting the females with decomposition. In addition, the presence of inoculated microorganisms seems to stimulate the females. Indeed, some volatile organic compounds from microbial fermentation, such as 1-octen-3-ol and 3-octanone, have been detected. These molecules have already been identified in the literature as modulating the oviposition of gravid females *D. platura*.

**Keywords :** *Delia platura*, organic matter, decomposition, volatile organic compounds, oviposition, DMDS, 1-octen-3-ol and 3-octanone.

## Table des matières

Remerciements .....	iv
Résumé .....	v
Abstract .....	v
Figures .....	viii
Abbréviations .....	x
Introduction .....	1
Bibliographie .....	1
La mouche des semis : <i>Delia platura</i> .....	1
Généralités .....	1
Taxonomie .....	3
Cycle de vie .....	4
Dommages et importance économique .....	7
Surveillance et prévisions .....	8
Moyens de lutte .....	8
Décomposition de la matière organique .....	12
Transformation de la matière organique .....	13
Facteurs abiotiques impactant la biotransformation .....	14
Volatilome de la matière végétale en décomposition .....	15
Perception des COVs par <i>Delia platura</i> .....	17
La perception des COVs .....	17
L'attraction des adultes .....	20
Stimuli d'oviposition .....	22
Objectifs .....	24
Matériels et Méthodes .....	25
Elevage de <i>Delia platura</i> .....	25
Mise en place des types de sol .....	26
Couverts végétaux .....	26
Microorganismes et pré-biotiques .....	29
Essais comportementaux .....	29
Mise en place du dispositif expérimental .....	29
Procédure .....	31
Prélèvement des composés organiques volatils .....	32
Analyses minérales .....	35

Carbone organique .....	35
Azote total .....	35
Rapport C/N .....	35
Résultats .....	36
Prélèvement des composés organiques volatils (COVs) pour les différents types de sol .....	36
Evaluation des réponses comportementales .....	44
Analyse du rapport carbone organique sur azote total (C/N) .....	50
Discussion .....	52
Comportement de ponte des femelles gravides <i>D. platura</i> vis-à-vis du type de sol en lien avec les COVs émis .....	53
Rapport C/N en lien avec le comportement de ponte des femelles .....	55
Perspectives et améliorations .....	57
Optimisation du dispositif expérimental .....	57
Perspectives .....	57
Electroantennographie .....	57
Programme de lutte alternative .....	57
Conclusion .....	58
Références bibliographiques .....	59
Annexes .....	67
Annexe 1. Séquence aminée des OBPs identifiés par Ohta et al. en 2015. ....	67
Annexe 2. Diète artificielle utilisée pour l'élevage des larves de <i>Delia platura</i> ( <i>Ishikawa et al. 1983</i> ). ....	68
Annexe 3. Liste des composés organiques volatils émis en semaine 1 de test pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+, exprimés en ng de COVs pour une heure de prélèvement.....	69
Annexe 4. Liste des composés organiques volatils émis en semaine 2 de test pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+, exprimés en ng de COVs pour une heure de prélèvement.....	70
Annexe 5. Liste des composés organiques volatils émis en semaine 3 de test pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+, exprimés en ng de COVs pour une heure de prélèvement.....	71
Annexe 6. Liste des composés organiques volatils émis en semaine 4 de test pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+, exprimés en ng de COVs pour une heure de prélèvement.....	72

## Figures

Figure 1. Distribution mondiale de la mouche des semis, <i>Delia platura</i> ( <i>Delia platura</i> (HYLEPL)[World distribution]] EPPO Global Database, 2002) .....	2
Figure 2. Femelle adulte de la mouche des semis, <i>Delia platura</i> (Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec, 2019). .....	2
Figure 3. Différences morphologiques entre une femelle et un mâle <i>Delia platura</i> (Nunes et al. n.d.). .	3
Figure 4. Micrographie des parties génitales de la femelle <i>Delia platura</i> avec des poils (P) et des microtriches (M) (Wang et al., 2014). .....	3
Figure 5. Arbre phylogénique des espèces <i>Delia</i> (Diptère : Anthomyiidae) d'après des données morphologiques (Gouinguene and Städler, 2005). .....	4
Figure 6. Cycle vital de <i>Delia platura</i> sur une année avec les durées moyennes de chaque stade de développement Boquel et al. 2018; Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec, 2019). .....	5
Figure 7. Photographie d'une larve de <i>Delia platura</i> avec les papilles visibles (ppl) (Savage et al., 2016). .....	6
Figure 8. Photographie des tubercules d'une larve de <i>Delia platura</i> (Savage et al., 2016). .....	6
Figure 9. Photographie des tubercules et papilles d'une puppe de <i>Delia platura</i> (Savage et al., 2016). ..	7
Figure 10. Taux de minéralisation de différentes matières organiques dans le sol (Roger-Estrade 2004). .....	15
Figure 11. Micrographie de la surface dorsale de l'antenne, de la surface ventrale du pédicelle, d'une sensille trichoïde, d'une sensille basiconique de type II, d'une sensille claviforme et d'une sensille cannelée de <i>Delia platura</i> (Ross 1992). .....	18
Figure 12. Structure d'une sensille d'insecte et mécanisme de transport des molécules olfactives (Yamazaki et al., no date). .....	20
Figure 13. Courbes théoriques estimées de l'attractivité des femelles <i>Delia platura</i> vis-à-vis de la matière organique en décomposition au cours du temps. ....	24
Figure 14. Dispositif d'élevage de <i>Delia platura</i> . .....	25
Figure 15. Site de ponte mis en place dans le dispositif d'élevage de <i>Delia platura</i> . .....	26
Figure 16. Dispositif d'élevage des larves <i>Delia platura</i> . .....	26
Figure 17. Liste des modalités soumises aux prélèvements d'odeurs, aux choix des femelles <i>Delia platura</i> et aux analyses C/N. ....	27
Figure 18. Couverts végétaux après six semaines de croissance. ....	28
Figure 19. Dispositif complètement aléatoire des cinq modalités testées vis-à-vis de l'attractivité des femelles <i>Delia platura</i> pour du matériel végétal en décomposition. ....	28
Figure 20. Dispositif expérimental regroupant les cinq modalités disposées de manière complètement aléatoire. ....	29
Figure 21. Femelle gravide <i>Delia platura</i> sélectionnée pour les essais comportementaux. ....	30
Figure 22. Dispositif expérimental relatif aux essais comportementaux des femelles <i>Delia platura</i> avec une source d'eau distillée (E), la modalité testée (M) et le témoin (T). ....	31
Figure 23. Dispositif expérimental des essais comportementaux vis-à-vis de l'attraction des femelles <i>Delia platura</i> pour un sol. ....	32
Figure 24. Sondes et cartouches utilisées pour les prélèvements d'odeurs dans le sol. (A) Sonde assemblée. (B) Cartouche insérée dans la partie supérieure de la sonde avec le sens du flux d'air indiqué (flèche jaune). .....	33
Figure 25. Dispositif de prélèvement des odeurs avec les sondes reliées aux pompes à air créant un flux d'air de 170ml/min. ....	34
Figure 26. Calcul de la teneur en carbone organique et azote organique total (Caria et al. n.d.). .....	35
Figure 27. Nombre de composés organiques volatils émis lors des semaines 1, 2, 3 et 4 de test pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+. ....	36



Figure 28. Somme des COVs émis pour les semaines 1, 2, 3 et 4 pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+ exprimée en ng. ....	37
Figure 29. Liste des indicateurs chimiques en semaine 1 de test entre la modalité témoin et MO (avoine traité + couvert triple traité), exprimée en ng de COVs pour une heure de prélèvement. ....	37
Figure 30. Analyse en Composantes Principales réalisée pour les semaines 1, 2, 3 et 4 pour les modalités témoin (T), couvert triple (traité et non traité), avoine (traité et non traité) et MO (avoine traité et couvert triple traité). ....	38
Figure 31. Analyse en Composantes Principales réalisée pour chaque traitement, avoine non traité (A-), avoine traité (A+), couvert triple non traité (CT-), couvert triple traité (CT+) et témoin (T), selon chaque semaine de tests, exprimée selon les dimension 1 et dimension 2. ....	40
Figure 32. Analyse en Composantes Principales pour les modalités témoin (T), A-, A+, CT- et CT+ réalisée selon les dimensions 1 et 2 pour les semaines 1, 2 et 4, et selon les dimensions 1 et 3 pour la semaine 3. ....	41
Figure 33. Contribution des composés chimiques aux dimensions 1 et 2 pour la semaine 1 de test. ...	42
Figure 34. Liste des indicateurs chimiques en semaine 1 de test entre la modalité témoin et CT+, exprimée en ng de COVs pour une heure de prélèvement. ....	42
Figure 35. Contribution des composés chimiques aux dimensions 1 à 3 pour la semaine 3 de test. ....	43
Figure 36. Liste des indicateurs chimiques en semaine 3 de test entre la modalité témoin et CT+, exprimée en ng de COVs pour une heure de prélèvement. ....	44
Figure 37. Nombre moyen d'œufs pondus au cours des quatre semaines de décomposition des sols pour les modalités témoin (T), avoine non traité (A-), avoine traité (A+), couvert triple non traité (CT-) et couvert triple traité (CT+). ....	45
Figure 38. Ecarts-types des modalités T, A-, A+, CT- et CT+ en lien avec les essais comportementaux illustrés en figure 37. ....	45
Figure 39. Essais comportementaux comparant le nombre moyen d'œufs pondus pour les modalités témoin (T), CT (CT traité + CT non traité), A (A traité + A non traité) et MO (CT traité + A traité). ..	47
Figure 40. Essais comportementaux pour les modalités témoin (T), avoine non traité (A-), avoine traité (A+), couvert triple non traité (CT-) et couvert triple traité (CT+) pour les semaines 1, 2, 3 et 4. ....	49
Figure 41. Composition en carbone organique, azote total et rapport carbone organique sur azote total des couverts végétaux CT (couvert triple) et A (avoine) lors de leur incorporation pour décomposition. ....	50
Figure 42. Moyenne du rapport carbone organique sur azote total pour les modalités avoine non traité (AN), avoine traité (A-), couvert triple non traité (CT-), couvert triple traité (CT+) et témoin (T). ....	50
Figure 43. Moyenne au cours du temps du rapport carbone organique sur azote total pour les modalités avoine non traité (A-), avoine traité (A+), couvert triple non traité (CT-), couvert triple traité (CT+) et témoin (T). ....	51
Figure 44. Comparaison de la dégradation à iso-poids de la modalité CT+ et A+, sans paille incorporée, au 7 octobre et 21 octobre 2019. Le couvert triple CT a subi une dégradation plus rapide que l'avoine (A) où les parties lignocellulosiques sont encore visibles. ....	52

## Abbreviations

ACP = Analyse en composante principale

A- = Modalité avoine non traité (AN)

A+ = Modalité avoine traité (AP)

C/N = Rapport du carbone organique sur l'azote

COVs = Composés organiques volatils

CO<sub>2</sub> = Dioxyde de carbone

CT- = Modalité couvert triple non traité (CTN)

CT+ = Modalité couvert triple traité (CTP)

DMDS = Diméthyl disulfure

D1 à D3 = Dimensions 1 à 3

GC-MS = Gas chromatography - mass spectrometry

GLM = Generalized Linear Model

GLMM = Generalized Linear Mixte Model

K = Conductivité thermique

M1 à M5 = Modalités 1 à 5

MO = Modalités avec microorganismes (avoine traité + couvert triple traité)

Ng = Nanogramme

NPK = Azote – Phosphore - Potassium

NO<sub>x</sub> = Oxyde d'azote

N<sub>2</sub> = Azote moléculaire

OBPs = Odorant-binding proteins

ODEs = Odor degrading enzymes

ORNs = Olfactory receptor neurons

PTFE = Polytétrafluoroéthylène

SNC = Système nerveux central

T = Témoin

2,4-DTBP = 2,4-Di-tert-butylphenol

## Introduction

La mouche des semis (*Delia platura* Meigen) est un insecte de la famille des Anthomyiidae. La larve de ce diptère est phytophage et saprophage : elle se nourrit des graines en germination appartenant à une large diversité de plantes, mais aussi de matière organique en décomposition (Miller and McClanahan 1960).

La recherche d'un site de ponte acceptable est fondamentale pour la survie des larves de par leur mobilité réduite. Les femelles doivent donc sélectionner un site de ponte parmi une multitude de choix au sein de leur environnement. Pour ce faire, deux hypothèses s'affrontent. La première stipule que les insectes seraient capables de reconnaître des composés volatils spécifiques à un site de ponte (Fraenkel 2016). La deuxième hypothèse déclare que les insectes reconnaîtraient des ratios spécifiques de composés omniprésents dans leur environnement (Beyaert et al. 2010; Bruce and Pickett 2011). Les femelles peuvent donc choisir le site de ponte le plus adapté à leur besoin ou le plus abondant dans leur habitat grâce à des composants d'odeurs spécifiques en lien avec ces derniers (Bruce et al. 2005).

Les femelles vont alors utiliser différents stimuli olfactifs et de contact afin de localiser leurs lieux de ponte (Gouinguéné and Städler 2006). Les composés volatils émis par ces derniers sont généralement compris dans un mélange d'odeurs émanant de différentes sources de l'environnement de l'insecte (Bruce et al. 2005). Les femelles gravides doivent donc repérer les composés intéressants pour l'oviposition parmi toutes ces molécules olfactives. Divers appâts naturels et molécules ont d'ores et déjà été référencés comme attirant les femelles et stimulant l'oviposition. D'une part, la pulpe d'oignon fraîche ou en décomposition, la molasse, la levure, le miel, l'hydrolysate de maïs et la nourriture pour poisson attirent les femelles (Ishikawa et al. 1981; McClanahan and Miller 1958; Miller and Haarer 1981; Reid 1940). D'autre part, il semblerait que les femelles soient attirées par les graines en germination et les jeunes plantules émergentes (Weston and Miller 1989). L'hypothèse des bactéries associées aux graines en germination a quant à elle été démontrée en 1975 (Eckenrode et al. 1975).

Il a également été prouvé que les sols humides contenant de la matière organique en décomposition stimulent la ponte (Barlow 1965; Reid 1940). Étant un insecte généraliste, une hypothèse pouvant être faite sur la détection des sites de ponte est que les femelles détecteraient préférentiellement des composés organiques volatils (COVs) émis par la matière organique en décomposition dans le sol plutôt que de détecter la multitude de signaux olfactifs émanant des nombreuses plantes hôtes.

Suite à l'utilisation excessive et à répétition de produits phytosanitaires, les populations des mouches des semis ont, comme bien d'autres familles d'insectes, développé des résistances à ces produits. De plus, un grand nombre de ces molécules se sont vues tour à tour retirées des listes de produits autorisés. L'espèce est devenue difficile à contrôler et le développement de stratégies de lutte alternatives est urgent.

## Bibliographie

### La mouche des semis : *Delia platura*

#### Généralités

La mouche des semis, *Delia platura* Meigen, est un ravageur des grandes cultures originaire d'Europe. Elle a été décrite pour la première fois en Allemagne (Capinera 2001). Dans la littérature entomologique, *Delia platura* est également citée sous différents noms scientifiques parmi lesquels : *Delia cilicrura*, *Delia funesta*, *Hylemya cilicrura*, *Hylemya platura*, *Delia funesta*, ou encore *Phorbia platura*, *Phorbia cilicrura*, *Phorbia funesta*, *Crinura platura*, *Crinura funesta* et *Crinura cilicrura* (*Delia platura* [Overview] | EPPO Global Database, 2002).

La mouche des semis possède une aire de répartition très étendue. En effet, elle a été recensée au niveau de tous les continents (Figure 1). De ce fait, elle a été ajoutée à la liste A1 de l'EPPO en 1990.

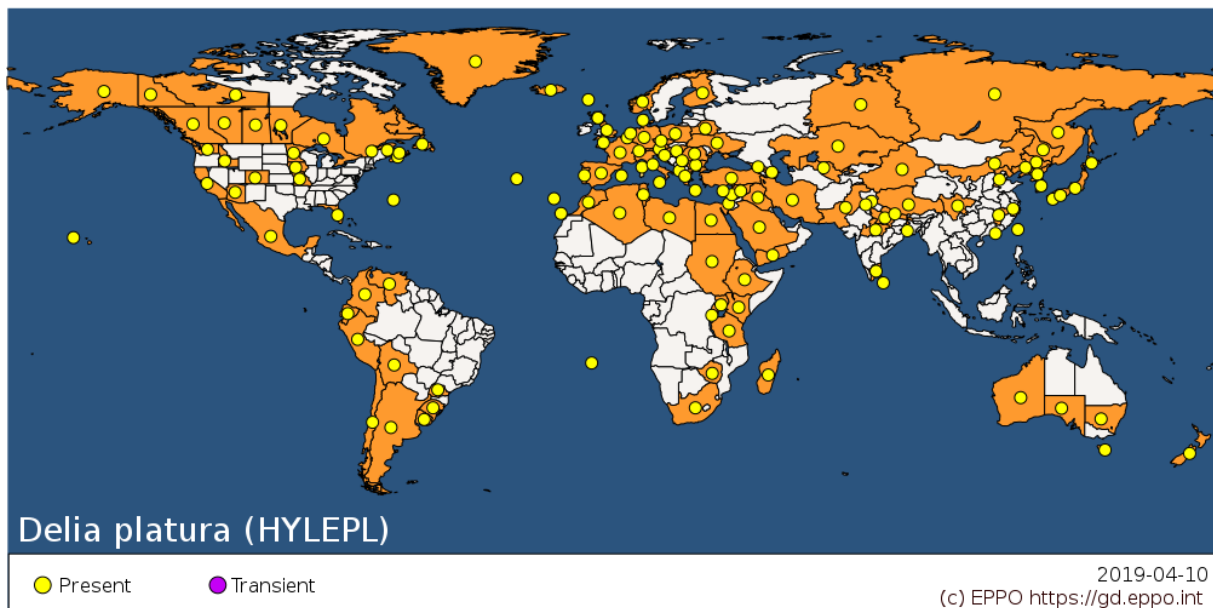


Figure 1. Distribution mondiale de la mouche des semis, *Delia platura* (*Delia platura* [World distribution]) EPPO Global Database, 2002).

Les pièces buccales de *D. platura* sont composées d'un organe suceur tubulaire appelé le proboscis se terminant en une structure spongieuse connue sous le nom de labium. De plus, la tête est décorée d'écailles concaves possédant une extrémité effilée (Wang et al. 2014).



Figure 2. Femelle adulte de la mouche des semis, *Delia platura* (Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec, 2019).

La mouche des semis atteint une taille moyenne de 4 à 7mm et possède des yeux rouges avec un corps gris. Au niveau du thorax et des pattes, elle possède de longues soies noires (Figure 2) (Boquel et al. 2018).

La différenciation mâle-femelle peut s'effectuer au regard de l'abdomen des individus et de leurs pattes. Ainsi, les femelles possèdent un abdomen de forme conique avec une fente terminale où se trouve l'ovipositeur. Les mâles ont un abdomen plus épais avec le ptérygopode (organe copulateur) plié vers l'arrière. De plus, les femelles possèdent cinq ou plusieurs poils au niveau du tibia de leur deuxième paire de pattes alors que les mâles possèdent de petits poils courts au niveau de leur premier tarse (Figure 3) (Nunes et al. n.d.).

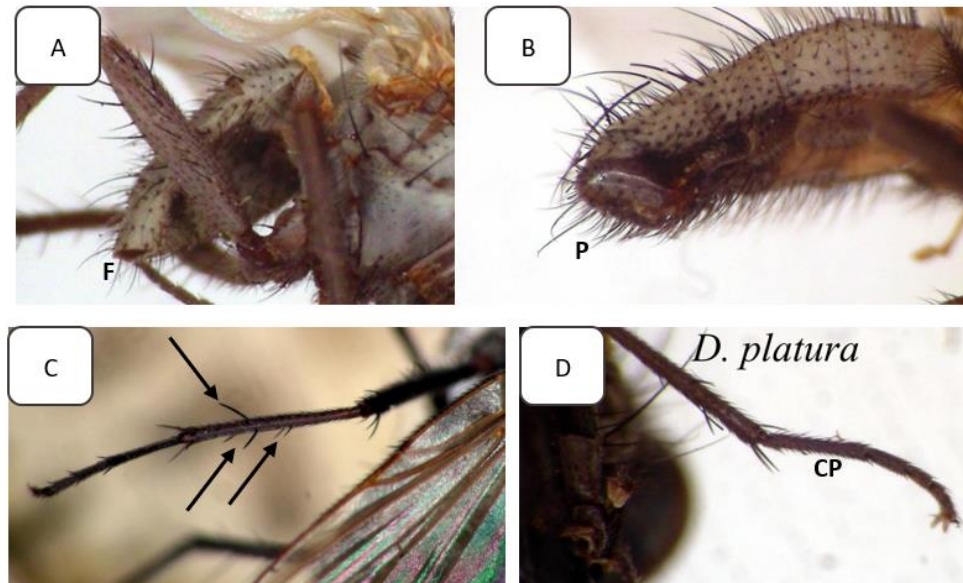


Figure 3. Différences morphologiques entre une femelle et un mâle *Delia platura*. (A) Photographie de l'abdomen d'une femelle *Delia platura*. F = fente terminale de l'abdomen conique. (B) Photographie de l'abdomen d'un mâle *Delia platura*. P = ptérygopode tourné vers l'arrière. (C) Photographie du tibia de la deuxième paire de pattes d'une femelle *Delia platura* avec cinq poils visibles (flèches). (D) Photographie de la deuxième paire de pattes d'un mâle *Delia platura* avec les courts poils (CP) visibles au niveau du premier tarse (Nunes et al. n.d.).

Les femelles possèdent un ovipositeur au niveau de la face ventrale de leurs organes génitaux. De nombreux poils et microtriches sont observables sur ce dernier (Wang et al. 2014).

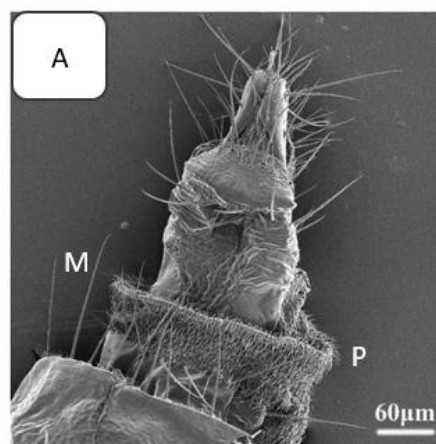


Figure 4. Micrographie des parties génitales de la femelle *Delia platura* avec des poils (P) et des microtriches (M) (Wang et al., 2014).

### Taxonomie

La famille des Anthomyiidae regroupe une diversité de diptères ravageurs des cultures, appartenant notamment au genre *Delia* comme la mouche grise des céréales (*D. coarctata*), la mouche de l'oignon (*D. antiqua*), la mouche du chou (*D. radicum*), la mouche du navet (*D. floralis*) et la mouche des semis (*D. platura*) (Hypp: encyclopédie en protection des plantes - Anthomyiidae, 2018). Le mot Anthomyiidae vient du grec « anthos » signifiant fleur et de « myia » pour la mouche. Les diptères appartenant à cette famille ressemblent fortement aux mouches domestiques très largement rencontrées dans nos foyers (NBN Atlas 2017).

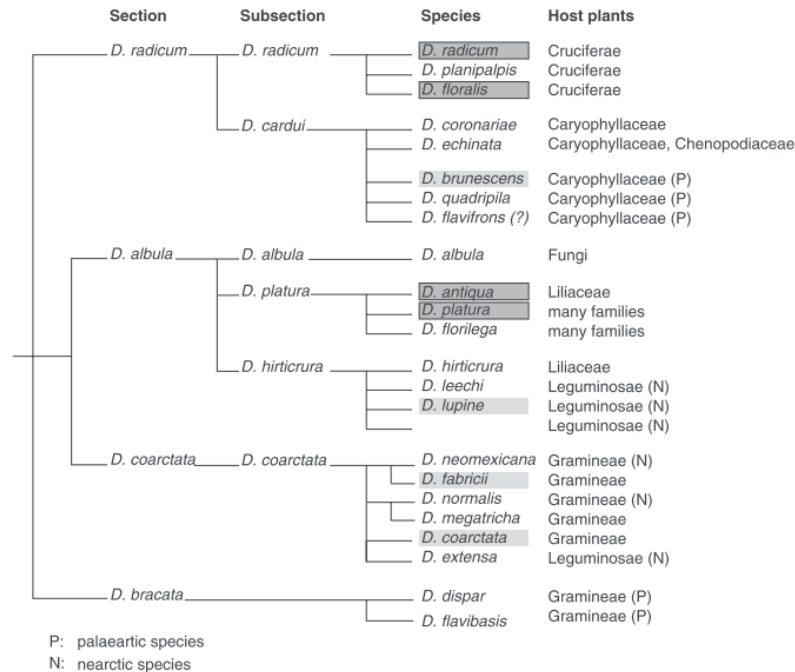


Figure 5. Arbre phylogénique des espèces *Delia* (Diptère : Anthomyiidae) d'après des données morphologiques (Gouinguene and Städler, 2005).

La plupart de ces mouches constituent une menace pour les cultures où elles s'installent. En effet, les larves se nourrissent de matière organique végétale ou animale en décomposition, mais aussi du système racinaire, des cotylédons ou encore des graines en germination des plantes hôtes.

Comme leurs noms le mentionnent, les mouches appartenant à cette famille possèdent une large gamme de plantes hôtes. Ces dernières varient en termes de phénologie (Gouinguene and Städler 2005). Certaines espèces se spécialisent comme la mouche du chou ou la mouche de l'oignon par exemple. À l'inverse, le genre *Delia* possède également des mouches généralistes comme la mouche des semis, *D. platura*.

La mouche de l'oignon, *Delia antiqua*, est un des ravageurs principaux les plus répandus des *Allium* spp. dans les régions tempérées de l'hémisphère nord (Savage et al. 2016). Cette espèce peut provoquer des pertes de rendement de 20 à 100% dans les sols riches en matière organique si aucune mesure de contrôle n'est appliquée (Poprawski et al. 1985). Cette dernière était généralement basée sur l'utilisation d'insecticides organochlorés. Cependant, une étude a démontré que les mouches de *D. antiqua* avaient développé une résistance (Harris 1977). D'autres pistes de contrôle sont envisagées comme l'utilisation de la mycotoxine destruxine E (Poprawski et al. 1985).

De même, la mouche de l'oignon (*Delia radicum*) est un ravageur important des cultures de crucifères (Savage et al. 2016). En Belgique, cette espèce était auparavant contrôlée par des méthodes de lutte chimiques. En effet, les produits à base de la matière active chlorpyrifos étaient appliqués au champ. Cependant, étant donné l'impact néfaste de ces molécules sur l'environnement, des méthodes alternatives sont étudiées. L'utilisation de nématodes du genre *Steinernema* et *Heterorhabditis* a été testée avec succès (Chen et al. 2003).

### Cycle de vie

Le cycle biologique de *Delia platura* s'organise en 4 stades qui se succèdent avec 2 à 4 générations par année (Figure 6). Le nombre de générations dépend fortement des conditions météorologiques. De plus, il est difficile de se prononcer sur un nombre exact de générations par an de par les émergences asynchrones. En effet, les émergences n'ont pas toutes lieu en même temps, il est donc possible

d'observer différents stades de développement de manière simultanée sur une culture (Légaré and Serres 2015).

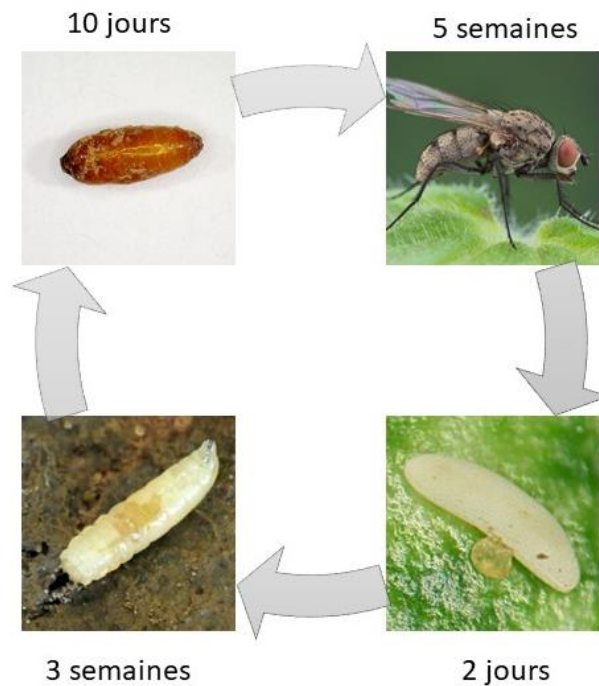


Figure 6. Cycle vital de *Delia platura* sur une année avec les durées moyennes de chaque stade de développement Boquel et al. 2018; Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec, 2019).

## Imago

Les premiers adultes (les mâles avant les femelles) émergent des pupes dès le mois d'avril avant de se mettre à la recherche de nourriture. Ces derniers se nourrissent principalement du pollen des fleurs qu'ils trouvent aux alentours des champs. Peu de temps après l'émergence, les accouplements ont lieu et les femelles vont alors pondre dans les sols riches en matière organique, à raison d'une centaine d'œufs au cours d'une période d'oviposition de 5 à 6 semaines. Les œufs sont pondus en masse ou de manière isolée (Soroka et Dossall 2011). Ces derniers sont de couleur blanche avec un aspect fusiforme pour une taille de 1mm de long sur 0.3mm de large (Boquel et al. 2018).

## Stades larvaires

Les premières éclosions d'œufs s'observent durant les mois de mai et juin. Elles arrivent 2 jours après la ponte sous des conditions de 20 à 25°C (Boquel et al. 2018). Une fois les premières larves émergées, elles se mettent en quête de graines en germination ou du système racinaire des diverses plantes hôtes, voire aussi de matière organique en décomposition. En effet, la larve de *D. platura* est considérée comme saprophage (Capinera 2001).

Le développement larvaire s'étale sur une période de 3 semaines en moyenne pendant laquelle la larve va passer par 3 stades de développement avant d'arriver à maturité (Boquel et al. 2018). Les larves, de couleur blanche, passent d'une taille de 0.7mm lors de l'éclosion, à 7mm une fois la maturité atteinte. Elles possèdent des pièces buccales noires au niveau de leur extrémité élançée à l'avant de leur corps. Au niveau du spiracle antérieur, les larves de *D. platura* possèdent également 6 à 8 papilles (Savage et al. 2016).



Figure 7. Photographie d'une larve de *Delia platura* avec les papilles visibles (ppl) (Savage et al., 2016).

De plus, au niveau de l'extrémité de l'abdomen tronqué, il est possible d'observer un tubercule X et un tubercule A simple apical correspondant aux mouches du genre *Delia* ayant des hôtes variables, par opposition aux mouches crucifères comme *Delia radicum* (Figure 8) (Savage et al. 2016).

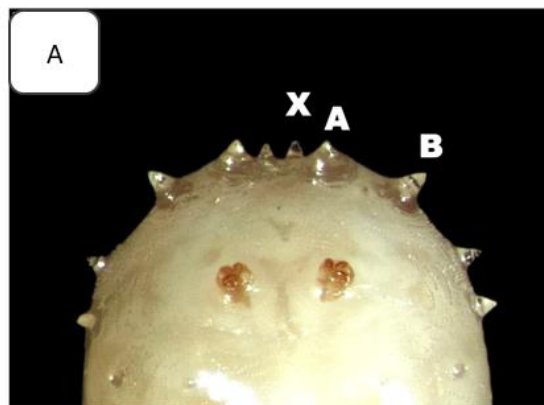


Figure 8. Photographie des tubercules d'une larve de *Delia platura* (Savage et al., 2016).

Cette dernière doit parcourir la distance entre le lieu d'éclosion et sa source de nourriture. Pour ce faire, une étude portant sur une espèce proche de *D. platura* a démontré que les larves nouvellement écloses s'orientent dans le sol au moyen de divers composés organiques volatils (Košťál 1992). Elles se servent des stimuli olfactifs émis par les plantes afin de trouver un hôte pour se nourrir. En effet, la larve de la mouche du chou (*Delia radicum*) semble être attirée par des alcools et aldéhydes saturés et non saturés possédant une chaîne à 6 carbones (hexanol, hexanal et cis/trans-3-hexen-1-ol). De plus, elles sont sensibles à des gradients de concentration de diverses molécules. Ainsi, l'allyl et l'éthyle isothiocyanate provoquaient une réponse positive à faible concentration, mais devenaient répulsifs à de plus hautes concentrations (Košťál 1992). De même, les larves du premier et troisième stade larvaire de *D. antiqua* sont attirées par diverses molécules parmi lesquelles 5 alcools (du propanol à l'heptanol), 3 aldéhydes (du pentanal à l'heptanal), certains acides gras et esters (Mochizuki et al. 1988). Il est probable que les larves de *D. platura* possèdent les mêmes capacités pour s'orienter dans le sol afin de localiser des graines en germination. Effectivement, une étude portant sur la description de l'ultrastructure des organes sensoriels céphaliques larvaires de *D. antiqua* et *D. platura* n'a révélé pratiquement aucune différence structurale au niveau des organes sensoriels des larves de ces 2 espèces (Honda and Ishikawa 1987). Il semblerait donc logique de supposer que les larves de ces dernières s'orientent de la même manière dans le sol vis-à-vis des stimuli olfactifs perçus.

Une fois la maturité de la larve atteinte, celle-ci s'enfonce dans le sol à une profondeur de 7 à 13cm afin d'entamer une transformation en puppe (Boquel et al. 2018).

### **Pupaison et diapause hivernale**



Les pupes de *D. platura* sont ovales avec une dimension de 4 à 5 mm de long sur 1,5 mm de large. Ces dernières passent d'une couleur brun-rougeâtre à une couleur plus foncée avant l'émergence (Boquel et al. 2018). Il est possible d'observer les tubercules X et A ainsi que les papilles de la larve lorsque ces dernières se transforment en puce.

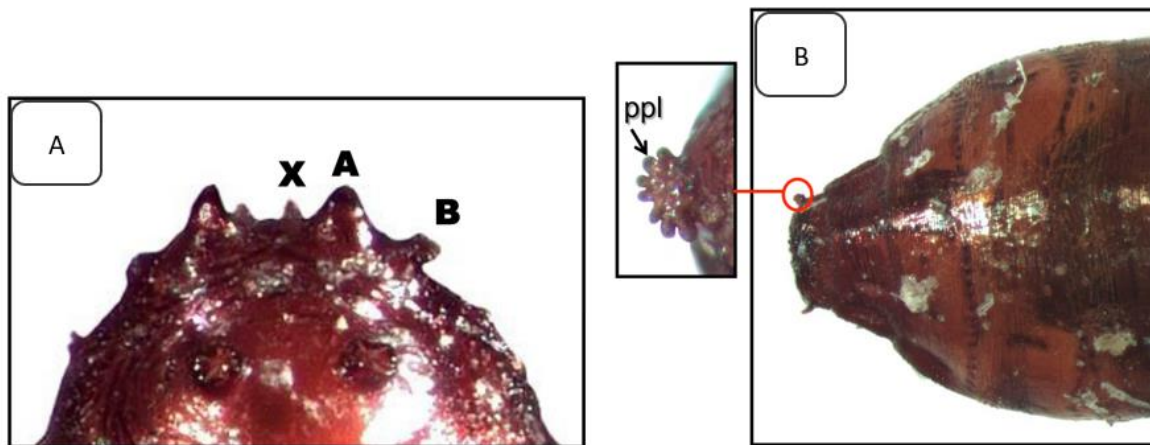


Figure 9. Photographie des tubercules et papilles d'une puce de *Delia platura*. (A) Photographie des tubercules (X et A) d'une puce de *Delia platura*. (B) Photographie des papilles (ppl) d'une puce de *Delia platura* (Savage et al., 2016).

Suite à cette transformation, une nouvelle génération d'adultes apparaît au champ après une période d'une à deux semaines. Ainsi, *D. platura* peut effectuer son cycle complet de développement en 16 à 77 jours en fonction de la température (Légaré and Serres 2015). En effet, la température semble être un facteur limitant. Une température minimale de 3,9°C serait nécessaire à son développement. De même, une température supérieure à 33°C nuirait à l'émergence des adultes (Boquel et al. 2018).

Ce stade peut être interrompu par une diapause hivernale qui permet à la mouche des semis de passer la saison défavorable à leur développement sous cette forme afin d'entamer un nouveau cycle l'année suivante (Boquel et al. 2018).

#### Domages et importance économique

Cette espèce est présente dans une multitude de cultures parmi les cultures maraîchères, fruitières, légumineuses ou encore les céréales (Boquel et al. 2018). Les dommages causés par la mouche des semis surviennent lors du stade larvaire, car la larve de *D. platura* est très polyphage. Lorsque ces dernières se nourrissent de graines en germination, des jeunes plantules ou encore des systèmes racinaires, cela peut causer une perte de levée significative (Perspectives Agricoles 2012). En effet, il est possible d'observer des galeries au niveau des graines, mais aussi des tiges et racines des jeunes plantules causées par les larves qui se nourrissent des tissus à l'intérieur de ces organes. Le manque de levée survient lorsque les graines attaquées finissent par pourrir suite aux blessures infligées qui constituent une porte d'entrée pour les micro-organismes pathogènes. Les graines sont fortement à risque lorsqu'un temps froid et humide survient après le semis (Boquel et al. 2018).

Suite à une attaque de mouche des semis, les symptômes qu'il est possible d'observer dans les champs sont des plants moins vigoureux, un jaunissement des feuilles ou encore un flétrissement des jeunes plants (Perspectives Agricoles 2012). En plus des dégâts directs qui nuisent au développement de la culture, les larves créent également des ouvertures pour une multitude d'organismes pathogènes via les lésions infligées au niveau des tissus de la plante hôte. Une étude menée en 1940 par J.G. Leach et citée par Benjamin H. a déterminé que les larves de *D. platura* pouvaient être des vecteurs de transmission de pathogènes comme la bactérie *Erwinia carotovora*, responsable de la maladie de la jambe noire sur pomme-de-terre. La bactérie serait capable de survivre dans la mouche pendant sa métamorphose et se transmettrait aux stades suivants par contamination des œufs lors de l'oviposition (Benjamin 1954).

Ces dommages, à l'origine du dépérissement des parties aériennes des plantes, entraînent d'importantes pertes de rendement. Des baisses de 10 à 30%, et pouvant exceptionnellement atteindre jusque 75%, ont été rapportées (Gouinguéné and Städler 2006). Les dommages économiques attribués à la mouche grise des semis sont cependant à prendre au conditionnel étant donné la grande difficulté à dissocier les adultes de *Delia floralis* de ceux de *Delia platura* (Capinera 2001). Une observation précise des larves récoltées dans les parcelles infestées permettrait de les différencier : les larves de *D. platura* se distinguent de celles de *D. floralis* par leur plus petite taille (5.9 à 6.8mm << 7.7 à 12mm), mais aussi par le nombre de papilles présentes au niveau du spiracle antérieur (6-8 << 9-16) (Savage et al. 2016).

### Surveillance et prévisions

Il est possible de moduler la date de semis en fonction des degrés jours de l'insecte. Ces derniers mesurent l'accumulation d'unités thermiques nécessaires au développement des insectes. Étant donné que la mouche des semis passe l'hiver sous forme de pupes dans le sol, son développement ne reprend qu'une fois que la température de l'air atteint et dépasse sa température minimale de développement, à savoir 3.9°C (Sanborn et al. 1982). Une fois cette température de base atteinte, les unités thermiques vont s'additionner chaque jour afin que *D. platura* achève chaque étape de son cycle. Les degrés jour ne sont accumulés que si la moyenne des températures de la journée excède la température minimale de développement de l'insecte. Dans le cas contraire, aucun degré jour n'est additionné (Holm and Cullen 2012).

Ainsi, Sanborn et al. (1982) ont démontré dans des conditions contrôlées que respectivement 30, 204 et 142 unités thermiques cumulées étaient nécessaires pour le développement complet de l'œuf, de la larve et de la pupes. Une accumulation de 376 unités thermiques est donc nécessaire entre l'œuf et l'adulte. Il est ainsi possible de prévoir quand les émergences ont lieu sur les champs de même que le jour où l'insecte se transforme en pupes à l'aide des données météorologiques locales.

### Moyens de lutte

#### Lutte chimique

La lutte chimique contre *Delia platura* était généralement basée sur l'application de composés chlorés sur le sol ou en enrobage de semences (Montecinos et al. 1986). Étant donné que ce ravageur cible les graines en germination, ces dernières peuvent effectivement être traitées de manière préventive avec des molécules chimiques. Diverses matières actives aux propriétés insecticides pouvaient donc être efficaces comme le lindane, le carbofuran, le diazinon, l'aldrine ou le chlorpyrifos (Montecinos et al. 1986; Valenciano et al. 2004). Cependant, à l'exception du chlorpyrifos, ces substances actives ne sont plus autorisées au sein de l'Union Européenne (EU Pesticides database 2016).

De plus, comme mentionné ci-dessus, ces traitements n'ont pas d'action curative, mais préventive. Une fois que les dommages sont constatés, il est généralement trop tard pour effectuer un contrôle actif (Valenciano et al. 2004). De plus, même si les dommages infligés aux plantules sont nettement réduits, certains de ces composés de synthèse peuvent induire des problèmes de germination si appliqués en enrobage de semences. Ils peuvent par exemple provoquer un durcissement du tégument, enveloppe protectrice de la graine, entraînant une difficulté à germer (Valenciano et al. 2004).

Une autre problématique liée à l'utilisation des insecticides de synthèse concerne leur perte d'efficacité dans le temps. À long terme, les populations de *Delia* soumises à ces produits développent des résistances contre leurs matières actives. Ces résistances apparaissent dans des régions où les insecticides de synthèse sont appliqués pendant plusieurs années consécutives (Harris et al. 1962).

À l'inverse d'autres mouches du genre *Delia*, il n'existe pas encore de seuil d'alerte agronomique au-delà duquel un traitement chimique est recommandé. De fait, la mouche *Delia radicum* possède un seuil agronomique de 7 œufs/ piège/ semaine, car il existe des pesticides de synthèse actifs contre la mouche du chou sur les cultures de Brassicacées (Lamy 2016). Certains produits à base de cyantranilprole ont

d'ailleurs été temporairement autorisés contre la mouche du chou (*D. radicum*) et la mouche de l'oignon (*D. antiqua*) sur différentes cultures en Belgique de mai 2019 à septembre 2019 afin de faire face à leur présence (Phytoweb 2019).

Au Canada, il n'existe aucun produit homologué spécifiquement pour lutter contre la mouche des semis. Le contrôle chimique s'effectue donc via une application de chlorpyrifos granulaire lors du semis (Bosquain and Fortier 2016a). En Belgique, le chlorpyrifos est autorisé dans certains produits commerciaux à des doses de 480g/L ou 5% sur une multitude de cultures à risque. On retrouve par exemple les cultures de différents choux (-rave, frisé, de Bruxelles, -fleur, brocolis ...), oignons, radis et autres cultures fortement susceptibles d'être attaquées par *Delia platura*. Comme au Canada, aucun produit n'a été développé ou commercialisé en Belgique pour lutter contre *D. platura* mais les produits à base de cette substance active pourraient néanmoins être utilisés afin de limiter au préalable les dommages (Phytoweb 2015).

### **Lutte agronomique**

Comme mentionné précédemment, il n'existe pas de traitements curatifs pouvant être appliqués une fois une parcelle infestée par la mouche des semis. À partir du moment où le nourrissage des larves a commencé dans le sol, aucune technique ne permet d'éviter les dommages futurs (Valenciano and Reinoso 2005). De ce fait, il est nécessaire de mettre en place des méthodes préventives afin de limiter l'impact de ce ravageur.

Certaines conditions favorisant la mouche des semis peuvent ainsi être évitées avec de bonnes pratiques agricoles. Les femelles étant attirées par des sols riches en matière organique pour pondre, l'apport d'amendements organiques ou les résidus de cultures fraîchement enfouis sont donc à éviter trop près du semis. Hammond et Cooper (1993) ont établi qu'un délai de 2.5 à 3 semaines entre l'incorporation de matière organique végétale vivante au printemps et la date du semis permettait de réduire les dommages causés à la culture sur base d'une accumulation de 250 unités thermiques (base de 3.9°C). En effet, l'accumulation de ces dernières indiquait que l'oviposition survenait au moment du labour et que la majorité des insectes entraient ou étaient dans la phase pupale au moment du semis 3 semaines plus tard, résultant en une baisse des dommages (Hammond and Cooper 1993).

De plus, des conditions froides et humides ralentissent la croissance des cultures. De ce fait, il est essentiel de réaliser le semis dans des conditions favorables. Ainsi, un semis dans un sol réchauffé permet de favoriser la germination et accélère la levée des jeunes plantules (Boquel et al. 2018). Nous pouvons supposer que les plantules peuvent atteindre des stades plus avancés de développement avant l'arrivée des premières larves. Les graines en germination peuvent également installer leur système racinaire de manière plus rapide. Ceci leur permet de prélever leurs besoins en eau et en éléments nutritifs dans le sol même si leur albumen, tissus de réserves nutritives, est attaqué par les larves.

De même, un semis peu profond entraîne une levée plus rapide de par la plus faible distance entre la surface et le lit de semence. Ce dernier doit aussi être réfléchi de manière à uniformiser la levée. Effectivement, un lit de semence bien préparé permet de semer les graines à une même profondeur, limitant ainsi les risques de retard d'émergence et donc d'attaque des larves (Boquel et al. 2018).

Une autre technique agricole consiste à augmenter la densité de semis. Cela permet de compenser les pertes de levée causées par les larves. Par ailleurs, si les dommages infligés à la culture sont trop importants, il est parfois nécessaire de ressemer l'entièreté de la parcelle (Valenciano et al. 2004). Une augmentation initiale du semis permet donc d'anticiper d'éventuelles pertes trop importantes.

Il est également nécessaire de moduler les dates de semis. Premièrement, une réflexion peut être réalisée en fonction des conditions météorologiques. Un semis tardif lors de printemps frais et pluvieux est préférable afin de limiter les possibilités d'attaques de la mouche des semis (Boquel et al. 2018). De plus, une méthode culturale clé consiste à semer la culture à risque pendant la « fly-free period » dans

les régions où l'on assiste à plusieurs générations par an (Holm and Cullen 2012). Cette dernière correspond à la période pendant laquelle il n'y a plus de vols de mouches, c'est-à-dire entre le moment où la génération précédente entre dans sa phase pupale et celui où la génération suivante émerge. Pour ce faire, il est nécessaire de calculer les degrés jours de l'insecte comme expliqué précédemment.

Un autre point d'attention concerne la question du labour. Un travail intensif du sol avant le semis permettrait de diminuer les populations de mouche des semis d'une part en exposant les pupes à la surface et d'autre part en les détruisant de manière mécanique (Boquel et al. 2018). Cependant, des études ont montré que *D. platura* était présente en plus grand nombre dans les parcelles conduites avec un labour conventionnel par opposition à du non-labour (House and Alzugaray 1989; Hammond 1997; Hammond and Stinner 1987). Les observations réalisées sur le terrain dans le cadre d'un projet de lutte mené par la société Medinbio convergent vers la première hypothèse. En effet, un plus grand nombre de larves semblent être recensées dans les parcelles conduites selon du non-labour avec les dégâts qui s'en suivent.

Pour finir, une autre méthode de lutte agronomique s'orienterait vers la réflexion du couvert végétal d'interculture. Comme mentionné précédemment, les femelles de la mouche des semis sont attirées par des sols riches en matière organique. De ce fait, la mise en place d'un couvert végétal possédant un faible rapport C/N, signe d'une faible teneur en lignine notamment, permettrait d'accélérer la décomposition de ce dernier par les microorganismes du sol. De même, l'incorporation du couvert végétal doit être réalisée aussi longtemps que possible avant le semis de la culture à risque. Le semis coïncidera ainsi avec une plus faible teneur en matière organique en décomposition.

### **Lutte biologique**

Il est ainsi possible de contrôler plusieurs stades de développement du ravageur via différents ennemis naturels.

L'utilisation de nématodes entomopathogènes suscite l'intérêt depuis de nombreuses années. En effet, les nématodes de la famille des *Heterorhabditidae* et des *Steinernematidae* sont largement utilisés dans la lutte biologique contre une multitude de ravageurs des cultures (Li et al. 2007). Ainsi, le juvénile infectieux de *Steinernema feltiae* parasite ses hôtes par les orifices naturels. Suite à ce parasitisme, une bactérie symbiotique, *Xenorhabdus bovienii*, présente dans son appareil digestif est libérée. Cette dernière s'attaque aux tissus de l'hôte les transformant en produits assimilables par le nématode (Ephytia 2013). Les bactéries libérées dans l'hémocoel des larves des ravageurs tuent ses dernières dans un délai de 24-48h (Li et al. 2007).

Diverses souches de nématodes ont ainsi été récemment testées sur *D. platura* en laboratoire lors d'une étude en 2013. Cette étude a révélé que la souche JCL027 de *Steinernema sp.* était particulièrement efficace avec une mortalité de  $\pm 80\%$  aux plus hautes doses (Jaramillo et al. 2013). Des études précédentes ont démontré la relation positive entre la dose de juvéniles infectieux appliquée et la mortalité élevée des larves des espèces de *Delia* (Willmott et al. 2002).

De manière générale, une différence de virulences entre les espèces de nématodes entomopathogènes est observée et peut s'expliquer par leur pathogénicité respective et leur capacité à contourner ou supprimer le système immunitaire de l'hôte infecté (Li et al. 2007). En effet, il existe un laps de temps entre le parasitisme par le nématode et la libération des bactéries symbiotiques. *Heterorhabditis bacteriophora* libère *Photorhabdus luminescens* 30 min après pénétration dans l'hôte et *Steinernema glaseri* libère *Xenorhabdus poinarii* 4 à 6 h après son entrée (Wang et al. 1995). Pendant cet intervalle, le système immunitaire de l'insecte est capable de réagir face à cette intrusion avec une réaction cellulaire ou humorale. Ces dernières entraînent respectivement une phagocytose et une encapsulation, ou une production de peptides antimicrobiens, des lysozymes ou autres molécules de défense (Li et al. 2007). Des essais supplémentaires sur le terrain sont cependant nécessaires afin de déterminer si l'emploi de nématodes entomopathogènes peut s'intégrer dans des méthodes de lutte à grande échelle

contre *Delia platura*. En effet, les essais actuels menés sur le terrain pour contrôler des mouches du genre *Delia* ont souvent échoué. D'une part, la dose nécessaire pour atteindre un degré de contrôle économiquement intéressant est très élevée (Simser 1992). D'autre part, les conditions environnementales, en particulier les températures froides du sol, limitent l'activité des nématodes et leur pénétration dans l'hôte (Fallis 2013).

Depuis 2011, la piste de l'acarien prédateur *Macrocheles robustulus* est également étudiée, au Canada, dans diverses études pour lutter contre les mouches du genre *Delia* suite au retrait de molécules de synthèse actives (Hulas and Lascaux 2011; Lascaux et al. 2015). Ce dernier consomme les œufs et les jeunes stades larvaires des mouches *Delia*. La partie de l'essai mené sous abris a conclu à une diminution de 50% des dégâts, mais la partie sur champs n'a pas engendré de résultats significatifs. En effet, une forte mobilité des acariens a été observée sur site traduisant la difficulté de contrôle lors de l'utilisation d'ennemis naturels (Lascaux et al. 2015).

Une autre piste intéressante au niveau des ennemis naturels concerne le staphylin *Aleochara bilineata*. Ce dernier est connu comme étant à la fois un prédateur des mouches du genre *Delia* (Andreassen et al. 2007; Langer 1996). En effet, les adultes consomment les œufs et les jeunes larves alors que les larves de *A. bilineata* sont prédatrices des pupes de ces mouches (Soroka and Dossall 2011). Une étude de 1962 fait état de 1210 œufs et 128 larves de mouches du chou consommés en moyenne sur une vie par un couple de *A. bilineata*. De plus, une femelle staphylin pourrait produire assez de larves pour parasiter en moyenne 230 pupes hôtes (Read 1962). Quand le cycle de vie du staphylin est synchronisé avec celui du ravageur, des taux de parasitisme de près de 95% peuvent être atteints sur site (Soroka and Dossall 2011). Cet ennemi naturel ne peut cependant pas être considéré pour le moment comme un agent de contrôle biologique efficace, car son cycle de vie ne coïncide pas toujours avec celui des mouches *Delia* selon les cultures. Les larves du ravageur sont généralement abondantes lorsque *A. bilineata* apparaît. Le prédateur se nourrit donc des larves matures plus facilement détectables dans les plantes hôtes ou le sol par opposition aux œufs. Les larves consommées ont de ce fait déjà causé des dommages économiques importants (Read 1962).

Pareillement, divers champignons entomopathogènes ont été étudiés comme *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* et *Entomophthora muscae* (Bosquain and Fortier 2016b; Soroka and Dossall 2011). Dans une étude menée sur 2 ans, les parcelles traitées avec le produit commercial Bio-Cérès contenant  $10^{10}$  conidies de *Beauveria bassiana*/g de produit ont vu leurs dommages diminués par 4 par rapport au témoin non traité, lorsqu'appliqué dans le sillon au semis (Bosquain and Fortier 2016b).

Pour finir, l'efficacité du Spinosad a été démontrée dans diverses études (Nault et al. 2006; Wilson et al. 2015). Il s'agit d'un biopesticide constitué d'un mélange de spinosynes A et B, deux métabolites actives produites par l'actinomycète du sol *Saccharopolyspora spinosa*. Le Spinosad est un neurotoxique qui agit par contact ou ingestion (Agri Réseau 2007). Suite aux différents essais, l'enrobage des semences semble être l'alternative la plus efficace aux produits de synthèse. Effectivement, les parcelles traitées en enrobage de semence avec du Spinosad ont vu leur population de plants d'oignons multipliée par plus de 200% et 800% par opposition aux parcelles témoins non traitées, respectivement pour les années 2011 et 2013. Par contre, l'application de Spinosad dans le sillon de semis a engendré des populations semblables dans les parcelles traitées et non traitées (Wilson et al. 2015). Le traitement en enrobage de semences possède l'avantage d'appliquer de plus faibles doses de produit par hectare tout en étant compatible avec la majorité des méthodes de semis (Bosquain and Fortier 2016b).

### **Méthodes de lutte intégrées**

Des études récentes ont mis en avant l'utilité de méthodes de lutte intégrées dans la gestion de divers ravageurs. La Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) définit la lutte intégrée comme étant la « prise en compte de toutes les techniques de lutte disponibles et l'intégration des

mesures appropriées qui découragent le développement des populations de ravageurs et maintiennent les pesticides et autres interventions à des niveaux économiquement justifiés et réduisent ou limitent au minimum les risques pour la santé humaine et l'environnement » (FAO 2005).

Une méthode de lutte intégrée concerne l'utilisation de certains composés organiques volatils pour modifier le comportement d'un ravageur ou de son ennemi naturel afin de protéger les cultures. Plusieurs études consécutives ont de ce fait testé un mélange attractif pour les individus des espèces *Delia platura* et *Delia antiqua*, deux mouches physiologiquement très proches (Ishikawa et al. 1982, 1984b, 1984a). Ce mélange composé de 2-phényléthanol et d'acide valérique a été obtenu à partir de pulpe d'oignons, hôte unique de *Delia antiqua*. Une synergie importante a lieu lorsque l'acide valérique est additionné au 2-phényléthanol avec une attractivité 2.3 à 4.3 fois plus importante. Cette efficacité est obtenue lorsque les 2 molécules sont combinées à des concentrations de 0.2% et 0.05% respectivement pour le 2-phényléthanol et l'acide valérique, quand dilués dans de l'eau au préalable. L'attractivité de ces composés chimiques peut grandement varier lorsque différentes molécules sont combinées de par la synergie qu'il peut exister entre elles (Ishikawa et al. 1984b). Il n'existe à l'heure actuelle aucune méthode de lutte intégrée utilisant des composés chimiques issus d'appâts naturels pour protéger les cultures contre la mouche des semis. Divers appâts naturels sont cependant connus : la pulpe d'oignon (fraîche ou en décomposition), la molasse, la levure, le miel, l'hydrolysate de maïs et la nourriture pour poisson (Ishikawa et al. 1981; McClanahan and Miller 1958; Miller and Haarer 1981; Reid, W. J. 1940). Des études sont également en cours sur une autre mouche du genre *Delia*, la mouche du chou (*Delia radicum*) afin de modifier le comportement de ses ennemis naturels (Ferry 2007; Kergunteuil and Erb 2014; Lamy 2016). Des études ultérieures seraient nécessaires afin de développer une méthode de lutte similaire contre *Delia platura*.

### **Piégeages et dépistages**

À l'arrivée du printemps, un dépistage sur les parcelles à risque est conseillé afin de détecter la présence de la mouche des semis. Pour ce faire, un prélèvement de plantules est réalisé de manière aléatoire ou dans les zones où le pourcentage d'émergence semble faible. Il est ainsi possible de recenser les larves au niveau des racines, des graines ou dans les tiges des plantules infestées. De même, des galeries dans les organes souterrains sont un indicateur de la présence de larves (Boquel et al. 2018).

Les adultes peuvent être dénombrés au moyen de pièges collants chromo-attractifs disséminés dans la culture. Cependant, étant donné leurs ressemblances, les mouches du genre *Delia* peuvent être confondues et les pièges collants ne permettent pas de les distinguer (Légaré and Serres 2015). En effet, les insectes étant piégés dans la colle, les caractéristiques morphologiques permettant leur identification ne sont pas toutes visibles. Pour ce faire, il est préférable d'avoir recours aux « pièges bols-jaunes ». Ces derniers permettent de récupérer des insectes non endommagés par flottaison. Un mélange d'eau et de savon retient ceux-ci à la surface en éliminant la tension de surface (Boquel et al. 2018).

### **Décomposition de la matière organique**

La partie organique du sol est principalement composée de carbone, d'azote, d'oxygène, d'hydrogène et secondairement de phosphore, soufre, calcium, magnésium, potassium et sodium (Sonet 2019). Elle provient de l'accumulation de matière organique fraîche à la surface ainsi que des racines et organismes morts en profondeur. Cette dernière va subir un ensemble de transformations biotiques et abiotiques (Calvet et al. 2015). La matière organique peut être divisée en 3 fractions : La fraction libre-rapide, qui se décompose en 3 ans ; La fraction libre-lente, peu accessible aux microorganismes et dont la durée de vie est de 30 ans ; et la fraction liée-lente, l'humus, stable pour 100 ans. Ce dernier est formé à partir de la décomposition de la lignine et dans un second temps des composés azotés, résines et tanins (Sonet, 2019).

La matière organique du sol provient de substances organiques produites par les organismes vivants. Les plus gros apports proviennent des racines (exsudats ou racines mortes) et des litières végétales (feuillages, résidus d'herbe et de plantes cultivées sur et dans le sol). La matière organique sèche est composée à plus de 50% de carbone apporté par les hydrates de carbone (sucres et cellulose) de la matière végétale en décomposition. Vient ensuite la lignine, les composés azotés, les tanins et pour finir les graisses, cires et résines (Blum et al. 2018).

### Transformation de la matière organique

La transformation de la matière organique fraîche s'opère en 3 étapes.

- La première étape commence avant même que le support végétal ne se retrouve sur le sol. Il s'agit de la phase initiale biochimique dans laquelle des macromolécules comme les sucres, la cellulose, les peptides, les protéines, mais aussi les acides aminés ou encore des phénols subissent des oxydations et hydrolyses. Cette étape se poursuit une fois que le matériel végétal mort se retrouve au sol (Blum et al. 2018). Une fois au sol, les facteurs biotiques entrent en jeu afin de réduire le substrat végétal en plus petits fragments. La faune du sol joue ainsi un rôle important dans le contrôle de la décomposition de la matière organique (Giri et al. 2013). La macro- et mésofaune mélange les fragments dans le sol par ingestion et excrétion (Blum et al. 2018). Les lombrics et arthropodes participent ainsi à cette décomposition biotique.
- C'est ensuite au tour des microorganismes, tels que les bactéries et champignons qui sont des décomposeurs clés, de participer à la décomposition biotique (Giri et al. 2013). Il s'agit de la phase de décomposition microbienne. Cette étape de biotransformation est possible lorsqu'une enzyme rencontre un substrat, correspondant ici à un matériel organique végétal ou à des molécules organiques végétales. La transformation peut avoir lieu avec des enzymes endocellulaires dans les corps microbiens ou exocellulaires si ces dernières sont excrétées par les microorganismes concernés (Calvet et al. 2015). Les microorganismes impliqués dans la deuxième étape de la décomposition de la matière organique végétale vont donc notamment excréter des enzymes qui vont cliver les molécules de haut poids moléculaire en composés de plus petite taille. Il en résulte la dégradation des tissus végétaux. Cette succession de réactions chimiques catalysées par des enzymes va donc d'abord toucher les tissus morts des végétaux, les cellules, les macromolécules et les biomolécules (Calvet et al. 2015). Une partie de ces composés dégradés sont utilisés comme source d'énergie ou comme « bloc de construction » par les microorganismes alors qu'une partie des composés se retrouvent dans le sol. Cette dernière fraction constitue les substances humiques du sol (Blum et al. 2018)
- Pour finir, l'étape ultime de la décomposition de la matière organique est sa minéralisation. Il s'agit d'une étape pendant laquelle les éléments chimiques sont transformés sous leur forme inorganique via des enzymes exocellulaires (Calvet et al. 2015). En milieu oxygène, le carbone, l'oxygène et l'hydrogène sont transformés en dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) et en eau par un processus d'oxydation biologique ou respiration (Blum et al. 2018). De manière similaire, l'azote organique est minéralisé en ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) par différentes protéinases, peptidases d'oxygénases et de déshydrogénases. Le soufre organique est transformé en anion sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) par des sulfatases et le phosphore organique en anions orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) par des phosphatases. Des réactions intermédiaires produisent également de petites molécules capables de traverser les membranes microbiennes où elles vont subir une minéralisation sous l'action d'enzyme endocellulaires, précédemment abordées (Calvet et al. 2015).

## Facteurs abiotiques impactant la biotransformation

La biotransformation est impactée par différents facteurs abiotiques qui conditionnent ainsi la vitesse de décomposition de la matière organique végétale. Ces facteurs peuvent être regroupés en 2 catégories, à savoir ceux liés aux conditions du milieu et ceux concernant les substrats eux-mêmes.

Ainsi, un des premiers facteurs du milieu influençant la biotransformation est la température. Celle-ci a un effet sur l'activité des microorganismes et sur l'activité des enzymes exocellulaires excrétés par ces derniers. Les microorganismes ont en effet une gamme de température dans laquelle ils atteignent leur activité maximale. Une étude de 2015 a identifié la gamme de température préférentielle pour différentes espèces de *Trichoderma* spp. Ces dernières ont un pic de croissance, quand soumises à des températures de 25 à 30°C (Singh et al. 2015). De même, la température optimale d'action des enzymes libérées par les microorganismes est de l'ordre de 40°C (Calvet et al. 2015).

À côté de la température, deux autres variables du sol sont également importantes : la teneur en eau et en oxygène. Les phases liquides et gazeuses du sol se répartissent dans les pores du sol et leur teneur relative dépend l'une de l'autre. Lorsque la teneur en eau augmente suite à des précipitations, alors la teneur en oxygène du sol diminue et vice-versa. Encore une fois, la teneur en eau impacte les populations microbiennes du sol, car lorsque celle-ci est trop retenue ou adsorbée sur les colloïdes du sol alors sa biodisponibilité pour les microorganismes diminue et leur activité finit par cesser (Calvet et al. 2015). Le potentiel optimum de l'eau pour la décomposition de la matière organique dans le sol est de l'ordre de - 0,01 à - 0,05MPa (Giri et al. 2013). De plus, l'activité des microorganismes varie grandement selon qu'ils préfèrent l'aérobie ou l'anaérobie stricte ou facultative. Pour les microorganismes il existe donc une teneur en eau, et donc en oxygène, optimale à laquelle leur activité dans le sol est maximale (Calvet et al. 2015).

Le dernier facteur physique du milieu influençant la minéralisation des matières végétales du sol est la structure du sol. Ce facteur peut être favorable à la minéralisation si la porosité du sol permet une bonne circulation de l'eau et de l'air. De ce fait, l'activité microbienne peut jouer son rôle de décomposition du substrat végétal comme mentionné précédemment. À l'inverse, un sol fortement compacté (par un labour à répétition par exemple) entraîne une diminution de la minéralisation (Calvet et al. 2015). De même, les enzymes sécrétées par les microorganismes doivent être transportées jusqu'à leur substrat afin de réaliser leur activité de clivage ou encore les molécules de substrat mobiles doivent atteindre le corps microbien pour subir le même sort avec des enzymes endocellulaires cette fois. Ce transport s'effectue via les pores du sol (Calvet et al. 2015).

Le pH du sol est également important : Comme pour la température et la teneur en oxygène, il existe un intervalle de pH propice aux activités microbiennes et enzymatiques. Ainsi, les enzymes fonctionnent de manière optimale avec un pH plutôt neutre (Calvet et al. 2015). Ce dernier peut ainsi avoir des actions directes ou indirectes sur les populations microbiennes. À titre d'exemple, une étude a déterminé que la gamme de pH la plus favorable à différentes espèces de *Trichoderma* spp. s'étalait de 5,5 à 7,5 (Singh et al. 2015). Le pH peut également avoir un impact indirect via la solubilisation d'ions métalliques comme  $Al^{3+}$ , toxique pour les microorganismes à trop haute concentration dans la solution du sol (Calvet et al. 2015).

Les matières organiques apportées dans le sol subissent des processus physiques et des biotransformations chimiques menant in fine à leur minéralisation. Certaines de leurs caractéristiques sont importantes afin de prévoir au mieux leur évolution dans le sol et par conséquent leur impact agronomique et environnemental. Concernant les facteurs relatifs aux substrats, le plus important concerne le rapport C/N des végétaux incorporés. Au cours de la décomposition de la matière organique végétale, certains composés sont plus difficiles à dégrader que d'autres. Par ordre décroissant de facilité de décomposition, il y a les sucres, la cellulose, les protéines simples > les protéines complexes > les pectines, hémicelluloses et celluloses > la lignine, les graisses, cires et tanins. Ainsi, la facilité de décomposition de résidus végétaux est caractérisée par leur rapport C/N, à savoir le rapport entre les



composés difficilement décomposables sur ceux facilement décomposables (Blum et al. 2018). À titre d'exemple, des pailles de blé ont un rapport C/N de 100 alors que les feuilles de blé ont un rapport de 13 et les pailles de maïs un rapport de 130 (Calvet et al. 2015). Il en ressort qu'un couvert végétal incorporé, ou quelconque autre matière organique, verra son carbone organique d'autant plus vite minéralisé que son rapport C/N est petit, donc que sa teneur en azote est grande (Figure 10).

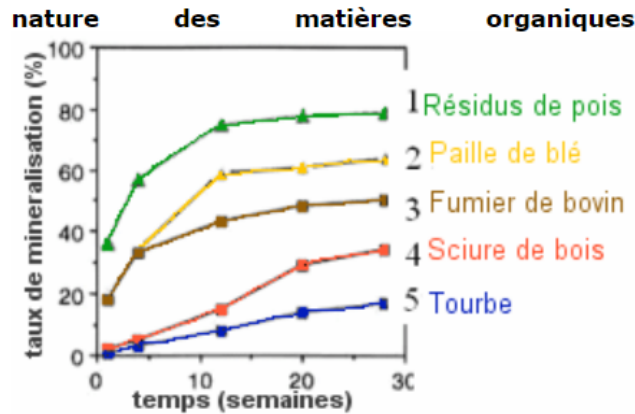


Figure 10. Taux de minéralisation de différentes matières organiques dans le sol (Roger-Estrade 2004).

La vitesse de dégradation dépend donc des caractéristiques du couvert enfoui, mais également de la disponibilité en azote. En effet, les microorganismes ont besoin d'azote afin de décomposer le carbone contenu dans le couvert végétal. Cela implique qu'avec un C/N inférieur à 25, la quantité d'azote organique minéralisée est plus grande que la quantité d'azote inorganique assimilée par les microorganismes. Ces derniers vont donc libérer l'excès d'azote dans le sol. Il s'agit ici d'une minéralisation nette. Dans le cas contraire, si une grande quantité de résidus avec un rapport C/N supérieur à 25 est incorporée, les microorganismes vont consommer l'azote inorganique du sol au lieu d'en libérer afin d'assurer leur métabolisme. Il s'agit du phénomène de faim d'azote (Roger-Estrade 2004).

En ce qui concerne l'évolution dans le temps des matières organiques enfouies, le rapport va se stabiliser à différentes valeurs en fonctions des conditions du milieu (Figure 10). Ceci s'explique par le fait que le carbone est minéralisé de manière plus rapide que l'azote, se traduisant par une diminution du rapport C/N. Ainsi, pour un sol cultivé, le C/N va se stabiliser aux alentours de 10 (Roger-Estrade 2004).

La décomposition des matières végétales est donc impactée par différents facteurs qui, de plus, sont généralement dépendants les uns des autres. De ce fait, il est souvent compliqué de déterminer l'impact d'un facteur singulier sur la minéralisation d'un couvert végétal incorporé.

#### Volatilome de la matière végétale en décomposition

Le sol peut être considéré à la fois comme une source et un puit de composés organiques volatils (COVs). Ces composés organiques de faible poids moléculaire sont principalement émis par les organismes vivants et plus particulièrement par les plantes et les microorganismes (Abis et al. 2018; Insam and Seewald 2010). Néanmoins, il est supposé que le sol et la litière en décomposition constitueraient une source importante de COVs au niveau du système terrestre. Ainsi, les échanges de COVs entre le sol et l'atmosphère ont été étudiés en fonction d'un gradient d'humidité et de température. Les résultats ont montré que le sol agissait plus comme un puit plutôt que comme une source de COVs dans les deux types de gradients testés. De plus, la majorité des composés identifiés étaient des COVs oxygénés tels que des alcools, des aldéhydes, des cétones et des hydrocarbures aromatiques. De l'acide acétique ainsi que de l'acétate d'éthyle ont aussi été détectés (Asensio et al. 2007).

Dans une étude de 2008, il a été démontré que les taux de production des COVs étaient supérieurs dans la litière végétale en décomposition plutôt que dans le sol. Ces taux étaient positivement corrélés avec la biomasse microbienne présente dans les deux types d'échantillons et les niveaux de production de CO<sub>2</sub>. De manière générale, la litière en décomposition produit une plus grande variété de COVs avec des composés fréquemment différents de ceux émis par le sol. Lors des analyses, le furfural et des composés furane similaires étaient présents en grande quantité dans la majorité des échantillons (Leff and Fierer 2008).

Un autre aspect primordial des COVs émis lors de la décomposition d'un matériel végétal est la dissociation des phénomènes biotiques et abiotiques. À ce jour, les connaissances à ce sujet sont limitées. Une étude de 2010 s'est penchée sur le sujet et les résultats ont montré que les émissions nettes provenant des populations microbiennes étaient jusqu'à 11 fois plus élevées que pour les litières végétales subissant une décomposition abiotique. De manière générale, le composé le plus abondant provenant des décompositions biotique et abiotique d'une matière végétale dans le sol est le méthanol, comptant pour 78 à 99% des émissions nettes en fonction du substrat végétal. Au niveau de la décomposition abiotique, il semblerait avoir une production d'acétylaldéhyde importante, derrière le méthanol (Gray et al. 2010).

Plusieurs études récentes ont également mis en avant que les microorganismes jouent un rôle important dans les émissions de COVs (Isidorov and Jdanova 2012; Leff and Fierer 2008). Ces émissions par les microorganismes influenceraient la chimie atmosphérique, les processus opérant dans le sol et les interactions biotiques du sol. Ainsi, des composés associables à la fermentation microbienne ont été détectés dans des échantillons de litière végétale en décomposition et de matière organique en décomposition dans le sol comme l'acide propionique et butanoïque (Leff and Fierer 2008).

De plus, les types et quantités de COVs émis varieraient en fonction du sol et de la matière végétale en décomposition. En effet, V. Isidorov et M. Jdanova ont identifié plus de 70 composés organiques appartenant à différentes classes chimiques pour 5 litières végétales différentes (Isidorov and Jdanova 2012). D'une part, ceci s'expliquerait par la différence de composition chimique de la matière végétale en décomposition. Effectivement, 45 composés organiques volatils ont été identifiés comme produits par deux souches de *Trichoderma* (*T. viride* et *T. pseudokoningii*) cultivés sur deux types de substrats. La première a produit 34 COVs, dont 13 n'étaient émis que sur un type de substrat, la seconde a produit 31 COVs, dont 18 composés uniquement produits sur l'un ou l'autre des substrats (Wheatley et al. 1997). D'autre part, la population microbienne impacterait aussi le type de COVs émis. Lorsque les émissions de 5 souches de bactéries, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Helicobacter pylori* ont été étudiées en 2005, des différences significatives ont été rapportées en ce qui concerne la quantité et compositions des COVs émis. Par exemple, en comparaison à *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae* produit de grandes quantités de molécules à faible poids moléculaire (30 à 90 unités de masse atomique) et pratiquement aucune molécule avec un poids moléculaire supérieur à 160 uma (Lechner et al. 2005).

Pour finir, il est également important de mentionner l'évolution des profils d'émission des COVs dans le temps. En effet, au fur et à mesure de l'évolution de la décomposition de la matière végétale, la proportion relative et le type de composés émis varient de manière plus ou moins importante selon le substrat végétal. Ainsi, le mélange de COVs issu de la décomposition de *Eucalyptus sp.* est composé de 75% de méthanol entre la 93 à 212<sup>ème</sup> heure de décomposition, 87% de méthanol entre la 212 et 330<sup>ème</sup> heure de décomposition et 92% de méthanol entre la 330<sup>ème</sup> et 473<sup>ème</sup> heure (Gray et al. 2010).

Au niveau des sols agricoles, différentes études ont essayé d'évaluer l'impact des traitements organiques et/ou inorganiques appliqués au sol sur l'émission de COVs (Abis et al. 2018; Bachy et al. 2018; Potard et al. 2017; Raza et al. 2017). Une étude de 2018 a ainsi pu mettre en évidence des différences d'émission pour 21 COVs dans des sols soumis à quatre différents apports de matière organique (compost de déchets solides municipaux, co-compost de déchets verts et de boues, compost de biodéchets et fumier de ferme). En plus des variations causées par les différentes sources de matière organique apportées, ces émissions

étaient également impactées par les changements de pH induits par l'apport des traitements (Abis et al. 2018). Ces résultats sont cependant à nuancer, car les émissions de COVs dépendent fortement du type de sol et toutes les études ne convergent pas vers des différences significatives (Potard et al. 2017). Des recherches supplémentaires sont nécessaires afin de mieux comprendre, analyser et évaluer les COVs des sols.

## Perception des COVs par *Delia platura*

### La perception des COVs

Les composés organiques volatils (COVs) sont perçus par les insectes par un système olfactif très sensible qui leur permet de localiser un hôte, un congénère ou un site de ponte acceptable.

Le système olfactif des insectes peut être séparé en 2 niveaux : le système périphérique constitué des antennes et le système central organisé autour des lobes antennaires et des corps pédonculés. Le premier niveau regroupe les organes sensoriels alors que le deuxième niveau se rapporte aux relais synaptiques. En effet, les lobes antennaires constituent le premier relais synaptique et les corps pédonculés correspondent au deuxième relais synaptique dans lesquels l'information olfactive est traitée afin de déclencher ou modifier le comportement de l'insecte (Dekeirsschieter et al. 2012).

La perception de ces COVs est contrôlée par les antennes des insectes. Les antennes de *Delia platura* sont constituées d'un scape, d'un pédicelle et d'un flagelle décomposé en un funicule et une arista. Celles-ci sont recouvertes de microtriches. Le scape et le pédicelle portent des soies avec des alvéoles à leur base (Figure 11)(Wang et al. 2014). La longueur des antennes des femelles est en moyenne de  $590 \pm 55 \mu\text{m}$  et celles des mâles  $608 \pm 22 \mu\text{m}$  (Ross 1992). L'arista, un appendice en forme de poil, est situé proximale près de la base du funicule et est aussi recouverte de nombreuses microtriches.

La surface du funicule est également couverte de microtriches non sensoriels entre lesquels sont dispersés plusieurs types de petites structures cuticulaires, les sensilles. Ces dernières renferment des neurones récepteurs olfactifs (ORNs) (Keil 1997). Ainsi, il est possible d'observer des sensilles trichoïdes, cannelées, basiconiques de type II et calviformes sur la surface funiculaire de *D. platura* (Ross 1992) (Figure 11). Une étude comparative des sensilles de différentes espèces de mouches du genre *Delia* a identifié que les femelles et les mâles de *D. platura* possèdent respectivement plus de 800 et 700 sensilles au niveau du funicule, correspondant à une densité de plus de 6000 et 7000 sensilles/mm<sup>2</sup> respectivement (Ross 1992).

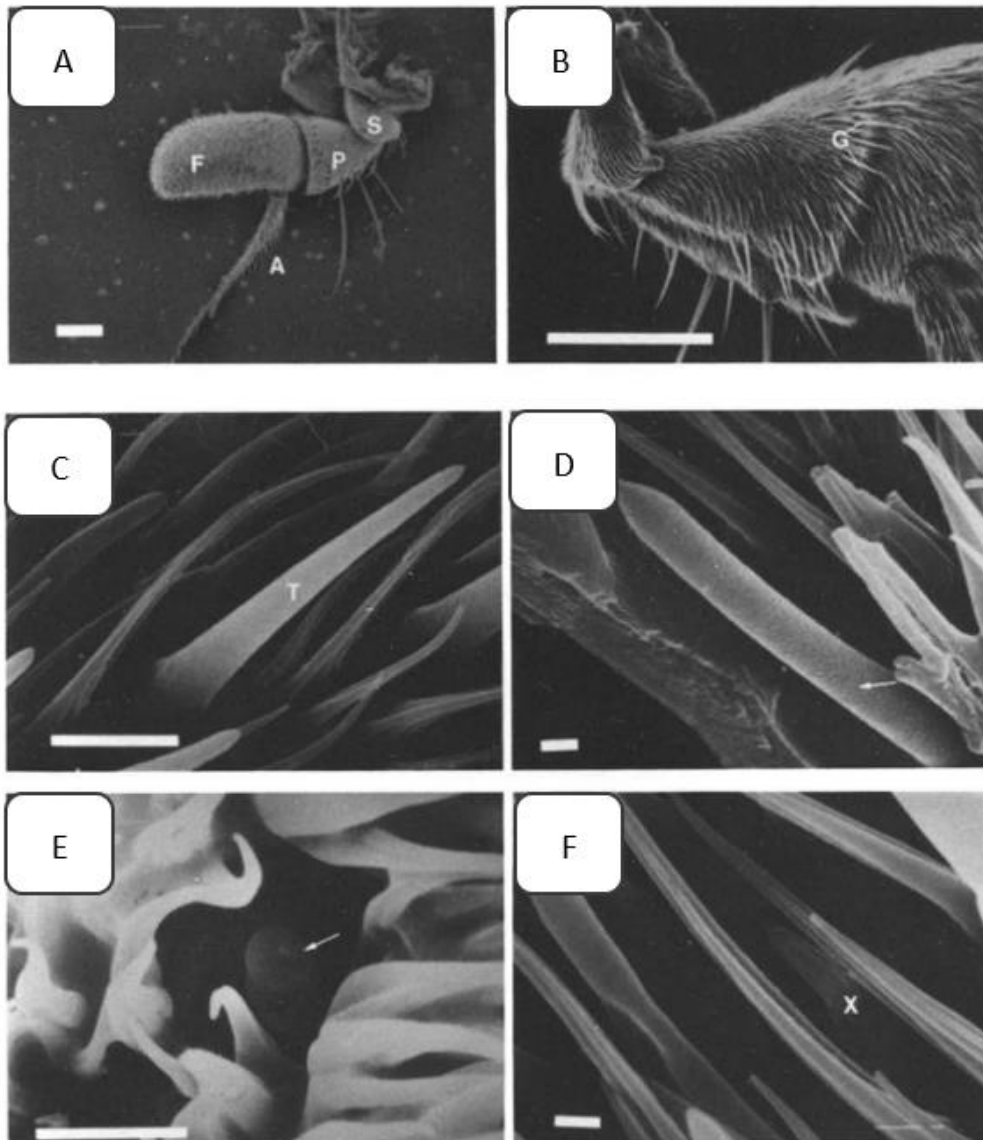


Figure 11. Micrographie de la surface dorsale de l'antenne, de la surface ventrale du pédicelle, d'une sensille trichoïde, d'une sensille basiconique de type II, d'une sensille claviforme et d'une sensille cannelée de *Delia platyura*. (A) Micrographie de la surface dorsale de l'antenne de *Delia platyura*. A = arista ; F = funicule ; P = pédicelle ; S = scape. Echelle = 100 $\mu$ m. (B). Micrographie de la surface ventrale du pédicelle montrant des poils rainurés (G). Echelle = 100 $\mu$ m. (C) Micrographie de la surface du funicule montrant une sensille trichoïde (T). Echelle = 1 $\mu$ m. (D) Micrographie d'une sensille basiconique de type II avec de nombreux pores (flèche) couvrant sa surface. Echelle = 1 $\mu$ m. (E) Micrographie d'une sensille claviforme dans une dépression (flèche). Echelle = 5 $\mu$ m. (F) Micrographie d'une sensille cannelée (X) au niveau de la surface funiculaire. Echelle = 1 $\mu$ m (Ross 1992).

Les sensilles trichoïdes sont les plus larges des sensilles funiculaires avec une moyenne de  $14.1 \pm 2.0$   $\mu$ m chez *D. platyura*. Ces dernières ont une forme allongée ressemblant à un cheveu et s'érigent au-dessus des microtriches avec une extrémité pointue (Wang et al. 2014). De plus, il semblerait que les femelles possèdent une plus grande densité de ces sensilles sur la face dorsale de leurs funicules par opposition aux mâles. A contrario, les mâles possèdent une plus grande densité générale de sensilles trichoïdes que les femelles (Ross 1992).

En ce qui concerne les sensilles basiconiques de type II, elles sont présentes en plus grand nombre et en plus grande densité sur la surface dorsale du funicule. De même, les mâles possèdent une densité supérieure que les femelles avec en moyenne  $1092 \pm 129$  sensilles de type II/mm<sup>2</sup> contre  $979 \pm 177$  sensilles de type II/mm<sup>2</sup> (Ross 1992).

Les sensilles claviformes sont présentes dans des dépressions peu profondes du funicule. Les mouches du semis disposent de sensilles claviformes de  $9.3 \pm 0.6 \mu\text{m}$  de longueur. Ces dernières sont distribuées sur la région proximale du funicule au niveau de la région interne et s'étendent jusqu'à la région médiane. Les mâles et femelles n'ont pas un nombre significativement différent de ce type de sensilles (Ross 1992).

Pour finir, les sensilles cannelées sont les plus petites sensilles présentes sur le funicule avec en moyenne une longueur de  $2.9 \pm 0.2 \mu\text{m}$  pour les individus de *Delia platura*. Celles-ci sont réparties principalement sur la région mi-distale du funicule. En ce qui concerne les différences entre les deux sexes, les mâles présentent une plus grande densité de sensilles cannelées sur la surface dorsale du funicule contrairement aux femelles. De plus, ces dernières se répartissent majoritairement du côté dorsale pour les mâles plutôt que du côté ventral (Ross 1992).

Le rôle des sensilles est comparable à un micro capteur des molécules odorantes en suspension dans l'air environnant. Les sensilles possèdent une organisation et une fonction complexe malgré leur petite taille. La sensille olfactive « classique » d'un insecte est ainsi composée d'un nombre fixe de cellules. On y retrouve premièrement des neurones récepteurs olfactifs (ORNs) (Keil 1997). Ce sont des neurones bipolaires, principalement situés au niveau des antennes, développés à partir de cellules épithéliales (De Bruyne and Baker 2008). Ces derniers transforment un signal chimique en signal électrique, envoyé dans le système nerveux central (SNC)(Bruce et al. 2005). Indépendamment de leur emplacement, tous les ORNs se projettent sur le lobe antennaire du cerveau (De Bruyne and Baker 2008). Les dendrites de ces neurones sensoriels baignent dans la lymphe sensillaire (Meillour 1998). Ils sont également entourés de 3 cellules accessoires : la cellule thécogène, la cellule trichogène et la cellule thormogène (Keil 1997). Ces dernières sécrètent des protéines qui se retrouvent dans la lymphe des sensilles (De Bruyne and Baker 2008). Elles ont aussi un rôle de soutien pour les ORNs (Meillour 1998)(Figure 12).

Les sensilles présentent un système de pores tubulaires qui permet aux molécules odorantes de passer de l'environnement extérieur à la lymphe sensillaire (Figure 12). Ces pores forment un milieu de transition aqueux entre les molécules odorantes et les dendrites des ORNs (De Bruyne and Baker 2008). Afin de traverser ce milieu aqueux pour rejoindre les neurones sensoriels, il existe des protéines acides dans la lymphe qui permettraient la solubilisation des molécules odorantes. Il s'agit des odorant-binding proteins (OBPs). Ce sont des chaînes polypeptidiques solubles constituées de 6 groupements cystéines reliés entre eux par des ponts disulfure (Picimbon 2002).

Plus que des transporteurs, ces protéines chez les insectes seraient capables de reconnaître des signaux olfactifs précis, pouvant ainsi trier ces derniers avant leur transmission aux neurones sensoriels. De plus, les OBPs auraient des affinités déterminées avec des molécules odorantes ou groupes chimiques particuliers grâce à une série de ligands spécifiques (Picimbon 2002). De ce fait, une hypothèse pouvant être posée est que le répertoire de gènes codant pour les OBPs définit la gamme de signaux chimiques qu'une espèce peut percevoir (Ohta et al. 2015).

Dans une étude menée en 2015 par Ohta et al., 20 OBPs ont été identifiées chez *Delia platura* par une analyse du transcriptome au niveau des antennes et des pattes. En effet, il existe des sensilles avec une fonction gustative situées sur les pattes de *D. platura* afin de choisir le site d'oviposition (Ohta et al. 2015).

D'après cette étude, il semblerait que le répertoire d'OBPs ne soit pas forcément influencé par le statut écologique de l'insecte, comme la spécialisation pour un type particulier d'hôte. Deux éléments peuvent être avancés pour soutenir cette hypothèse. Premièrement, les variations interspécifiques dans la préférence pour un hôte pourraient résider à un niveau supérieur du système chimio-sensoriel, tel que les neurones. Deuxièmement, la plupart des OBPs auraient la capacité de percevoir des produits chimiques autres que les molécules olfactives émises par les hôtes. Les insectes pourraient ainsi

conserver la capacité de reconnaître une grande variété de stimuli chimiques externes qui ne sont pas directement liés à leur statut écologique spécifique (Ohta et al. 2015).

La reconnaissance périphérique du signal s'organise en 4 étapes :

- Premièrement, les molécules odorantes sont transportées jusqu'aux récepteurs sensoriels grâce aux OBPs.
- Une fois à l'intérieur des sensilles, il peut donc y avoir activation du récepteur situé dans la membrane dendritique ou inactivation et dégradation de la molécule odorante via des odor degrading enzymes (ODEs), les estérases sensillaires (Figure 12) (Picimbon 2002).

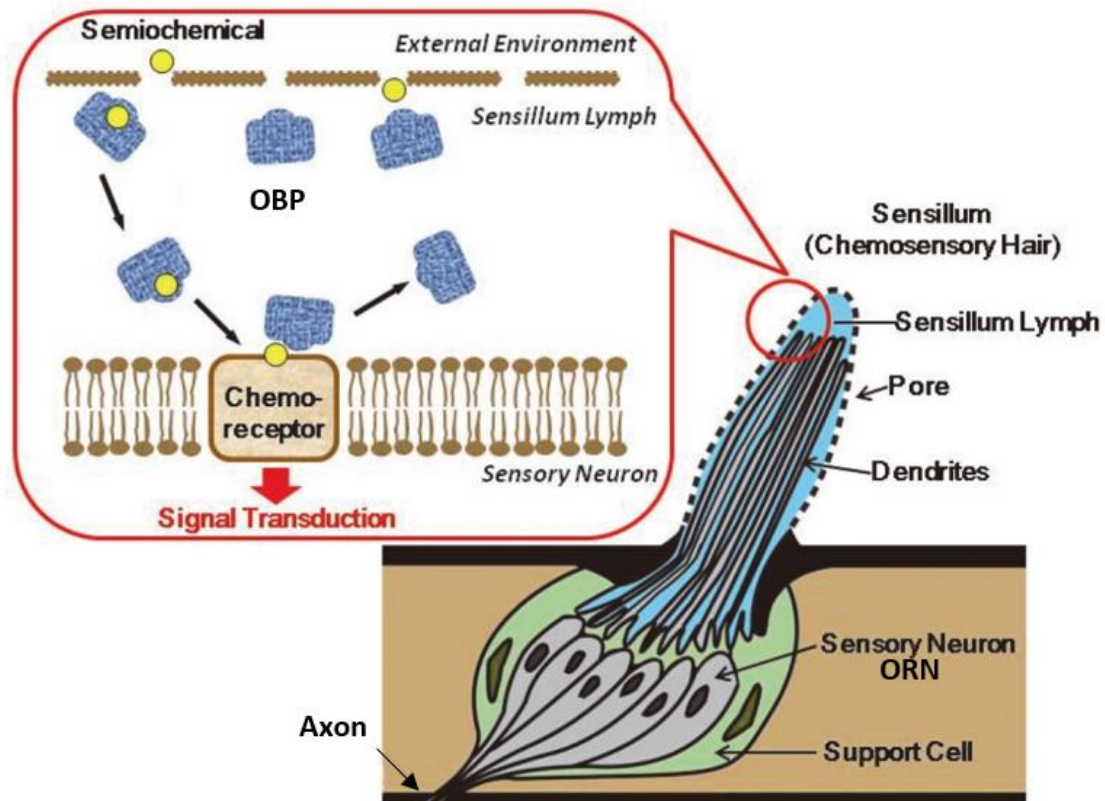


Figure 12. Structure d'une sensille d'insecte et mécanisme de transport des molécules olfactives (Yamazaki et al., no date).

- Suite à cette activation, la transduction s'opère dans les ORNs afin de transformer le signal chimique en signal électrique. Cette transformation se réalise au travers d'une succession de réactions moléculaires aboutissant à la formation d'un potentiel d'action via l'ouverture de canaux ioniques (Meillour 1998).
- Ce potentiel d'action, signal électrique, peut ensuite se propager le long de l'axone pour atteindre le système nerveux de l'insecte. Les axones se regroupent pour former les nerfs antennaires afin que le signal électrique parvienne au premier relais synaptique, les lobes antennaires. L'information peut ensuite être traitée par le système nerveux central pour aboutir à l'identification de la molécule odorante (Dekeirsschieter et al. 2012).

### L'attraction des adultes

La localisation d'une plante hôte ou d'un site de ponte est vitale pour les populations d'insectes afin de satisfaire leur besoin nutritionnel et accomplir leur cycle biologique. Ces derniers sont ainsi capables de localiser le site de ponte en usant des COVs qui en sont spécifiquement émis, et ce malgré le cocktail de molécules odorantes qui les entoure. Afin d'expliquer ce phénomène, deux hypothèses se confrontent (Bruce et al. 2005).

La première hypothèse stipule que les insectes seraient capables de reconnaître des composés volatils spécifiques à une espèce d'hôte ou un site de ponte. De ce fait, les insectes phytophages pourraient localiser les plantes dont ils se nourrissent grâce aux odeurs et goûts caractéristiques des métabolites secondaires présentes dans celles-ci. Ces métabolites secondaires déclencheraient la réaction sensorielle des insectes (Fraenkel 2016). Les preuves supportant cette hypothèse sont minces. Diverses études ont cependant identifié une molécule caractéristique de la famille botanique des Brassicacées, les isothiocyanates. Cette molécule volatile faisant partie des glucosinolates est en effet impliquée dans la détection des plantes hôtes par les insectes spécialistes des Brassicacées (Bruce et al. 2005). Ainsi, des ORNs détectant les isothiocyanates ont été mis en évidence chez le puceron cendré du chou (*Brevicoryne brassicae* (L.)). Concernant les mouches du genre *Delia*, une étude menée en 1989 a déterminé que les mouches du chou (*Delia antiqua*) utilisaient des signaux olfactifs précis dès le début de leur recherche à distance pour une plante hôte. Les femelles de cette espèce spécialiste détecteraient ainsi le dipropyl-disulphide afin de localiser et d'accepter une plante hôte (Judd and Borden 1989).

La deuxième hypothèse déclare que les insectes reconnaîtraient des ratios spécifiques de composés omniprésents dans leur environnement (Beyaert et al. 2010; Bruce and Pickett 2011; Bruce et al. 2005). Cette hypothèse est complétée par le fait que les insectes pourraient identifier des mélanges déterminés attractifs pour eux dans le « background » complexe de volatils émis par une multitude d'espèces différentes présentes dans leur habitat (Bruce et al. 2005). Si la majorité des récepteurs périphériques des insectes phytophages détecte des composés volatils qui ne sont pas attribués à leurs plantes hôtes ou leurs sites de ponte de prédilection, alors le ratio des différentes molécules composant le mélange devient un élément clé de la reconnaissance et l'attraction à ces derniers. La spécificité du signal reposerait alors sur la reconnaissance de mélanges particuliers de substances volatiles (Bruce et al. 2005). Une expérience menée sur *Leptinotarsa decemlineata* en 1978 supporte cette hypothèse. En effet, les extraits végétaux trans-2-hexen-1-ol, hexanol-1, cis-3-hexen-1-ol, trans-2-hexenal, linalool, et les isomères trans-3-hexen-1-ol, cis-2-hexen-1-ol, hexanol-2 et hexanol-3 provenant de l'huile de feuilles de pomme-de-terre ont été testés seuls et en combinaison. Les composés présentés seuls n'attirent pas les doryphores. De même, une modification du ratio initial présent dans les plans de pomme-de-terre matures provoque un arrêt d'intérêt des doryphores (Ave and Visser 1978).

La complexité de reconnaissance des mélanges olfactifs va encore plus loin. Lors d'une étude réalisée en 2010 sur le puceron noir de la fève *Aphis fabae*, 10 composés testés séparément ont engendré une réponse négative des pucerons, suggérant une capacité répulsive. Lorsqu'un mélange comprenant les 10 composés répulsifs a été proposé, celui-ci a entraîné une attraction des pucerons (Webster et al. 2010). Ceci démontre l'importance du ratio des molécules dans le signal olfactif perçu par les insectes. Des composés peuvent donc à la fois fonctionner comme des signaux relatifs à un hôte ou un site de ponte acceptable ou non, en fonction du contexte dans lequel ils sont perçus. Cet article conclut que si les signaux olfactifs engendrent une réponse comportementale différente lorsqu'ils sont combinés alors il existe une propriété émergente au niveau de la perception des odeurs selon laquelle une discrimination de la qualité de l'odeur peut survenir en fonction des propriétés du mélange (Webster et al. 2010).

De plus, le ratio des substances odorantes peut varier dans le temps. Cela peut, par exemple, se produire lorsqu'une plante passe d'un stade de développement à un autre. Certains insectes semblent ainsi attirés par un stade phénologique déterminé de leur plante hôte. Les femelles *Heliothis armigera* ont principalement attirées par le stade de floraison pour la centaine de plantes hôtes qu'elles possèdent (Fitt 1989).

Il peut également y avoir de légères variations de profils odorants intraspécifiques. Les plantes d'une même espèce peuvent émettre des composés volatils en proportions faiblement différentes d'un individu à l'autre. Les insectes doivent donc disposer d'un système d'analyse des odeurs suffisamment flexible pour faire face à ce genre de situations. Il doit leur permettre de différencier des plantes hôtes et non-hôte tout en acceptant d'infimes variations du signal olfactif au sein de leur environnement (Bruce and Pickett 2011).

Pour finir, il semblerait qu'il y ait une redondance au sein des mélanges olfactifs. Tous les éléments du mélange ne seraient pas indispensables à la reconnaissance de l'hôte ou du site de ponte. Ces derniers pourraient être identifiés même si certains composants de leur mélange olfactif sont substitués ou absents tant que la majorité des composants sont présents. Les insectes devraient donc identifier un ou plusieurs éléments inmanquables du mélange pour identifier leur cible et d'autres éléments pourraient se révéler de moindre importance (Bruce and Pickett 2011).

Les insectes peuvent donc choisir les plantes hôtes et sites de ponte les plus adaptés à leur besoin ou les plus abondants dans leur habitat grâce à des composants d'odeurs spécifiques en lien avec ces derniers (Bruce et al. 2005).

### Stimuli d'oviposition

Les femelles de l'espèce *Delia platura* pondent préférentiellement dans des sols légèrement humides dans lesquels différents types de matières organiques (graines en germination ou matière organique en décomposition) sont présents (Barlow 1965). Le choix d'un site de ponte acceptable est en effet primordial pour la survie des larves en termes de ressources nutritives. Il existe donc une hypothèse selon laquelle les femelles sélectionneraient un site de ponte en fonction des besoins nutritifs des larves pour assurer la survie de leur progéniture (Barlow, 1965; Yu *et al.*, 1975; Hough-Goldstein, 1985; Weston and Miller, 1989). Ce principe, connu sous le nom de « Hopkin's Host Selection Principle », traduit la préférence qu'ont certains insectes adultes pour une espèce d'hôte sur laquelle ils se sont eux-mêmes développés en tant que larve. Les adultes, exposés aux résidus chimiques de leur environnement lors de leurs jeunes stades de développement (processus d'imprégnation), développeraient ainsi des préférences en matière de ponte ou d'alimentation (Barron 2001). Comme mentionné précédemment, les larves de *D. platura* se nourrissent de graines et de matière organique en décomposition dans le sol (Hough-Goldstein and Bassler, 1988; Weston and Miller, 1989; Yu *et al.*, 1975). Il est donc logique que les femelles pondent dans des parcelles riches en matières organiques en décomposition ou avec des graines ayant été récemment semées. Une étude sur les femelles de *Delia platura* de 1985 a cependant obtenu des résultats contraires à cette hypothèse (Hough-Goldstein 1985). Après avoir été autorisées à pondre sur un seul type de graines en germination (courge, haricot, mange-tout ou pastèque), les femelles ont pondu de manière non significativement différente une fois autorisées à pondre sur plusieurs types de graines à la fois. La préférence pour un site de ponte n'a donc pas été influencée par l'exposition préalable à un type de site de ponte. Cette étude a également étudié l'impact de l'exposition larvaire à une source de nourriture sur la préférence pour un site de ponte à la suite du développement de ces mêmes larves. Encore une fois, l'exposition préalable à un type de graine comme diète n'a pas influencé la préférence pour le site de ponte correspondant. Cette étude conclut donc que la sélection du lieu de ponte chez les femelles de *Delia platura* est innée et non influencée par une ancienne exposition (Hough-Goldstein 1985). De plus, les larves se nourrissent de matière organique dans le sol, autre que les graines des cultures semées (Miller and McClanahan 1960). Il semblerait donc que la détection de zones riches en matière organique dans le sol soit une caractéristique adaptative positive n'obligeant pas les femelles à utiliser les stimuli émanant des diverses graines dans le sol (Hough-Goldstein 1985).

Plusieurs études ont également démontré l'intérêt qu'ont les femelles pour un stade particulier de développement de leurs plantes hôtes (Ibrahim and Hower 1979; Weston and Miller 1989). Quand soumises à des graines de haricot fraîchement plantées, des graines en germination, des plantules émergentes ou des plantules redressées, les femelles pondent plus d'œufs au niveau des graines en germination et des plantules émergentes (Weston and Miller 1989). De même, dans une étude menée sur le soja, un nombre significativement plus important d'œufs était pondus en présence de plantules émergentes (Ibrahim and Hower 1979).

Il a cependant été prouvé que l'oviposition est, à priori, stimulée par la présence de microorganismes sur les graines. Eckenrode et al. ont été les premiers à suggérer cette hypothèse en 1975. Les microorganismes produiraient des métabolites stimulant la ponte. En effet, de nombreuses réactions



métaboliques commencent au début de la germination des graines. Ces processus engendrent une production de matières organiques à la surface des graines ce qui attire les microorganismes. Les résultats ont montré que 47% des pontes étaient réalisées sur les graines de butternut non stérilisées par opposition aux graines indemnes de microorganismes (Eckenrode et al. 1975). Par la suite, Hough-Goldstein et Bassler ont identifié 3 isolats bactériens, *Flavobacterium sp.*, *Erwinia herbicola*, et *Xanthomonas campestris*, qui stimulent l'oviposition lorsque testés seuls ou en combinaison (Hough-Goldstein and Bassler 1988). D'après les auteurs, une étude menée en 1926 par Leach a montré qu'il existait une étroite relation entre *D. platura* et les bactéries. En effet, ce dernier avait trouvé des bactéries dans le système digestif des adultes de même que sur la surface des pupes et des œufs. De plus, dans des essais en laboratoire, les larves stérilisées se développaient de manière normale uniquement lorsque des bactéries étaient ajoutées sur des morceaux de pomme-de-terre stériles (Hough-Goldstein and Bassler 1988). Cette découverte a notamment fait l'objet d'une étude sur la modification des populations microbiennes situées sur les graines afin de moduler le comportement de ponte chez la mouche des semis avec succès en laboratoire (Harman et al. 1978).

Il semblerait aussi que les femelles choisissent un site de ponte sur base de la matière organique contenue dans celui-ci (Barlow, 1965; Yu *et al.*, 1975). Ainsi, lorsque les femelles ont le choix entre cinq sites de ponte (sol sans graine ou sol contenant soit des graines de petit pois, de seigle, des graines de seigle concassées ou des graines de tabac), près de 53% des œufs sont pondus dans le sol contenant les graines de petits pois (Barlow 1965).

Un autre aspect important pour la sélection d'un site de ponte concerne la nature des stimuli. En effet, les femelles se basent premièrement sur des stimuli olfactifs afin de réaliser leur choix et dans un deuxième temps des stimuli de contact (Barlow 1965; Gouinguéné and Städler 2006). Ceci a pu être démontré lors d'une étude dans laquelle les femelles avaient le choix entre plusieurs substrats : du sable seul, du sable avec des graines de haricot germées auxquelles les femelles avaient accès et du sable avec des graines de haricot germées superposé d'une membrane pour éviter le contact. Cette membrane était perméable aux gaz afin de laisser diffuser les odeurs et était recouverte d'une fine couche de sable afin de permettre la ponte. Plus de 40% des œufs ont ainsi été pondus sur base du stimulus olfactif seul. Lorsque les femelles avaient accès aux graines en germination, les chiffres ont atteint près de 60% (Gouinguéné and Städler 2006).

Une deuxième étude ayant aussi étudié les stimuli de ponte a déterminé que les sols humides agissaient comme des stimulateurs de ponte (Barlow 1965). Les modalités étaient les suivantes : un substrat de ponte positionné au-dessus de différentes sources de stimuli comme suit : un sol humide placé au-dessus d'un conteneur d'eau pour une humidification constante, un sol sec placé au-dessus d'un conteneur avec des graines de haricot imbibées, un sol sec au-dessus d'un conteneur vide (air) et un sol sec placé au-dessus d'un conteneur avec de l'eau, mais sans contact entre les deux compartiments. Les résultats ont montré que les femelles pondaient plus d'œufs au niveau des modalités « sol humide » et « sol sec avec graines imbibées ». Cela implique d'après l'auteur que le sol humide agit comme un stimulateur de ponte alors que le choix de la matière organique se réalise en partie ou totalement via des stimuli olfactifs. En effet les femelles ne pouvaient pas entrer en contact avec les graines de haricot imbibées. Elles ne pouvaient donc réagir qu'aux odeurs émises par ces dernières (Barlow 1965). Le nombre d'œufs pondus dépend donc d'une part de la présence d'un site de ponte attractif, mais aussi de l'intensité des stimuli émanant de ce dernier.

De même, la texture du substrat semble également influencer le nombre d'œufs pondus. Ainsi, lorsque soumises à cinq sites de pontes contenant des graines de petit pois imbibées et placées sur du sable de respectivement cinq granulométries différentes, les femelles ont préférentiellement pondu dans les sites contenant les grains inférieurs à 0.21 – 0.25mm et le site accueillant les grains de 0.59 – 1.98mm (Barlow 1965).

## Objectifs

L'objectif de ce travail de fin d'études est d'évaluer l'impact de la présence de matières organiques en décomposition dans le sol sur le comportement de ponte des femelles *Delia platura*.

Pour ce faire, différents sous-objectifs ont été fixés:

- (1) Mise en place d'un élevage de *Delia platura* afin d'obtenir des femelles gravides ;
- (2) Mise en culture de deux types de couverts végétaux : de l'avoine et un mélange triple espèces comprenant le sarrasin, la carthame et le radis chinois de la variété Structurator. Ce mélange a été sélectionné dans le cadre d'un projet de recherche, mené par la société Medinbio, visant à mettre en place une méthode de lutte alternative contre *Delia platura*. Selon cette stratégie de lutte, il conviendrait de faire coïncider la date de semis des cultures à risques avec une teneur plus faible en matière organique en décomposition issue du couvert végétal d'interculture afin de limiter l'attraction des femelles. Ceci pourrait être réalisé via l'instauration d'un couvert d'interculture hautement fermentescible afin de favoriser la fermentation microbienne dans le but d'accélérer sa décomposition et, *in fine*, décaler le pic d'attractivité plus tôt dans la saison (Figure 13). Le mélange sélectionné devait donc subir une décomposition plus rapide en comparaison du couvert fréquemment employé en interculture (*i.e.* l'avoine). De surcroît, une application de microorganismes accélérant la décomposition du couvert hautement fermentescible devrait accentuer la différence d'attractivité à une même date de semis.

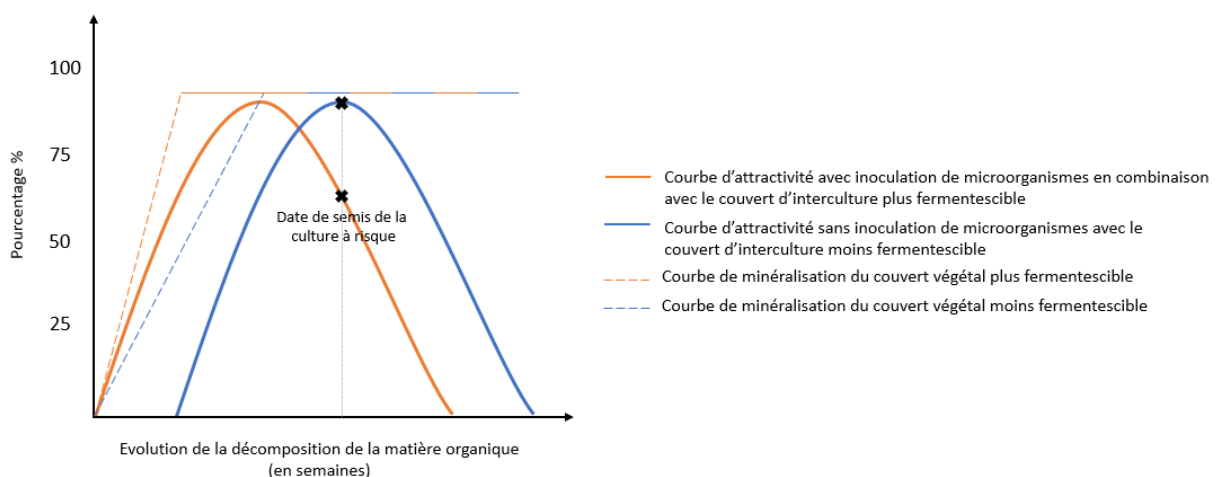


Figure 13. Courbes théoriques estimées de l'attractivité des femelles *Delia platura* vis-à-vis de la matière organique en décomposition au cours du temps.

- (3) Mise en place d'essais permettant l'analyse comportementale devant permettre de tester les hypothèses suivantes :
  - a. les femelles *D. platura* gravides préfèrent pondre leurs œufs dans un sol contenant de la matière organique en décomposition ;
  - b. l'attractivité des femelles *D. platura* gravides vis-à-vis d'un sol contenant de la matière organique en décomposition évolue dans le temps. Nous émettons l'hypothèse que l'attractivité augmente avec la teneur en matière organique en décomposition avant de décroître (Figure 13) ;
  - c. le couvert triple doit décaler le pic d'attractivité du sol plus tôt dans la saison, limitant ainsi les dommages causés par *D. platura*.

- (4) Caractérisation du profil odorant des différents types de matière organique en décomposition et son évolution dans le temps ; Nous émettons l'hypothèse que le profil odorant est différent ce qui explique, au moins en partie, les préférences de sites de ponte de *D. platura*.
- (5) Analyses de substrats afin d'observer l'évolution du rapport C/N en relation avec la décomposition de la matière organique ; Nous émettons l'hypothèse que le rapport C/N permet de mettre en évidence la décomposition au cours du temps. En effet, une diminution du C/N devrait être observée.

## Matériels et Méthodes

### Elevage de *Delia platura*

Les mouches *Delia platura* ont été élevées à une température de 23°C, une humidité relative de 55% et une photopériode de 16h – 8h de lumière et d'obscurité respectivement. Le dispositif d'élevage consistait en une cage de 30cm x 30cm, dans laquelle une source d'eau distillée était installée par le biais d'un coton d'ouate inséré dans un flacon en verre Pyrex® de 100ml (McClanahan and Miller 1958). Une diète sèche composée de sucre en poudre, de lait écrémé en poudre et de farine de soya biologique (10 :10 :1), proposée par l'unité de recherche du Département de biologie du Collège Montmorency, ainsi qu'une solution de levure de boulangerie (5%) (McClanahan and Miller 1958) étaient installées. La première était mise à disposition des mouches dans la partie supérieure d'une boîte de pétri de 90mm de diamètre. La seconde était également disposée dans une boîte de pétri de dimension 55mm dans laquelle 20ml de solution étaient imbibés sur deux disques de coton d'ouate. Cette dernière était alors placée au centre de la partie inférieure d'une seconde boîte de pétri de 90mm de diamètre et le dessus d'une bouteille en plastique (100mm de haut x 80mm de diamètre) était disposé au-dessus de ce dispositif afin de limiter l'évaporation. Le couvercle était au préalable percé d'un trou de 10mm x 10mm afin de permettre l'accès à la diète (Figure 14).

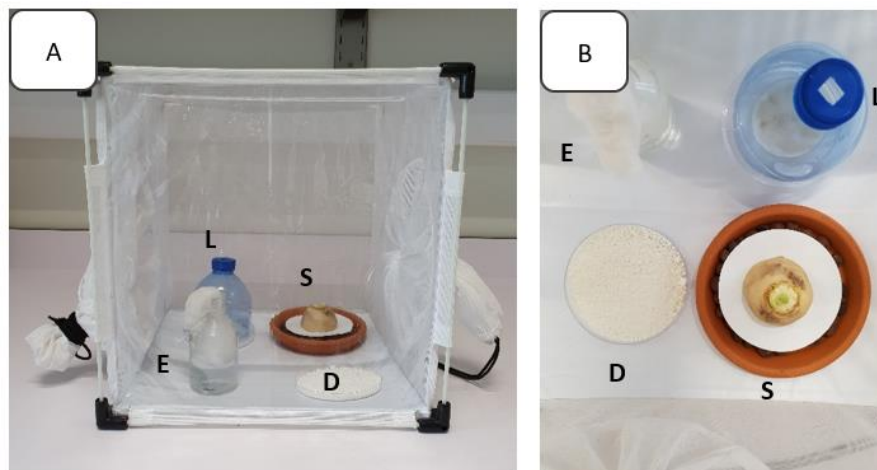


Figure 14. Dispositif d'élevage de *Delia platura*. (A) Cage de 30cmx30cm avec un site de ponte (S), de la diète sèche (D), une solution à 5% de levure (L) et une source d'eau distillée (E). (B) Disposition de la diète sèche, de la solution à 5% de levure, du site de ponte et de la source d'eau distillée.

Une fois les femelles testées dans les essais comportementaux (voir section « Essais comportementaux »), un site de ponte était installé dans la cage d'élevage afin de développer la population de mouches. Le site de ponte a été mis en place selon un dispositif développé par l'unité de recherche du Département de biologie du Collège Montmorency. Ce dernier était constitué d'une soucoupe d'argile (130mm de diamètre) dont le fond avait été rempli de 40 grammes de billes d'argile expansée humidifiées de granulométrie de 8 à 18mm. Un disque de papier filtre humide de 90mm de

diamètre était alors placé sur les billes d'argile. Pour finir, un demi navet jaune était positionné au centre de ce disque, face coupée vers le bas. La base du navet était coupée tous les 2 jours afin de retirer la portion défraîchie de ce dernier. Le disque de papier filtre était réhumidifié tous les deux jours afin de conserver le légume frais plus longtemps et ainsi conserver l'odeur attractive pour les femelles. Ce dernier était remplacé par un demi navet frais au bout d'une semaine (Figure 15).

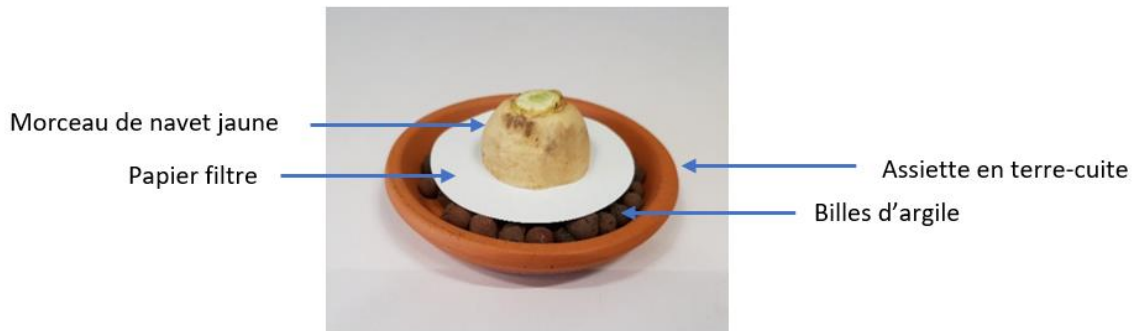


Figure 15. Site de ponte mis en place dans le dispositif d'élevage de *Delia platura*.

Les œufs étaient récoltés trois fois par semaine et placés dans un dispositif à part constitué d'une boîte en plastique de dimension 155mm x 100mm x 60mm. Le couvercle de cette dernière était percé d'une ouverture de 30mm x 50mm afin d'aérer le dispositif. La diète utilisée pour la production de pupes était tirée d'un article proposé par Ishikawa et al. en 1983 et recommandée par l'unité de recherche du Département de biologie du Collège Montmorency (Ishikawa et al. 1983). Une couche de diète de 200g était coulée au fond du récipient en plastique. Cette dernière devait être conservée au frigo à une température de 4°C pour une durée de 24h avant utilisation. Lorsque les œufs étaient placés sur la diète, une couche de 200g de vermiculite humide, préalablement trempée dans de l'eau distillée pendant 2h, était placée au-dessus des œufs. Cette dernière maintenait la diète humide plus longtemps. Un morceau de tissu en mousseline était alors disposé par-dessus la boîte afin d'éviter toute intrusion dans le dispositif. La boîte était fermée par le couvercle en plastique afin d'éviter que les larves ne sortent du dispositif (Figure 16). Ces dispositifs étaient maintenus à une température de 23°C afin que les larves y réalisent leur développement. Les pupes étaient récoltées au bout de 3 semaines et placées dans le frigo à 4°C en attente d'utilisation.



Figure 16. Dispositif d'élevage des larves *Delia platura*.

## Mise en place des types de sol

### Couverts végétaux

Afin de tester l'attractivité des femelles *D. platura* gravides vis-à-vis (a) d'un sol contenant de la matière organique en décomposition, (b) du type de matière organique enfouie (c) d'un stade de la décomposition de la matière organique enfouie et (d) la décomposition accélérée du couvert triple

les modalités suivantes ont été mises en place :

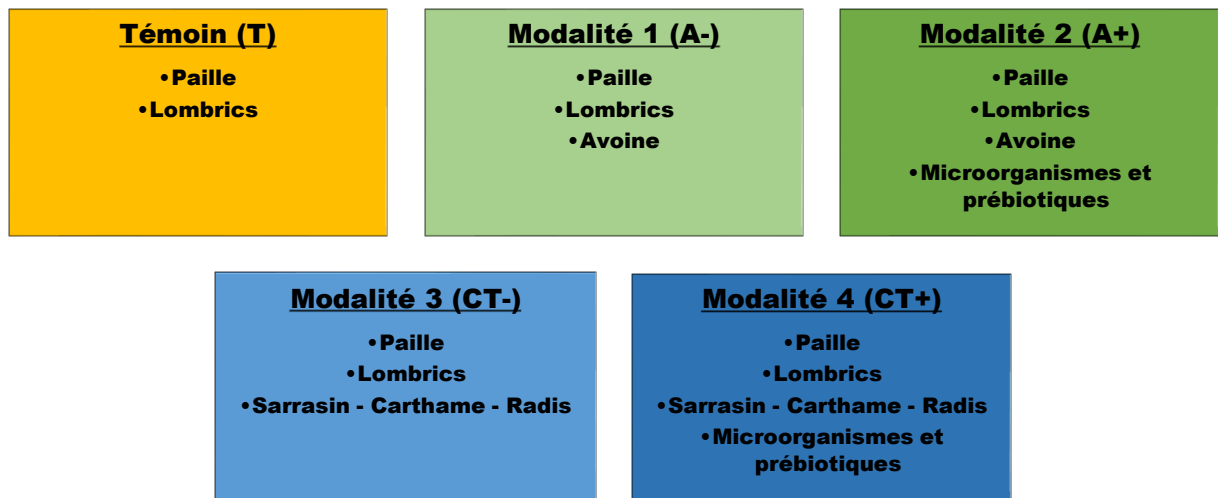


Figure 17. Liste des modalités soumises aux prélèvements d'odeurs, aux choix des femelles *Delia platura* et aux analyses C/N.

Deux types de couverts végétaux d'interculture ont ainsi été testés lors des essais : l'avoine blanche (*Avena sativa*) (Gembloux Agro-Bio Tech) et un mélange triple espèces constitué de sarrasin (*Fagopyrum esculentum*), carthame (*Carthamus tinctorius*) et radis chinois Structurator (*Raphanus longipinnatus*) (SPRL Sneessens). Ce mélange multi-espèces a été sélectionné dans le cadre d'un projet de recherche, mené par la société Medinbio, visant à mettre en place une méthode de lutte alternative contre *Delia platura*. Selon cette stratégie de lutte, il conviendrait de faire coïncider la date de semis des cultures à risques avec une teneur plus faible en matière organique en décomposition issue du couvert végétal d'interculture afin de limiter l'attraction des femelles.

Le mélange a également été réfléchi dans le but de profiter de la synergie des différentes espèces pendant l'interculture. Ainsi, le sarrasin permet entre-autre de maîtriser les adventices de par sa couverture du sol importante mais aussi de solubiliser les réserves de phosphore du sol (Sem-Partners 2016b). Le radis chinois, quant à lui, a été sélectionné pour sa capacité à restructurer et décompacter les sols lors des intercultures grâce à son système racinaire. Il limite également l'érosion des sols et joue un rôle important dans le piégeage des reliquats azotés avec une plus grande quantité d'azote absorbée par rapport au radis fourrager (Arvalis n.d.; Sem-Partners 2016a). Le carthame possède également un système racinaire puissant permettant de restructurer le sol et participe à la fixation des reliquats d'azote (Sem-Partners, 2017).

L'avoine et le mélange triple ont respectivement été semés à une densité de 60kg/ha et 15kg/ha. Le substrat était composé à 2/3 de terreau universel pour plantation et rempotage (teneur en matière organique de 10% avec ajout d'1kg/m<sup>2</sup> d'un engrais NPK 14 – 16 – 18)(Oh Green®) et à 1/3 de sable du Rhin.

Les semis ont par la suite été placés pour croissance en serre. Ces derniers étaient soumis à une température moyenne de 25°C avec une variation journalière naturelle de la luminosité et arrosés tous les jours.

Après une croissance de six semaines (Figure 18), les couverts ont été coupés en fragments de 2 et 3 cm afin de reproduire un broyage mécanique. Suite à cela, 100g de matériel végétal frais (avoine ou couvert triple) ont été incorporés dans 7.4kg du même substrat que cité auparavant et contenant les racines des

couverts végétaux respectifs. De plus, 50g de paille d'animalerie (équivalent de 4T/ha) ont été ajoutés dans chaque modalité afin de simuler le précédent cultural, une céréale, fréquemment présent avant une culture à risque, à savoir le pois de printemps. Après homogénéisation du mélange, la moitié de ce dernier fut transférée dans des bacs en plastique de 40cm de diamètre et 40cm de hauteur (Elho®). Six lombrics issus d'un élevage de lombricompost (Pur Ver®) ont été utilisés dans chaque modalité afin qu'ils entament la décomposition. Ces derniers ont ainsi permis de réduire la taille des fragments dans le but d'augmenter la surface d'attaque disponible pour les microorganismes. Après ajout des lombrics, la seconde moitié du mélange fut additionnée (Figure 20). Pour finir, 1.3L d'eau ont été ajoutés afin d'humidifier le substrat, l'excès d'eau ayant été récupéré dans des soucoupes en plastique (Elho®) placées en-dessous des bacs de diamètre similaire. Des précipitations de 3mm/m<sup>2</sup> ont par la suite été simulées chaque semaine pour l'ensemble des bacs d'essais afin de maintenir une humidité propice aux lombrics, aux microorganismes et à la décomposition des matières végétales enfouies.

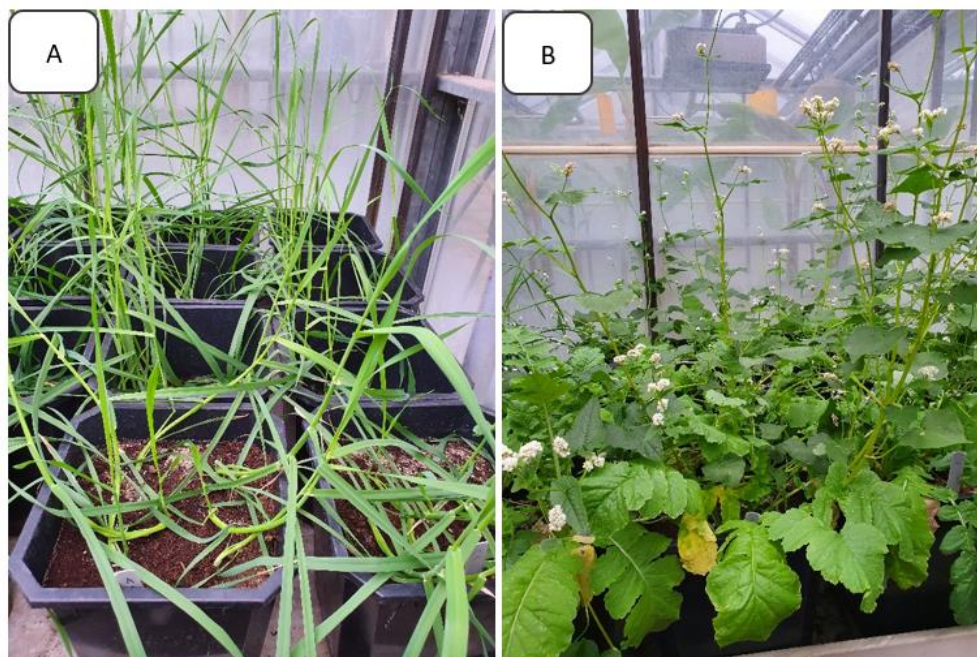


Figure 18. Couverts végétaux après six semaines de croissance. (A) Avoine blanche. (B) Couvert triple constitué de Sarrasin, Carthame et Radis chinois.

Chaque modalité fut répliquée trois fois. Les 15 bacs ont été disposés selon un dispositif complètement aléatoire (cfr Figure 19) et soumis à une température moyenne de 21°C.

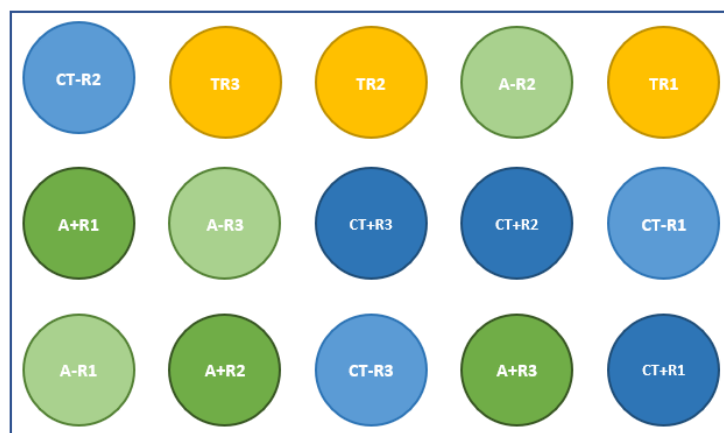


Figure 19. Dispositif complètement aléatoire des cinq modalités testées vis-à-vis de l'attractivité des femelles *Delia platura* pour du matériel végétal en décomposition.



Figure 20. Dispositif expérimental regroupant les cinq modalités disposées de manière complètement aléatoire.

### Microorganismes et pré-biotiques

Comme mentionné précédemment, un mélange de microorganismes et prébiotiques a été ajouté dans les modalités M2 et M4 afin de stimuler la décomposition des couverts végétaux concernés. Ainsi, 0.378gr (équivalent de 30kg/ha) d'un produit contenant une souche de champignon entomopathogène *Trichoderma harzianum* et la bactérie *Bacillus amyloliquefaciens* (dilution 10%)(Gaia Malto®) et 0.126gr (équivalent de 10kg/ha) de chitine ont été incorporés. En effet, un nombre important de bactéries et champignons ont été identifiés comme pouvant utiliser la cellulose, polysaccharide majeur des parois des végétaux, comme source de carbone pour leur métabolisme. Les champignons de genre *Trichoderma*, omniprésents dans le sol, sont ainsi connus pour coloniser les matériaux celluloseux comme du matériel végétal en décomposition (Schuster and Schmoll 2010). Il a été démontré que ces microorganismes saprophytes, lignolytiques, chitinolytiques et cellulolytiques sont capables de réduire le carbone organique ainsi que le rapport C/N de matières organiques enfouies (Sharma, Singh, and Sharma 2012). De plus, la bactérie *Bacillus amyloliquefaciens* produit des cellulases, enzymes permettant de dégrader la cellulose (Abou-Taleb et al. 2009; Lee et al. 2008). L'hypothèse formulée était donc que l'inoculation de *T. harzianum* et *B. amyloliquefaciens* devait accélérer la dégradation des couverts végétaux. Ceci pourrait se traduire par une diminution de l'attrait des femelles vis-à-vis des sols de manière plus rapide dans le temps par rapport aux modalités non inoculées (Figure 13). Comme mentionné précédemment, un apport de chitine, source de carbone, a également été réalisé afin de stimuler la vie microbienne des substrats et favoriser la croissance des microorganismes inoculés (Cruz et al. 1992; Paul Das et al. 2012; Urbina-Salazar et al. 2019; Wang et al. 2002).

### Essais comportementaux

#### Mise en place du dispositif expérimental

Afin d'identifier le dispositif expérimental le plus adapté pour mener les essais comportementaux, différents pré-tests ont été réalisés au préalable. Des femelles de la tranche d'âge 7 à 14 jours et 14 à 21 jours ont ainsi été testées afin de déterminer la tranche d'âge la plus fertile (en nombre d'œufs pondus). En plus des différentes tranches d'âge testées, nous avons aussi comparé diverses méthodes de

proposition des substrats vis-à-vis des femelles : olfactomètre, boîte de pétri, cage d'élevage ou encore récipient en plastique utilisé dans le dispositif pour la croissance des larves.

Le premier dispositif testé consistait en un tube cylindrique en verre, ne contenant aucun substrat, et dans lequel une ou dix femelles étaient introduites en son centre. Celles-ci avaient le choix entre un coton imbibé d'eau et un coton imbibé d'une solution à 5% de levure de boulangerie, identique à celle fournie dans l'élevage. Suite à l'indécision des individus face au choix qu'il leur était proposé de réaliser pendant le laps de temps imparti, cette méthode fut abandonnée.

Un autre dispositif testé était composé d'une boîte de Petri de 90mm de diamètre dans laquelle une femelle avait le choix entre un morceau de 3g de navet ou 3g de sable disposés séparément dans des dessous de boîtes de pétri de 40mm de diamètre. Après 48h, aucune ponte statistiquement significative n'a été observée et le dispositif a également été abandonné.

Le troisième dispositif testé était constitué d'une cage d'élevage de 620mm x 240mm x 240mm dans laquelle étaient disposés deux sites de pontes (Weston and Miller 1989). Les femelles avaient le choix entre le substrat de ponte utilisé dans le dispositif d'élevage, ou du sable, faisant office de témoin négatif. Les femelles, âgées soit de 7 à 14 jours ou de 14 à 21 jours, étaient autorisées à pondre pendant 48h, après quoi le nombre d'œufs pondus étaient comptés. Les résultats ont montré d'une part qu'un nombre plus important d'œufs étaient pondus pour les femelles plus jeunes et d'autre part que le dispositif fonctionnait avec plus de 96% d'œufs pondus sur le site de ponte plutôt que sur le témoin négatif. Néanmoins, ce dispositif avait l'inconvénient de prendre beaucoup de place compte tenu du nombre de modalités et de répétitions souhaitées avec de surcroît une limitation en termes de matériel disponible. Ce dispositif, malgré ses bons résultats, a donc également été abandonné.

Nous avons donc valorisé les bases du précédent dispositif, en utilisant une boîte en plastique de dimension 155mm x 100mm x 60mm dans laquelle 10 femelles avaient le choix entre un morceau de navet ou du sable pour pondre. Ces sites de ponte étaient disposés séparément dans des dessous de boîte de pétri de 55mm de diamètre. Encore une fois, des femelles âgées de 7 à 14 jours et de 14 à 21 jours ont été testées pendant 48h avec un choix entre le navet et le sable. Ce dispositif s'est avéré être performant avec un nombre conséquent d'œufs pondus, en particulier pour les femelles plus jeunes. De plus, étant composé de boîtes en plastique, il n'y avait pas de limitation de matériel et un nombre plus important de répétitions pouvaient être réalisées du fait de la taille réduite du dispositif. De ce fait, après exposition aux différents dispositifs, les femelles de la tranche d'âge 7-14 jours ont été sélectionnées de même que le dispositif avec les récipients en plastique mentionnés ci-dessus.

Les femelles gravides étaient sélectionnées pour les essais sur base de la présence d'un abdomen gonflé, synonyme de la présence d'œufs (Figure 21).



Figure 21. Femelle gravide *Delia platura* sélectionnée pour les essais comportementaux.



## Procédure

Afin de mettre en évidence (a) l'attraction des femelles *D. platura* gravides vis-à-vis d'un sol contenant de la matière organique en décomposition, (b) l'attraction des femelles *D. platura* gravides vis-à-vis du type de matière organique enfouie, (c) l'attrait des femelles pour un stade de la décomposition de la matière organique enfouie et (d) la décomposition accélérée du couvert triple, des essais comportementaux ont été mis en place. Ainsi, 5g de substrat contenant des résidus de couvert végétal et de paille ont été placés dans le dessus d'une boîte de pétri de 55mm de diamètre ainsi que 5g de la modalité témoin dans le dessus d'une deuxième boîte de pétri de même dimension. Un mélange composite issu des trois répétitions était au préalable réalisé afin d'obtenir un substrat représentatif des modalités. En effet, un échantillon de 30g était prélevé en croix dans les trois bacs d'essai accueillant une même modalité. Suite à cela, un échantillon composite de 90g était obtenu. Les 5g testés dans les essais comportementaux étaient alors prélevés au sein de ces 90g. De plus, une source d'eau distillée était mise à disposition des femelles au moyen d'un coton d'ouate imbibé placé dans le dessous d'une boîte de pétri de dimension similaire. Le tout était placé dans une boîte en plastique de dimension 155mm x 100mm x 60mm. Dix femelles gravides étaient alors prélevées, endormies au CO<sub>2</sub> et placées dans le dispositif. Un morceau de mousseline était placé par-dessus la boîte afin d'éviter que les femelles ne s'échappent par l'ouverture de 30mm x 50mm découpée dans le couvercle. Cette dernière avait été découpée afin que les molécules odorantes ne saturent pas l'environnement des mouches (Figure 22). De cette manière, les femelles pouvaient à la fois sentir et toucher les sites de ponte, utilisant de ce fait les stimuli olfactifs et de contact afin d'optimiser l'oviposition (Gouinguéné P. and Städler 2006).

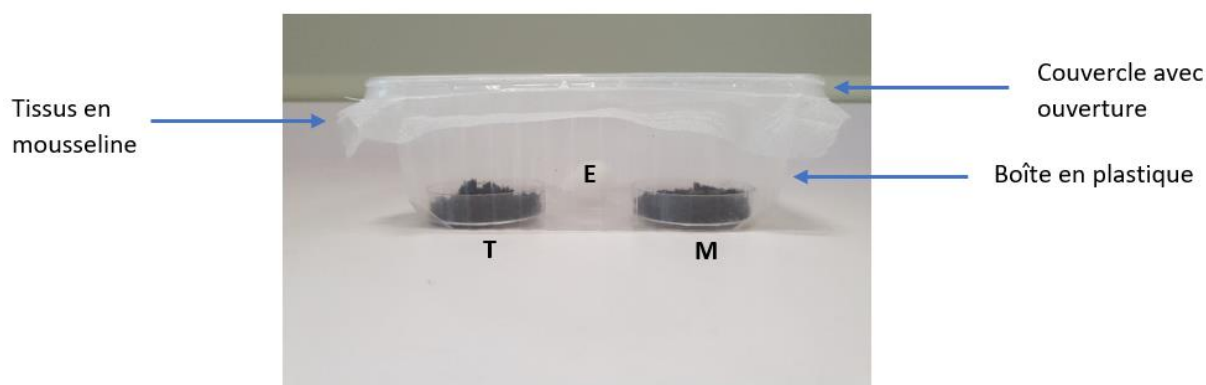


Figure 22. Dispositif expérimental relatif aux essais comportementaux des femelles *Delia platura* avec une source d'eau distillée (E), la modalité testée (M) et le témoin (T).

Les femelles disposaient ainsi du double choix pendant une période de 48h au terme de laquelle les œufs étaient comptés (Yu et al. 1975). Chaque double choix était répété quatre fois (Figure 23). De plus, un double choix supplémentaire, navet vs sable comme mentionné dans les pré-tests, était proposé à dix femelles gravides afin de vérifier la pertinence du dispositif mis en place à l'instant T. L'ensemble du dispositif expérimental était disposé dans un local avec une alternance 12h de lumière – 12h d'obscurité et soumis à une température de 21°C. Les essais comportementaux étaient réalisés à un intervalle de 2 semaines pendant une période de 8 semaines.

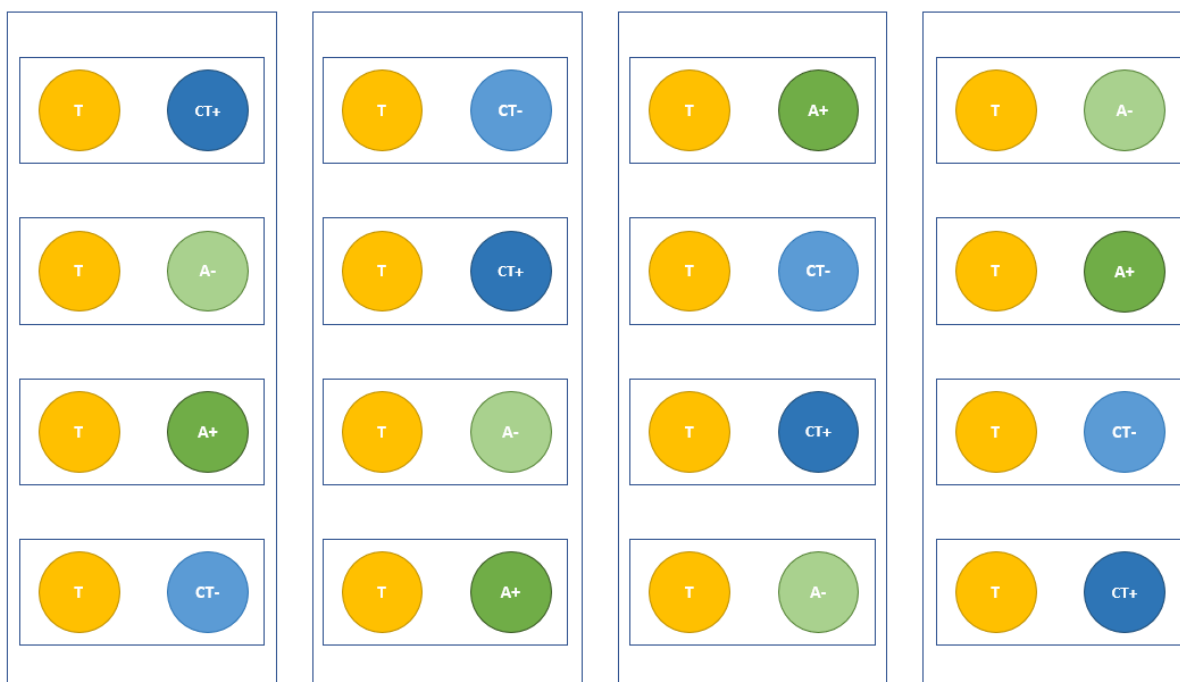


Figure 23. Dispositif expérimental des essais comportementaux vis-à-vis de l'attrance des femelles *Delia platura* pour un sol.

Deux semaines avant le début des essais, 500 pupes ont été sorties du frigo. Ceci a permis d'obtenir une population âgée de 7 à 14 jours lors des premiers tests comportementaux ainsi qu'un nombre minimum de 160 femelles gravides nécessaires pour les essais. Cette opération fut répétée toutes les deux semaines sur une durée de 8 semaines.

Afin de mettre en évidence (a) l'attrance des femelles *D. platura* gravides vis-à-vis d'un sol contenant de la matière organique en décomposition, (b) l'évolution de l'attractivité dans le temps et (c) la décomposition accélérée du couvert triple, un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM, generalized linear mixte model) a été utilisé. Suite à la non normalité et non homoscedasticité des données, une transformation logarithmique fut réalisée au préalable de l'analyse. Afin de réaliser une comparaison multiple, un test de Tukey fut réalisé.

### Prélèvement des composés organiques volatils

Les prélèvements d'odeurs ont eu lieu toutes les deux semaines pendant une durée de 8 semaines afin d'obtenir l'évolution dans le temps du profil odorant de la décomposition des couverts végétaux. Les dates de prélèvement coïncidaient à chaque fois avec les essais comportementaux, réalisés en parallèle. Pour rappel, le dispositif comptait cinq modalités (Figure 17) : un témoin sans couvert végétal incorporé, de l'avoine incorporé sans microorganismes et prébiotiques, de l'avoine incorporé en présence de microorganismes et prébiotiques, un couvert triple incorporé sans microorganismes et prébiotiques et pour finir le couvert triple incorporé avec des microorganismes et des prébiotiques.

Pour réaliser ces prélèvements, des cartouches Tenax Carbograph (Markes International® Ltd., UK) étaient insérées dans la partie supérieure de sondes métalliques (Figure 24). Ces cartouches, de dimension 8.9cm de long sur 0.64cm de diamètre, étaient constituées d'acier inoxydable. Les sondes creuses en métal inoxydable (VOC-Mole™) de 275mm de long et 30mm de diamètre étaient enfoncées dans le substrat de telle sorte que seule la partie supérieure demeure en dehors du sol (Figure 25) (Campos-Herrera et al. 2013). Ces sondes étaient pourvues de 16 ouvertures de 6mm de diamètre au travers desquelles les composés organiques volatils émis dans les bacs étaient aspirés (Figure 24). Suite à la décomposition et aux prélèvements répétés pour les analyses de substrat, la première rangée d'ouvertures dû être colmatée avec du Téflon® afin d'éviter toute contamination due à l'air extérieur.

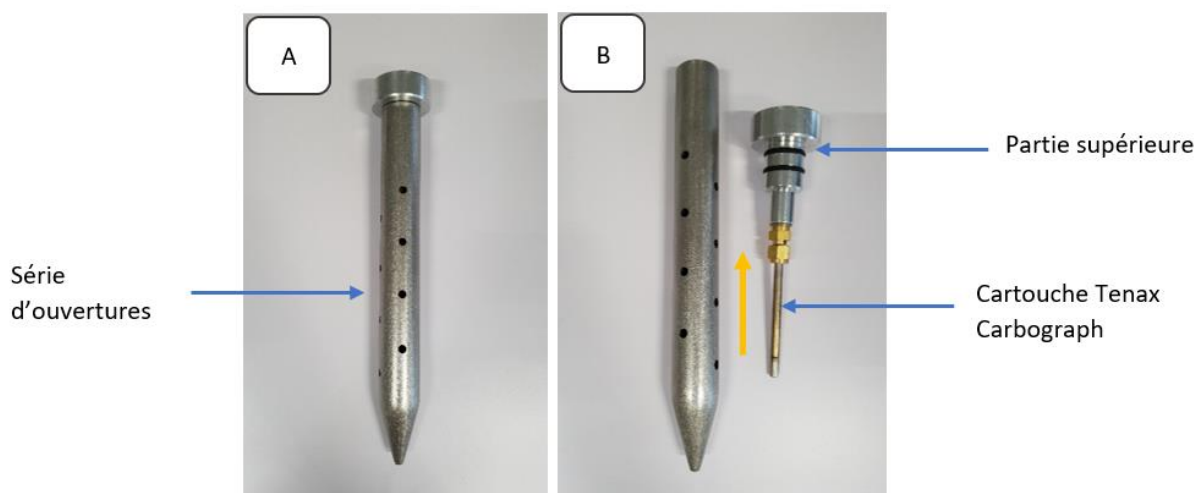


Figure 24. Sondes et cartouches utilisées pour les prélèvements d'odeurs dans le sol. (A) Sonde assemblée. (B) Cartouche insérée dans la partie supérieure de la sonde avec le sens du flux d'air indiqué (flèche jaune).

La partie supérieure de la sonde était reliée à une pompe à air (GilAir® Plus) par le biais d'un tuyau en PTFE. L'air présent dans le substrat était entraîné dans les cartouches au moyen d'un système « pull » mis en place par ces pompes. Le prélèvement s'étendait sur une période d'une heure avec un débit d'air de 170ml/min (paramètres définis sur base de tests réalisés au préalable). Chaque prélèvement était répliqué trois fois, correspondant aux répétitions R1, R2 et R3 de chacune des modalités (Figure 19).

Après chaque utilisation, la partie inférieure des sondes subissait un nettoyage en quatre étapes (bain d'eau chaude, bain d'eau froide, bain d'eau froide déminéralisée et pour finir un séchage en étuve à 60°C pendant 20min (modèle KBW-240, Binder®) afin de les débarrasser des odeurs des prélèvements précédents. La partie supérieure était quant à elle nettoyée à sec. Une fois refroidies, les sondes étaient réutilisées pour les prélèvements suivants. L'ensemble des 15 prélèvements étaient réalisés sur la même journée.

Les cartouches étaient conditionnées avant chaque prélèvement pendant 15h à une température de 310°C sous un flux d'azote de 50ml/min (modèle TC-20, Markes International Ltd., UK).



Figure 25. Dispositif de prélèvement des odeurs avec les sondes reliées aux pompes à air créant un flux d'air de 170ml/min.

Suite aux prélèvements, les cartouches étaient analysées à l'aide d'un chromatographe à phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC-MS) (modèle QP2020 NX, Shimadzu, Japon). Un volume de 5 $\mu$ l d'un standard interne, le butylbenzène (CAS number: 104-51-8.99%, Sigma Aldrich), était au préalable injecté dans chaque cartouche à une concentration de 8.5 ng/ $\mu$ l. Le contenu des cartouches était alors désorbé à 280°C pendant 5 minutes, cryoconcentré à -30°C pour subir ensuite une deuxième montée en température jusque 280°C (modèle TD30R, Shimadzu, Japon). La colonne était ensuite maintenue à 40°C pendant 5 minutes. Par la suite, cette dernière subissait une montée en température jusqu'à 250°C à un taux de 5°C/min. Une fois cette valeur atteinte, la température augmentait directement jusque 300°C à un taux de 20°C/min pour ensuite rester à cette température pendant 5 minutes. Chaque programme avait ainsi une durée de 54.50min. Le split ratio était de 3.

Afin de réaliser des analyses statistiques sur les profils odorants obtenus suite aux prélèvements, une intégration manuelle des pics de chaque chromatogramme fut réalisée (GCMSsolution Software, Shimadzu, Japon). Par la suite, un alignement des chromatogrammes fut réalisé à l'aide du programme GCAligner 1.0 sur base des temps de rétention des différents composés (Dellicour and Lecocq 2013). Dans le but de détecter d'éventuelles différences de composition des profils odorants des matières végétales en décomposition ainsi que l'évolution dans le temps de ces profils respectifs, une analyse multivariée par test de permutation (PERMANOVA) fut réalisée. Pour finir, une analyse en composantes principales (ACP) fut effectuée afin de visualiser les similitudes et différences existant entre les profils odorants des deux types de couverts végétaux en décomposition et la modalité ne contenant aucun matériel végétal en décomposition. La PERMANOVA n'a pas montré de différences sur les analyses statistiques. Par conséquent, la méthode d'ordination a permis d'observer des différences entre les groupes sur base des distances.

## Analyses minérales

Afin de déterminer si la décomposition des couverts végétaux s'effectuait de manière optimale, diverses analyses ont été réalisées à un intervalle de 3 semaines. Pour réaliser les différentes analyses, des carottages ont été effectués sur une profondeur de 15cm selon un dispositif en croix dans les bacs de 40cm de diamètre dans lesquels les essais étaient réalisés. Après étiquetage, ces échantillons étaient envoyés au Centre Provincial de l'Agriculture et de la Ruralité à La Hulpe pour analyses.

### Carbone organique

La détermination du carbone organique dans le substrat et dans les fourrages a été réalisée par la méthode de la combustion sèche, selon la norme ISO10694. Les échantillons ont été prélevés selon un schéma en croix et à une profondeur de 15cm dans les bacs d'essais de 40cm de diamètre pour les analyses du substrat.

Ces derniers ont ensuite été broyés à une dimension inférieure à 250µm avant d'être analysés. Une élévation de température (>1000°C) couplée à un flux d'oxygène permet de dégrader le carbone inorganique afin d'éliminer les carbonates au préalable des analyses (Caria, Proix, and Ciesielski 2007). Après application de ce traitement, le carbone organique oxydé est libéré sous forme de gaz, le dioxyde de carbone (Caria, Proix, and Ciesielski n.d.).

Après oxydation, le CO<sub>2</sub> est véhiculé par une gaz inerte (hélium) afin de subir une réduction à l'aide de paillettes de cuivre réduit. Il passe ensuite dans une colonne chromatographique afin de séparer les gaz élémentaires (l'azote total est dosé en même temps. cfr paragraphe suivant). Suite à leur séparation, les gaz sont transférés dans un détecteur, le catharomètre qui permet de déterminer la quantité de gaz formée. Celui-ci quantifie les gaz sur base de leur conductivité thermique. A la suite de l'analyse, le pourcentage en carbone de l'échantillon est déterminé à l'aide de la formule suivante (Figure 26), dans laquelle K = conductivité thermique, A = aire du pic de l'échantillon, b = blanc et m = masse d'échantillon pesée (≈ 25mg).

$$\% = \frac{K \times (A - b)}{m}$$

Figure 26. Calcul de la teneur en carbone organique et azote organique total (Caria et al. n.d.).

### Azote total

De même que pour le carbone organique, des analyses ont été réalisées, selon les normes ISO13878 et ISO16634-1, au même intervalle que cité précédemment. Ces dernières ont ainsi pu donner une valeur de l'azote total pour le substrat et les fourrages.

La méthode d'analyse des échantillons de substrat utilisée est la même que pour la détermination du carbone organique. Les échantillons ont été prélevés suivant un schéma en croix à une profondeur de 15cm. Suite à l'élévation de la température, les formes minérales et organiques de l'azote sont oxydées et/ou volatilisées en oxyde d'azote (NO<sub>x</sub>) et azote moléculaire (N<sub>2</sub>). Toutes les formes d'azote sont ensuite transformées en N<sub>2</sub> (Institut scientifique de service public (ISSeP) 2014). Après avoir subi une oxydation, le N<sub>2</sub> est envoyé dans le catharomètre pour quantification.

### Rapport C/N

Le rapport C/N des végétaux enfouis permet de prévoir au mieux leur évolution dans le sol et par conséquent la vitesse potentielle de leur décomposition. En effet, ce dernier représente le rapport entre les composés difficilement décomposables sur ceux facilement décomposables et traduit donc leur facilité de décomposition (Blum et al. 2018). Une analyse des couverts végétaux d'interculture a donc été effectuée au préalable de leur incorporation.

Suite à leur incorporation, les matières organiques subissent des biotransformations ayant comme conséquence leur minéralisation. Afin de déterminer le coefficient de minéralisation des couverts végétaux, le rapport carbone sur azote du substrat a été utilisé. Ce dernier permet de caractériser l'évolution des matières organiques enfouies dans le sol. En effet, le carbone est minéralisé de manière plus rapide que l'azote ce qui conduit à une diminution du rapport C/N du substrat au cours du temps (Roger-Estrade 2004).

Afin de réaliser une analyse statistique des rapports C/N obtenus, un modèle linéaire généralisé (GLM, generalized linear model) a été utilisé. De plus, le modèle le plus parcimonieux fut sélectionné en utilisant la méthode des modèles emboîtés. Une comparaison multiple fut réalisée à l'aide d'un test de Tukey.

## Résultats

### Prélèvement des composés organiques volatils (COVs) pour les différents types de sol

Pour rappel, nous avons collectés les COVs émis par des sols sous les différentes modalités suivantes :

- un sol témoin ne contenant aucun couvert végétal en décomposition (T),
- un sol contenant de l'avoine en décomposition avec inoculation de microorganismes accélérant cette dernière (A+),
- un sol contenant de l'avoine sans inoculation de microorganismes (A-),
- un sol avec un couvert plus hautement fermentescible constitué de sarrasin, carthame et radis chinois, avec inoculation (CT+) et
- un dernier sol avec ce couvert triple sans inoculation de microorganismes (CT-).

Les prélèvements d'odeurs ont mis en évidence un nombre plus important en moyenne de COVs émis pour les modalités contenant de la matière organique en décomposition par rapport au sol ne contenant pas de couvert végétal en décomposition (Figure 27). La liste des composés est disponible en annexe (Annexes 3 à 6).

Semaine	T	A-	A+	CT-	CT+
<b>1</b>	10	13	11	15	15
<b>2</b>	23	24	24	19	25
<b>3</b>	16	14	14	18	17
<b>4</b>	21	22	25	27	20

Figure 27. Nombre de composés organiques volatils émis lors des semaines 1, 2, 3 et 4 de test pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+.

Néanmoins, il semblerait qu'une plus grande quantité (exprimée en ng) de COVs aient été émis dans le témoin pour les semaines 2, 3 et 4. A l'inverse, une quantité plus importante est comptabilisée en semaine 1 dans les modalités contenant les couverts en décomposition avec de surcroît une émission nettement supérieure pour la modalité A+ en semaine 1 (Figure 28).

Semaine	T (ng)	A- (ng)	A+ (ng)	CT- (ng)	CT+ (ng)
<b>1</b>	14,924893	32,3612688	451,479388	74,3979227	48,0710989
<b>2</b>	53,8066785	45,0409959	33,2927927	22,7014645	41,439742
<b>3</b>	48,1321674	13,8369408	33,0874691	29,5334532	48,3260812
<b>4</b>	95,1658026	52,5924379	54,0747067	53,345864	16,9626061

Figure 28. Somme des COVs émis pour les semaines 1, 2, 3 et 4 pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+ exprimée en ng.

Des ACPs ont été réalisées en isolant chaque modalité au cours du temps et en comparant les modalités entre elles au sein d'une semaine de test. Ceci a permis de mettre visuellement en évidence les différences de composition de ces modalités.

L'hypothèse émise était que le profil odorant étant différent, ceci expliquerait, au moins en partie, les préférences de sites de ponte de *D. platura*.

Cette analyse a permis de montrer que le profil en COVs évoluait au cours du temps (analyse réalisée pour toutes les modalités sol testées confondues) ( $p = 0,001$ ).

De plus, une différence significative est à souligner pour la semaine 1 ( $p = 0,036$ ). Cette différence s'observe entre la modalité témoin et la modalité regroupant les deux couverts végétaux avec application de microorganismes (MO = avoine traité + couvert triple traité avec des microorganismes). Les modalités semblent être séparées par la dimension 2 (Figure 30). Différents indicateurs chimiques peuvent être cités pour cette semaine de test en comparant les profils odorants du sol témoin aux sols contenant des microorganismes. Nous retrouvons en majorité de l'acide glutarique, de l'acide phosphonique, du nonanal, de l'hexane, 3-méthyl, du benzaldéhyde et du 3-octanone (Figure 29).

Indicateur chimique	Modalité Témoin (ng)	Modalité MO (ng)
<b>Hexane, 3-méthyl</b>	0	51,15
<b>Diméthyl disulfure</b>	0	11,15
<b>Benzaldéhyde</b>	0	45,73
<b>1-octen-3-one</b>	0	5,407
<b>1-octen-3-ol</b>	0	2,619
<b>3-octanone</b>	2,276	40,65
<b>Acide phosphonique</b>	0,4044	95,29
<b>Octanal</b>	0	8,286
<b>Nonanal</b>	0,1207	52,493
<b>2,4-Di-tert-butylphenol</b>	0	25,57
<b>Acide glutarique, butyl isobutyl ester</b>	6,446	152,88

Figure 29. Liste des indicateurs chimiques en semaine 1 de test entre la modalité témoin et MO (avoine traité + couvert triple traité), exprimée en ng de COVs pour une heure de prélèvement.

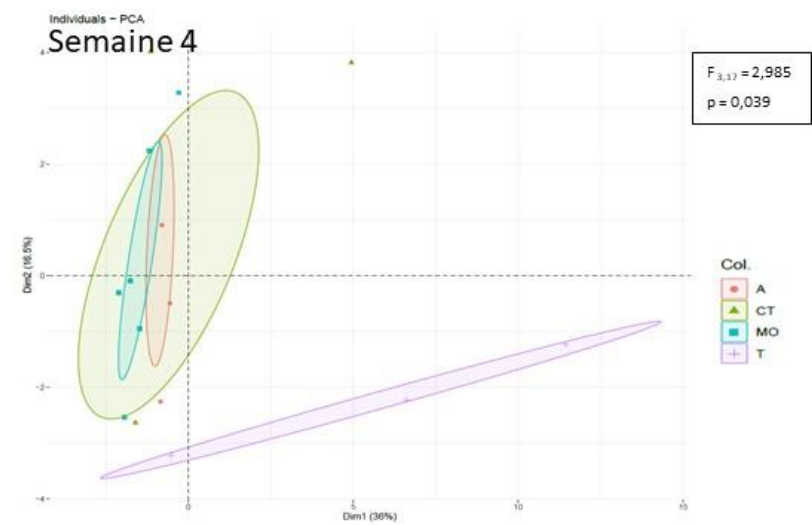
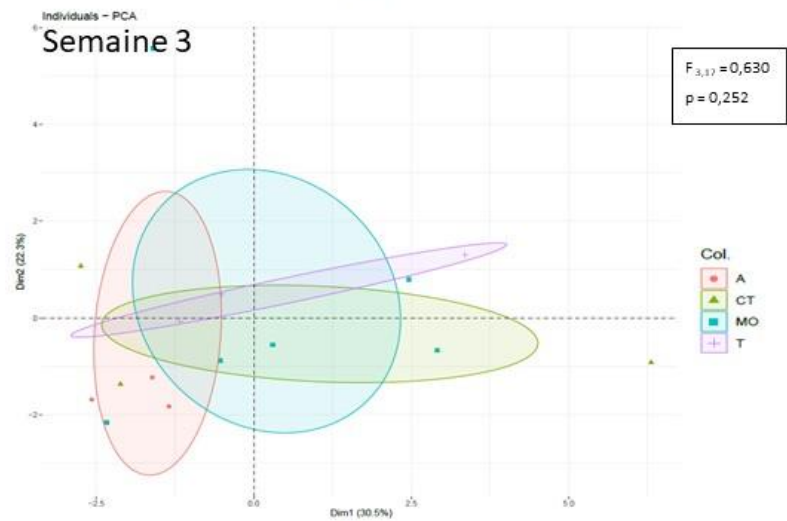
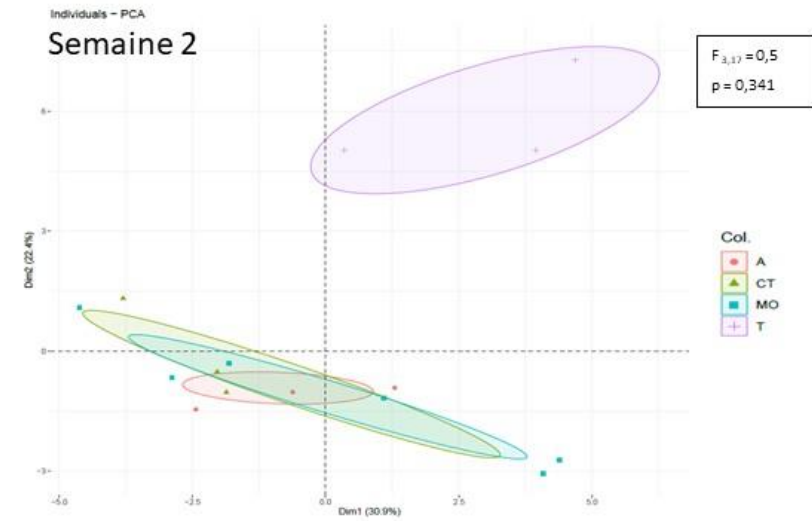
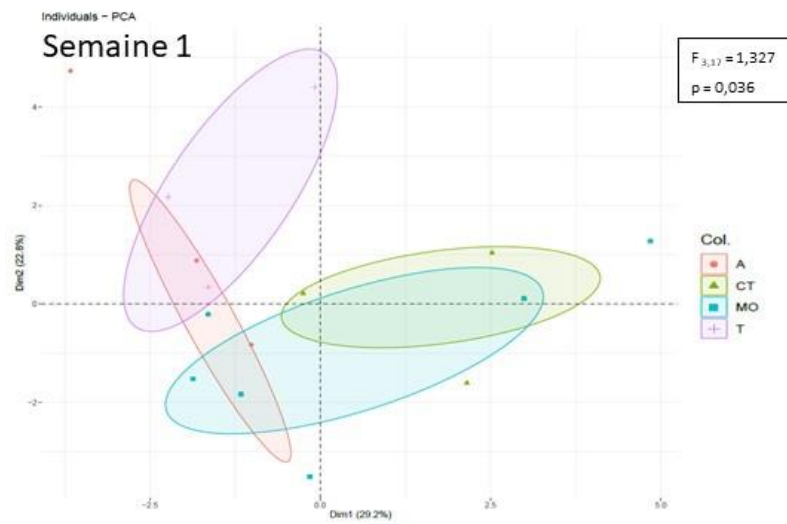


Figure 30. Analyse en Composantes Principales réalisée pour les semaines 1, 2, 3 et 4 pour les modalités témoin (T), couvert triple (traité et non traité), avoine (traité et non traité) et MO (avoine traité et couvert triple traité).



En ce qui concerne l'étude de l'évolution dans le temps des profils odorants des sols, analysée indépendamment pour chaque modalité, nous pouvons conclure aux éléments suivants (Figure 31) :

- une différence dans le profil odorant de la modalité témoin (T) est observée entre les semaines 1 et 2, 2 et 3, 2 et 4 ( $p = 0,001$ ).
- Pour la modalité A- ces différences sont observables entre les semaines 1 et 2, 2 et 3 ( $p = 0,001$ ).
- De même, la modalité A+ possède un profil odorant différent entre les semaines 1 et 2, 2 et 3, 2 et 4 ( $p = 0,001$ ).
- Au sein de la modalité CT- il existe une différence entre les semaines 1 et 4, 2 et 4 ( $p = 0,003$ ). De plus, il est possible de constater que les profils odorants des semaines 1 et 2 sont très fortement semblables pour cette modalité.
- Pour finir, la modalité CT+ possède des différences entre les semaines 1 et 4, 3 et 4 ( $p = 0,014$ ).

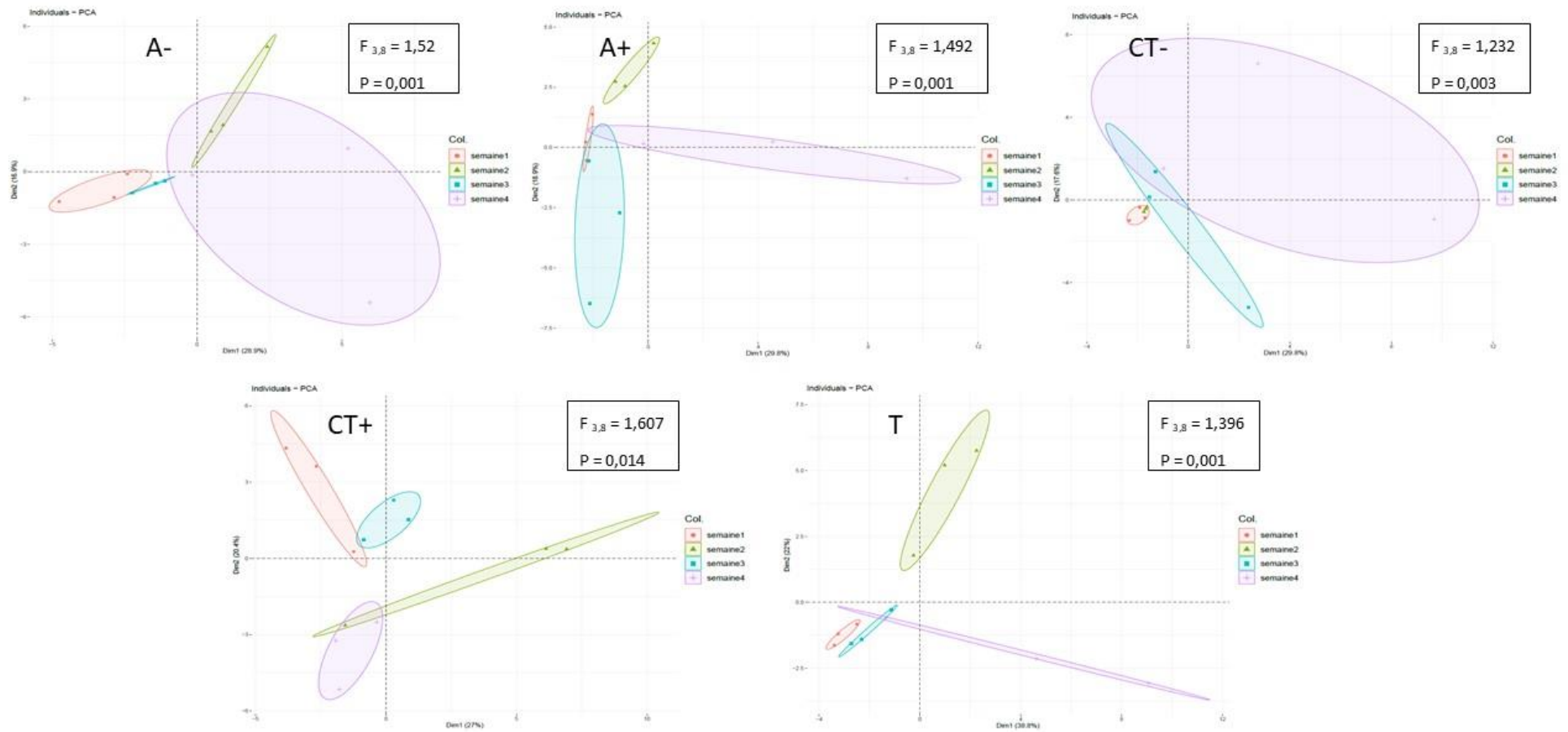


Figure 31. Analyse en Composantes Principales réalisée pour chaque traitement, avoine non traité (A-), avoine traité (A+), couvert triple non traité (CT-), couvert triple traité (CT+) et témoin (T), selon chaque semaine de test, exprimée selon les dimension 1 et dimension 2.

Lorsque nous observons les prélèvements d'odeurs réalisés chaque semaine, toutes modalités confondues, il apparaît que le profil odorant de la modalité témoin est différent de la modalité CT+ en semaine 1. En effet, il semblerait que la dimension 1 sépare efficacement ces deux modalités (Figure 32).

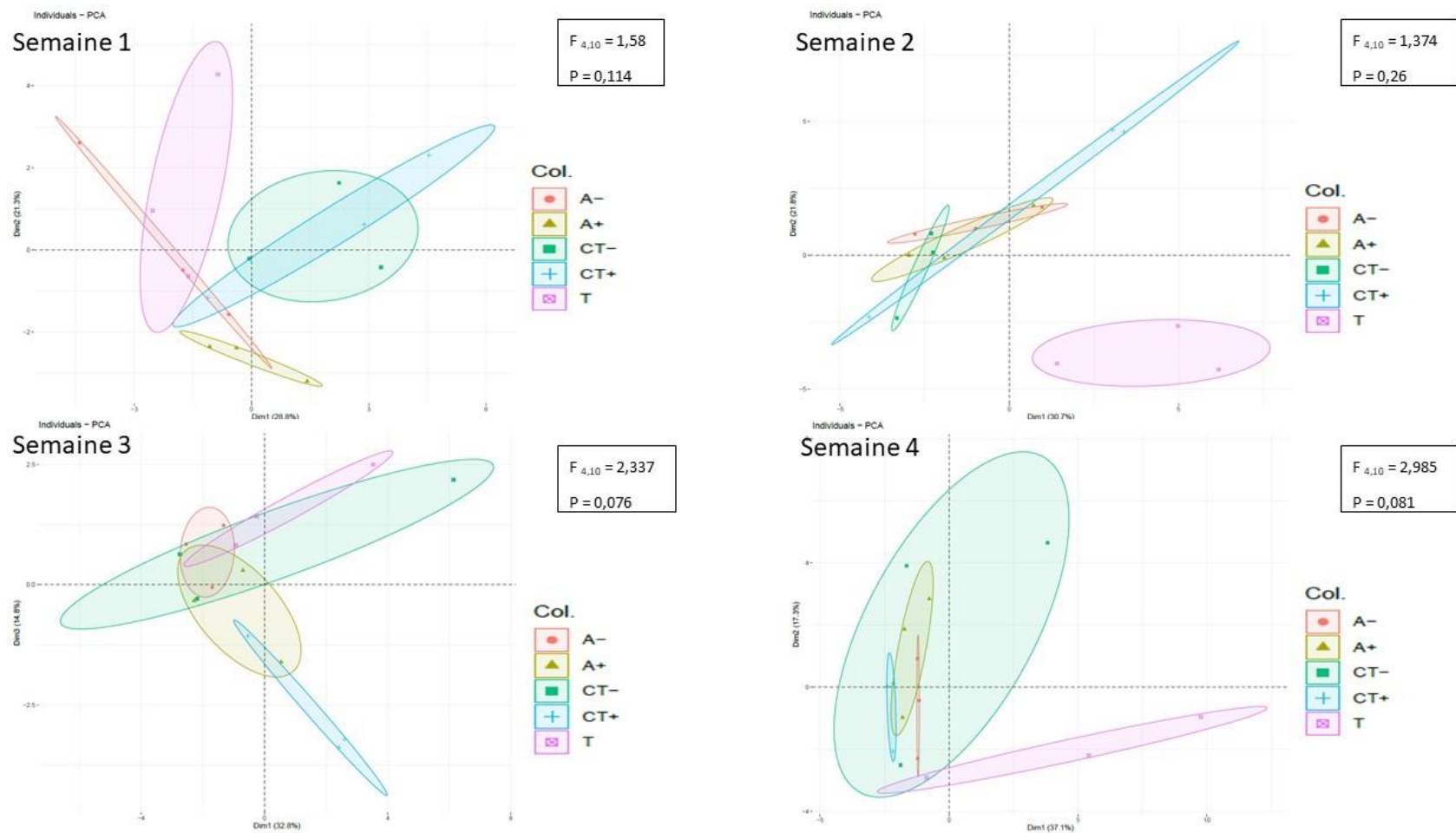


Figure 32. Analyse en Composantes Principales pour les modalités témoin (T), A-, A+, CT- et CT+ réalisée selon les dimensions 1 et 2 pour les semaines 1, 2 et 4, et selon les dimensions 1 et 3 pour la semaine 3.

La figure ci-dessous montre la contribution des composés chimiques aux dimensions 1 et 2 lors de la semaine 1 de test. Ainsi, la dimension 1 est expliquée par un nombre important de molécules appartenant à diverses familles chimiques. Les molécules les plus présentes sont des cétones, un alcool, un aldéhyde et un composé organosulfuré, le diméthyl disulfure. Concernant la dimension 2, il est possible de retrouver en majorité des alcanes, des aldéhydes et un alcool (Figure 33). Les deux dimensions expliquent 50,1% de la variance totale, avec 28,8% et 21,3% expliqués respectivement par les dimensions 1 et 2.

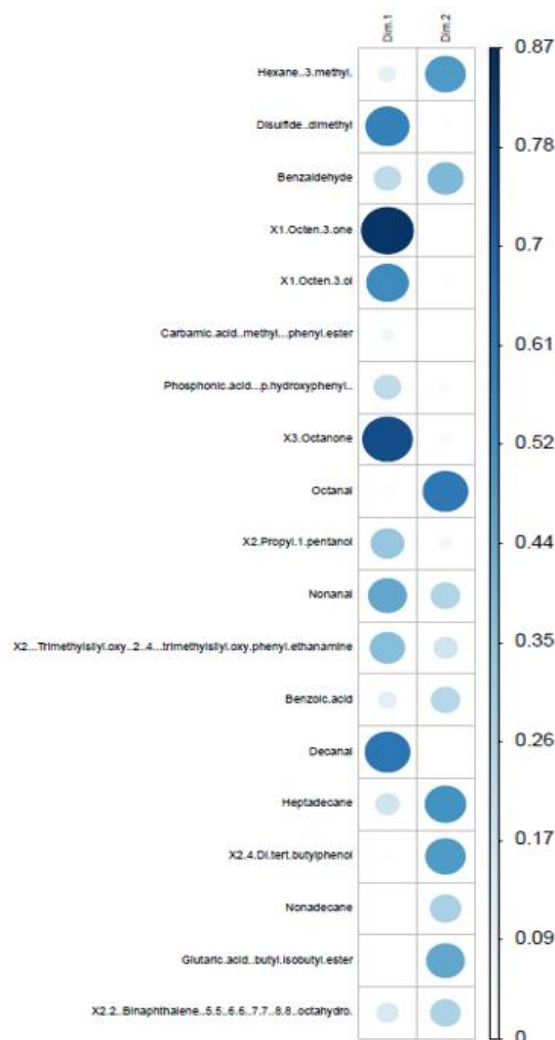


Figure 33. Contribution des composés chimiques aux dimensions 1 et 2 pour la semaine 1 de test.

Lorsque nous regardons les composés organiques émis cette semaine-là, nous constatons que le diméthyl disulfure (DMDS), le 1-octen-3-one, le 1-octen-3-ol et le 3-octanone constituent des indicateurs chimiques. En effet, ces derniers se retrouvent tous dans la modalité CT+ alors que le sol témoin n'en contient pas ou en plus faible quantité (Figure 34). De surplus, le 1-octen-3-ol est émis uniquement dans la modalité CT+ et non dans les autres modalités pour la semaine 1 (Annexe 3).

Indicateur chimique	Modalité Témoin (ng)	Modalité CT+ (ng)
<b>Diméthyl disulfure</b>	0	11,15
<b>1-octen-3-one</b>	0	4,340
<b>1-octen-3-ol</b>	0	2,619
<b>3-octanone</b>	2,276	11,55

Figure 34. Liste des indicateurs chimiques en semaine 1 de test entre la modalité témoin et CT+, exprimée en ng de COVs pour une heure de prélèvement.

De plus, les profils odorants du sol témoin et de la modalité CT+ ont une différence proche de la significativité lors de la semaine 3 ( $p = 0,076$ ). Ces modalités semblent être séparées par la dimension 3 (Figure 32).

La figure 35 illustre la contribution des composés chimiques aux différentes dimensions lors de la semaine 3. La dimension 1 est ainsi expliquée par une majorité d'alcane et d'esters. Concernant la dimension 3, elle est représentée principalement par le 2,4-Di-tert-butylphenol (2,4-DTBP), alcool aromatique, et dans une moindre mesure par différents alcanes (Figure 35). Les dimensions expliquent respectivement 32,8% et 14,8% de la variance totale, à savoir 47,6% au total.

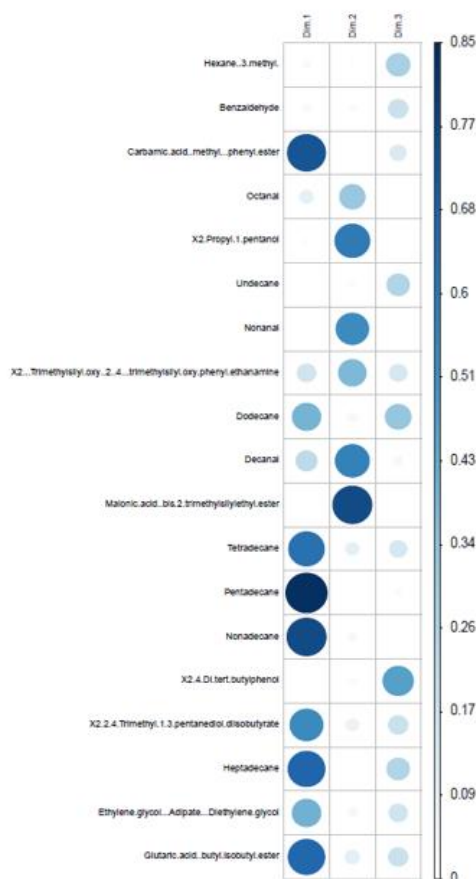


Figure 35. Contribution des composés chimiques aux dimensions 1 à 3 pour la semaine 3 de test.

Lors de cette semaine de test, nous observons du 2,4-DTBP, du dodécane, undécane dans la modalité CT+ et non dans le témoin. Néanmoins ces COVs ne sont pas présents en grande quantité en regard des autres COVs émis cette semaine de test. En effet, l'acide glutaric, butyl isobutyl ester est le composé organique volatil le plus abondant dans la semaine 3 de test. Il est présent en majorité dans la modalité CT+ et en quantité deux fois plus importante par rapport au sol témoin (Figure 36).

Indicateur chimique	Modalité Témoin (ng)	Modalité CT+ (ng)
<b>2,4-Di-tert-butylphenol</b>	0	0,9407
<b>Acide glutaric, butyl isobutyl ester</b>	13,40	30,62
<b>Dodecane</b>	0	0,3893
<b>Undecane</b>	0	0,2068
<b>Tetradecane</b>	0,3436	0,8914

Figure 36. Liste des indicateurs chimiques en semaine 3 de test entre la modalité témoin et CT+, exprimée en ng de COVs pour une heure de prélèvement.

### Evaluation des réponses comportementales

Dans cette section du travail, nous avons testé une première hypothèse selon laquelle les mouches gravides démontraient une préférence pour le choix d'un site de ponte plus riche en matière organique en décomposition.

La deuxième hypothèse suggère que cette attractivité pour les sols augmente avec la décomposition pour atteindre un maximum à un moment donné.

De plus, nous avons supposé que les essais comportementaux pouvaient mettre en évidence la décomposition accélérée du couvert triple avec une évolution dans le temps du nombre d'œufs pondus.

Lorsque nous nous intéressons au comportement de ponte sur l'ensemble des conditions expérimentales de cette étude, aucun impact du couvert n'a été mis en évidence. De même, la présence ou l'absence de microorganismes inoculés afin d'accélérer la décomposition des matières organiques n'a pas influencé de manière significative le comportement de ponte des femelles gravides *D. platura*.

Toutefois, une différence significative est observable lorsque le couvert et l'application de microorganismes sont combinés ( $p = 0,006284$ ). Cette différence s'observe entre la modalité témoin et la modalité CT+ avec un nombre d'œufs pondus supérieur en CT+ ( $p = 0,00252$ ).

De plus, un impact de la semaine sur le nombre d'œufs pondus est également à souligner ( $p = 0.03655$ ) avec une différence hautement significative entre la semaine 1 de test vis-à-vis de la semaine 4 ( $p = 0,00796$ ). Nous observons aussi des différences très hautement significatives entre la semaine 1 et 2 ainsi qu'entre la semaine 1 et 3 ( $p = 0,001$ ). En effet, un nombre nettement supérieur d'œufs ont été pondus en semaine 1 de test par rapport aux autres semaines de test lors des essais comportementaux (Figure 37).

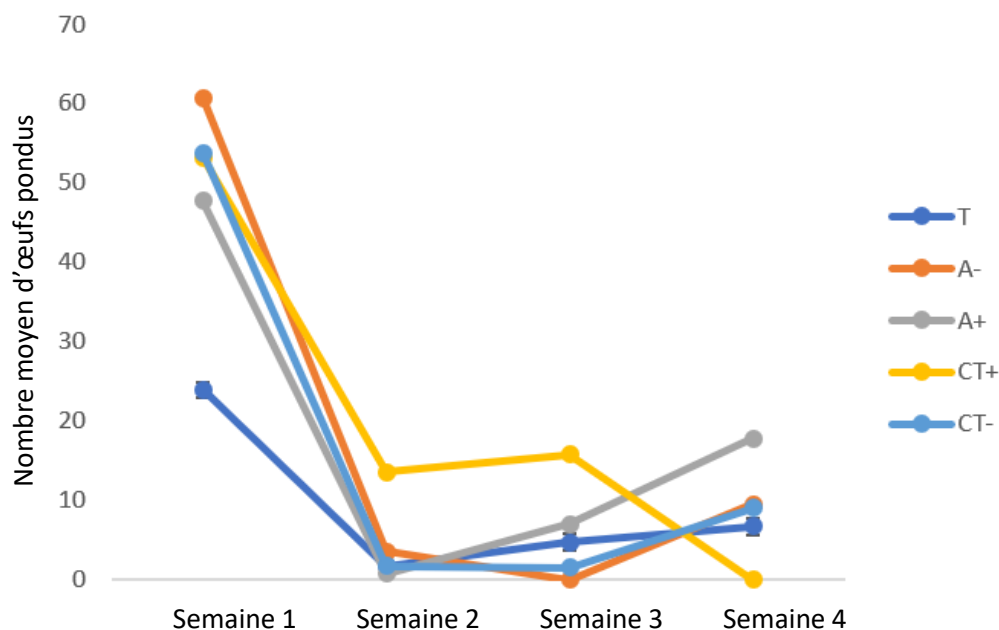


Figure 37. Nombre moyen d'œufs pondus au cours des quatre semaines de décomposition des sols pour les modalités témoin (T), avoine non traité (A-), avoine traité (A+), couvert triple non traité (CT-) et couvert triple traité (CT+).

Modalité	Semaines	EC inf	EC sup
<b>T</b>	I	23,93	27,38
<b>A-</b>	I	17,55	17,55
<b>A+</b>	I	40,49	40,49
<b>CT-</b>	I	53,75	61,33
<b>CT+</b>	I	31,73	31,73
<b>T</b>	II	1,7	3,19
<b>A-</b>	II	3,5	4,72
<b>A+</b>	II	0,75	1,5
<b>CT-</b>	II	1,75	3,5
<b>CT+</b>	II	13,5	20,72
<b>T</b>	III	4,72	9,28
<b>A-</b>	III	0	0
<b>A+</b>	III	7	8,71
<b>CT-</b>	III	1,5	3
<b>CT+</b>	III	12,17	12,17
<b>T</b>	III	6,68	9,14
<b>A-</b>	III	9,5	11,44
<b>A+</b>	III	14,05	14,056
<b>CT-</b>	III	9	10,89
<b>CT+</b>	III	0	0

Figure 38. Ecarts-types des modalités T, A-, A+, CT- et CT+ en lien avec les essais comportementaux illustrés en figure 37.

De plus, lorsque les résultats sont analysés semaine par semaine pour les modalités, certaines interactions apparaissent.

Tout d'abord, quand les couverts végétaux sont analysés pour chaque semaine en combinant la présence (P) et l'absence (N) de microorganismes et prébiotiques (AN + AP/CTN+CTP), les résultats montrent

une différence significative d'œufs pondus entre le témoin (T) et le couvert végétal triple (CT) pour la semaine 1 avec plus d'œufs pondus en CT ( $p = 0,02141$ ).

De plus, une différence proche de la significativité est à souligner en regard des essais comportementaux pour la semaine 1 entre la modalité témoin et la modalité regroupant les couverts végétaux avec application de microorganismes (MO = AP + CTP) avec un nombre plus important d'œufs comptabilisés en MO ( $p = 0,09827$ )(Figure 39).

Suite à ces interactions, une analyse plus en détail a été réalisée sur les modalités A-, A+, CT- et CT+.



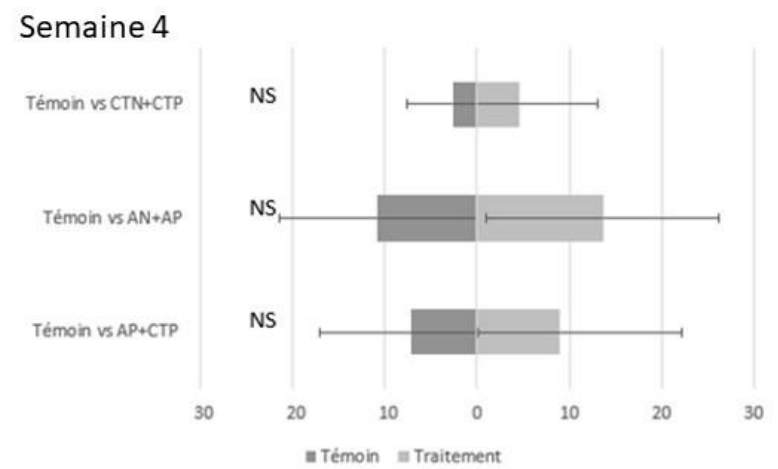
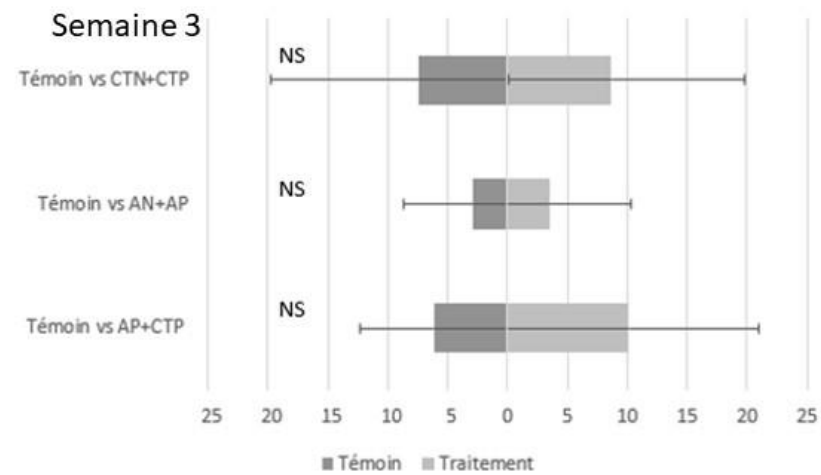
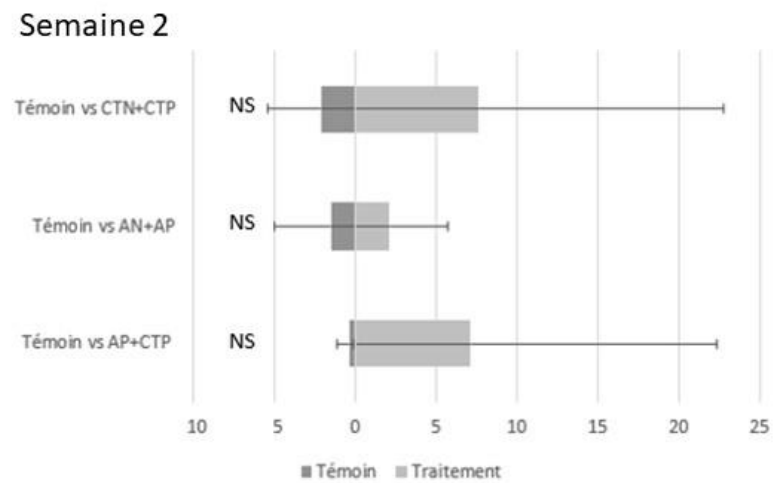
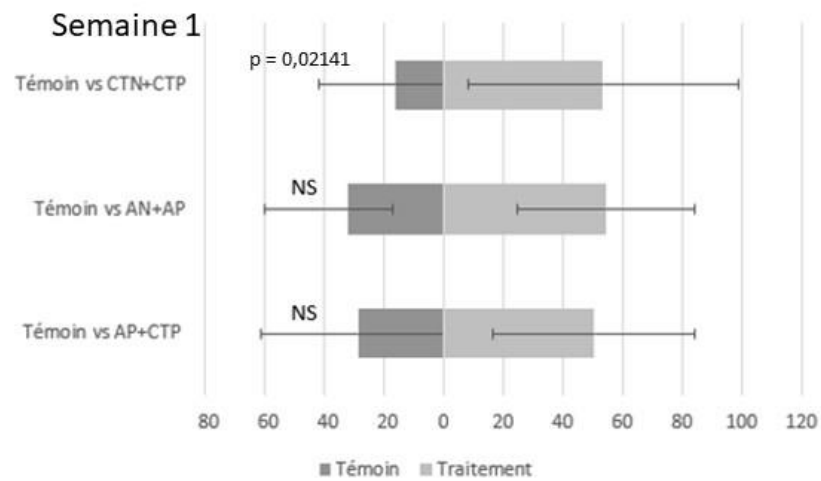


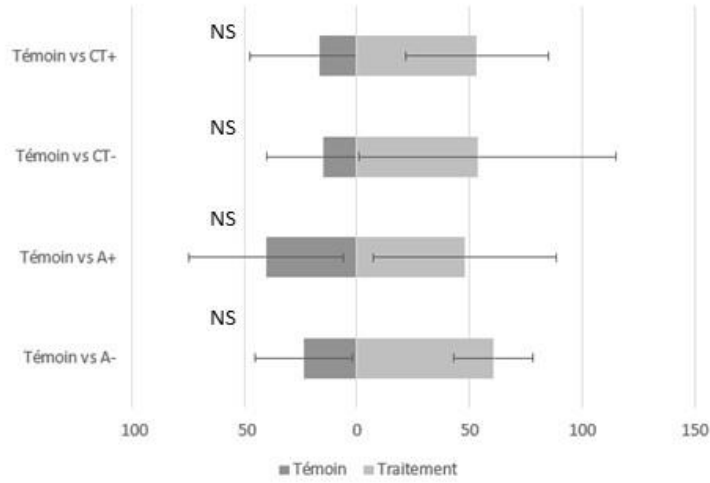
Figure 39. Essais comportementaux comparant le nombre moyen d'œufs pondus pour les modalités témoin (T), CT (CT traité + CT non traité), A (A traité + A non traité) et MO (CT traité + A traité).

Nous observons une différence significative du nombre d'œufs pondus entre le sol témoin et la modalité CT+ (à la semaine 3) avec un nombre supérieur d'œufs comptés dans la modalité CT+ ( $p = 0,013$ )(Figure 40).

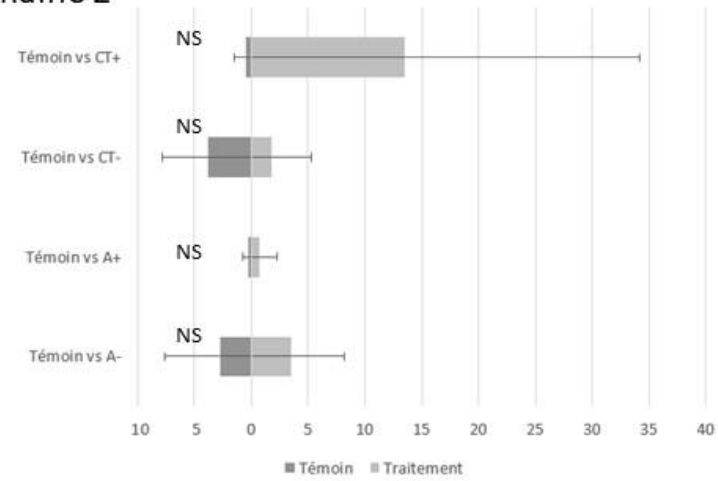
Lorsque les modalités sont comparées deux à deux, une différence significative du nombre d'œufs pondus est observée entre les traitements CT- et CT+ avec plus d'œufs pondus en CT+ (semaine 3) ( $p = 0,0055$ ).

Aucune autre différence significatives d'œufs pondus n'a pu être observée entre les traitements au cours des autres semaines de tests, à savoir les semaines 1, 2 et 4.

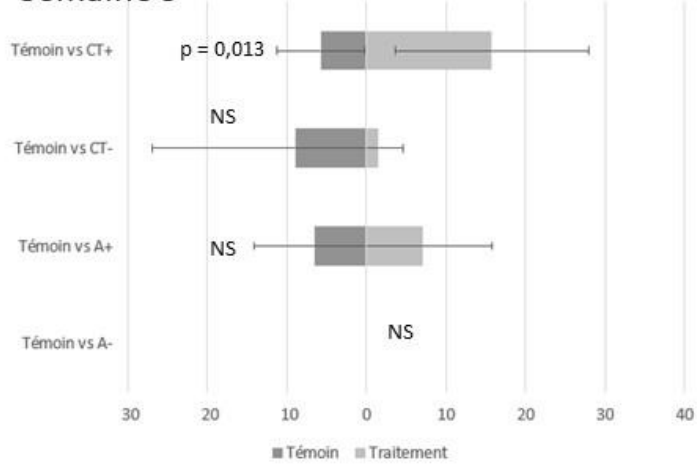
### Semaine 1



### Semaine 2



### Semaine 3



### Semaine 4

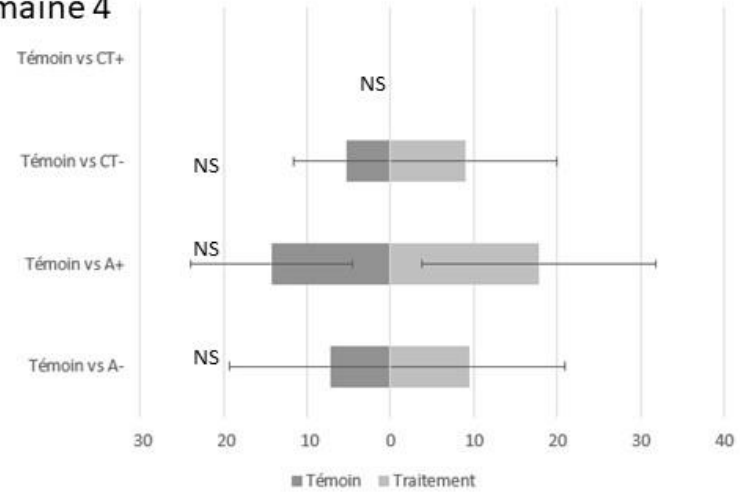


Figure 40. Essais comportementaux pour les modalités témoin (T), avoine non traité (A-), avoine traité (A+), couvert triple non traité (CT-) et couvert triple traité (CT+) pour les semaines 1, 2, 3 et 4.

### Analyse du rapport carbone organique sur azote total (C/N)

Pour rappel, des analyses de substrat ont été réalisées afin d'observer l'évolution du rapport C/N du substrat en relation avec la décomposition de la matière organique enfouie. Nous émettons l'hypothèse que le rapport C/N permettrait d'illustrer la décomposition du matériel végétal enfoui et donc expliquer en partie le comportement de ponte de *D. platura*.

Lorsque l'on compare le rapport carbone organique sur azote total des couverts végétaux à leur incorporation, on constate que l'avoine possède un C/N légèrement inférieur à celui du couvert triple, respectivement 16,8 et 17,7 (résultats provenant d'analyses réalisées par le Laboratoire Provincial de l'Agriculture et de la Ruralité de la Hulpe)(Figure 41).

Couvert	%C	%N	C/N
CT	28,46	1,605	17,7
A	37,92	2,255	16,8

Figure 41. Composition en carbone organique, azote total et rapport carbone organique sur azote total des couverts végétaux CT (couvert triple) et A (avoine) lors de leur incorporation pour décomposition.

Suite aux analyses statistiques, nous observons un impact du type de sol sur le rapport C/N ( $p = 0,0005788$ ). Ces différences se trouvent d'une part entre le témoin et la modalité A- ( $p = 0,0046$ ) et d'autre part entre le témoin et la modalité CT+ ( $p = 0,0010$ ). Ces deux modalités présentent un rapport C/N inférieur à la modalité témoin ne contenant aucun couvert végétal en décomposition (Figure 42).

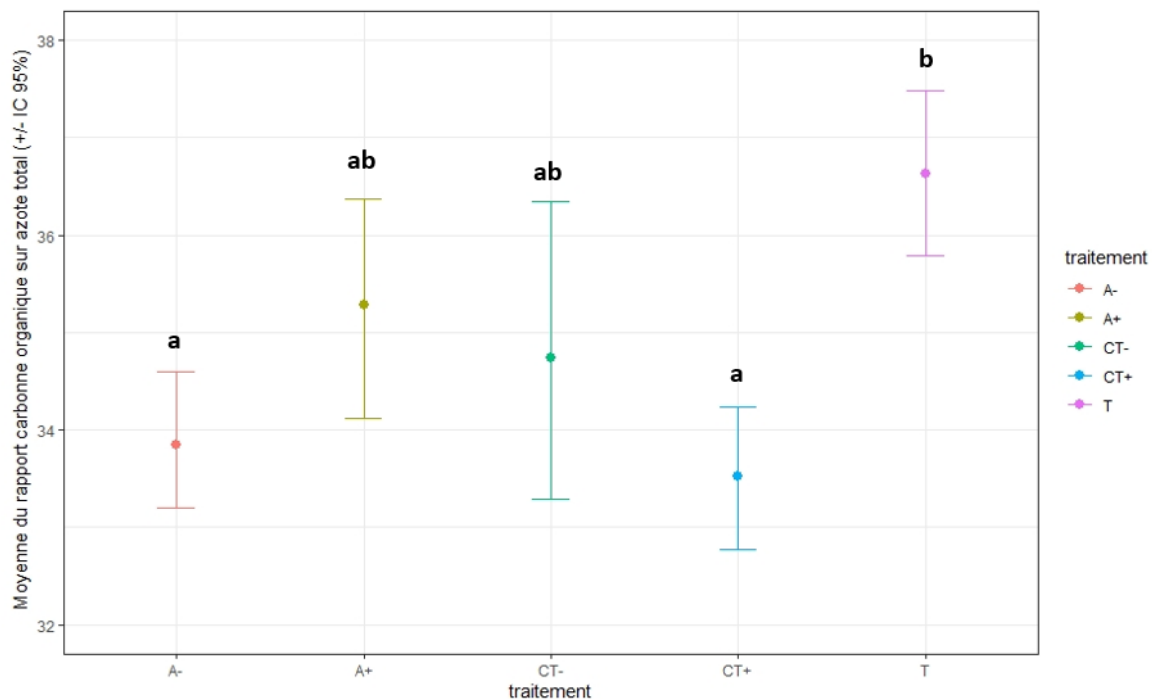


Figure 42. Moyenne du rapport carbone organique sur azote total pour les modalités avoine non traité (AN), avoine traité (A-), couvert triple non traité (CT-), couvert triple traité (CT+) et témoin (T). Les notations « a », « b », « ab » représentent les groupes statistiques. Ainsi, les modalités A- et CT+ ont un rapport C/N statistiquement différent de la modalité témoin (T).

Cependant, lorsque nous nous penchons sur l'évolution dans le temps du rapport carbone organique sur azote total, seule la modalité A- présente une évolution de son rapport C/N au cours des semaines de test ( $p = 7.424e-11$ ). Cette évolution s'observe entre les semaines 1 – 2 ( $p = 0,0001$ ) et 1 – 3 ( $p = 0,0001$ ) avec une diminution significative dans le temps (Figure 43).

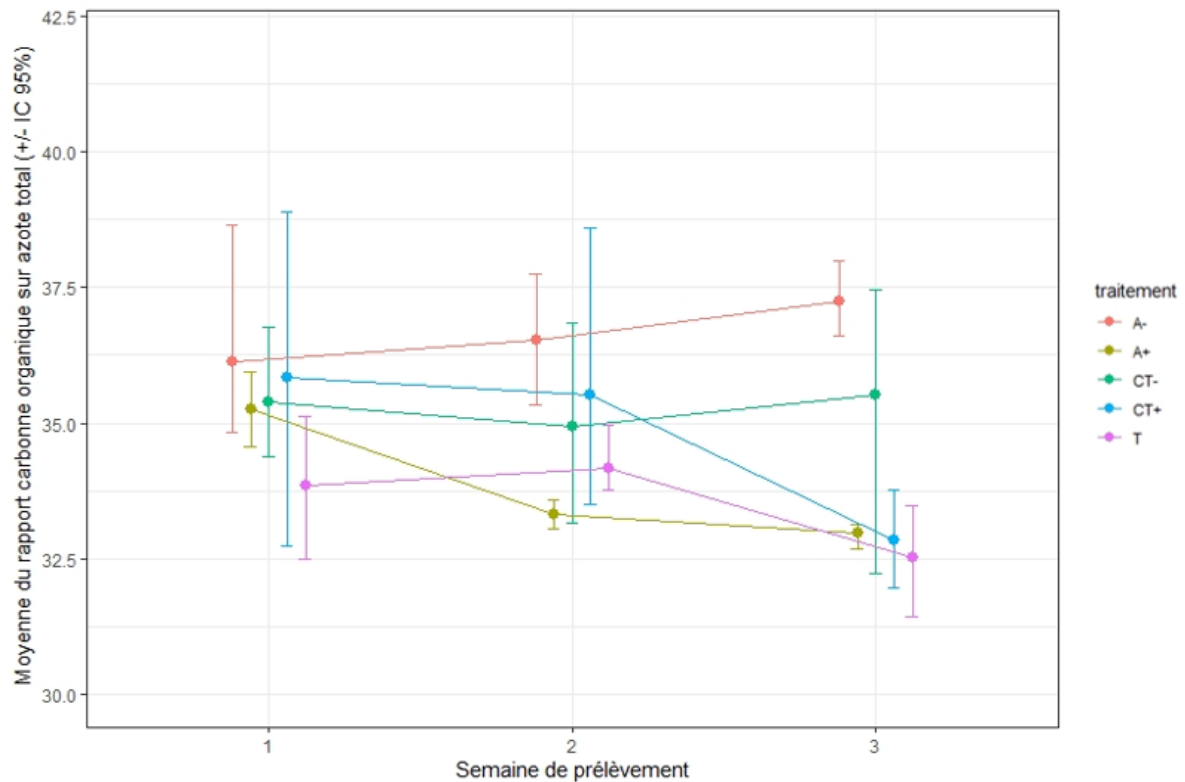


Figure 43. Moyenne au cours du temps du rapport carbone organique sur azote total pour les modalités avoine non traité (A-), avoine traité (A+), couvert triple non traité (CT-), couvert triple traité (CT+) et témoin (T).

Néanmoins, des observations réalisées sur la durée de l'expérience montre une dégradation plus rapide du couvert végétal triple traité par rapport à l'avoine dont les parties lignocellulosiques sont restées visibles plus longtemps car non dégradées (Figure 44).

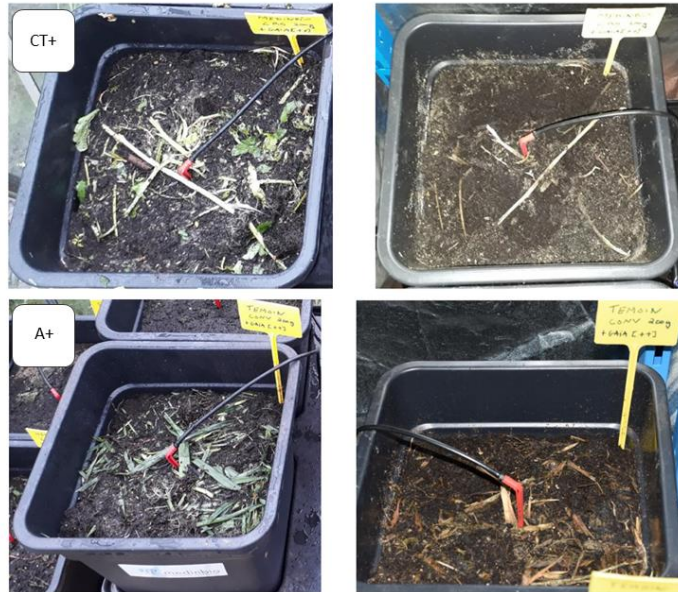


Figure 44. Comparaison de la dégradation à iso-poids de la modalité CT+ et A+, sans paille incorporée, au 7 octobre et 21 octobre 2019. Le couvert triple CT a subi une dégradation plus rapide que l'avoine (A) où les parties lignocellulosiques sont encore visibles.

## Discussion

Pour rappel, l'objectif de ce travail de fin d'études était d'évaluer l'impact de la présence de matières organiques en décomposition dans le sol sur le comportement de ponte des femelles *Delia platura*.

Afin de répondre à cette problématique, des essais comportementaux ont été mis en place dans le but d'analyser le comportement de ponte des femelles *D. platura* gravides vis-à-vis des matières organiques enfouies. De surplus, des prélèvements d'odeurs ont été réalisés afin de caractériser le profil odorant des différents types de matière organique en décomposition et l'évolution dans le temps de ce dernier. Pour finir, des analyses de substrats ont été pratiquées afin d'observer l'évolution du rapport C/N en relation avec la décomposition de la matière organique.

Ainsi, différentes hypothèses avaient été fixées :

- les femelles préfèrent pondre leurs œufs dans un sol contenant de la matière organique en décomposition ;
- le profil odorant différent des matières organiques en décomposition explique les préférences de sites de ponte ;
- l'attractivité des femelles *D. platura* gravides vis-à-vis d'un sol contenant de la matière organique en décomposition évolue dans le temps. Nous avons émis l'hypothèse que l'attractivité augmente avec la teneur en matière organique en décomposition avant de décroître (Figure 13) ;
- le rapport C/N permet de mettre en évidence l'évolution de la décomposition dans le temps et de ce fait l'évolution de la ponte ;
- le couvert triple doit décaler le pic d'attractivité du sol plus tôt dans la saison, limitant ainsi les dommages causés par *D. platura*.

## Comportement de ponte des femelles gravides *D. platura* vis-à-vis du type de sol en lien avec les COVs émis

L'hypothèse formulée précédemment stipulait que les femelles étaient préférentiellement attirées par des sols contenant de la matière organique en décomposition (Barlow 1965; Reid 1940).

Lorsque nous analysons les résultats semaine par semaine, une différence significative entre le nombre d'œufs pondus dans la modalité témoin (ne contenant aucun couvert végétal en décomposition) et la modalité CT (couvert végétal triple espèces composé de sarrasin, carthame et radis chinois en décomposition) a été observée avec un nombre nettement plus important d'œufs pondus dans la modalité CT lors de la semaine 1 de test. Cette observation était réalisée pour la modalité CT totale, c'est-à-dire en combinant le nombre d'œufs pondus en présence de microorganismes avec prébiotiques et le nombre d'œufs pondus sans microorganismes et prébiotiques ajoutés pour accélérer la décomposition du couvert végétal. Ces observations viennent donc confirmer l'attrait des femelles pour un sol contenant de la matière organique en décomposition, à savoir un couvert végétal d'interculture dans ce cas-ci, par rapport à un sol témoin n'en contenant pas. Cet attrait pour les sols contenant le couvert végétal triple s'observe principalement en semaine 1 de test alors que nous pensions mettre en évidence une augmentation de l'attractivité dans le temps suivie d'une diminution. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la décomposition a été intense entre le moment d'incorporation des résidus (T0) et la première semaine de test (T+15 jours). Des observations supplémentaires en T+5 jours et T+10 jours auraient certainement permis de mettre en évidence une augmentation de la décomposition dans le temps jusqu'à atteindre un maximum en T+15 jours. Ceci coïnciderait donc avec l'hypothèse selon laquelle l'attractivité des femelles *D. platura* gravides vis-à-vis d'un sol contenant de la matière organique en décomposition évolue dans le temps. L'attractivité augmente avec la teneur en matière organique en décomposition avant de décroître (Figure 13).

De plus, une différence (mais non supportée statistiquement) en nombre d'œufs est observable entre le sol témoin et la modalité MO regroupant les deux types de matière organique en décomposition avec inoculation de microorganismes pour la semaine 1 de test, avec plus d'œufs comptabilisés dans la modalité totale MO (somme des œufs en avoine traité et couvert triple traité). Comme mentionné précédemment, les modalités T et MO semblent différentes lors de la semaine 1 de test. Lorsque nous regardons les COVs émis lors de cette semaine de test, il ressort que du nonanal a été émis dans les modalités avec microorganismes (MO) et pratiquement pas dans la modalité témoin. Cette molécule est de plus présente en quantité importante (52ng) par rapport à la majorité des autres COVs émis cette semaine-là (Figure 29). Or, cette molécule a été identifiée comme composé organique volatil émis par différents microorganismes, dont les champignons entomopathogènes *Trichoderma harzianum* utilisés dans ces essais (Siddiquee 2014; Siddiquee et al. 2012). Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que l'activité des microorganismes produise des composés organiques volatils attractifs pour les femelles lors de la décomposition microbienne. En effet, un lien a déjà été établi entre l'attrait des femelles pour un site de ponte et la présence de microorganismes sur des graines en germination (Eckenrode et al. 1975).

Nous observons également une différence de profils odorants entre les modalités T et CT+ lors de la première semaine de test. Ces modalités sont séparées par la dimension D1 de l'ACP. Or, la dimension D1 est en partie expliquée par du diméthyl disulfure. De plus, le DMDS est présent dans la modalité CT+ et non dans la modalité témoin (Figure 33), traduisant la présence de dégradation microbienne. En effet, cette molécule est connue comme composé organique volatil émis lors de la décomposition aérobie microbienne (Wu et al. 2010). De surplus, la dimension D1 est caractérisée par des molécules comme le 1-octen-3-ol, le 1-octen-3-one et le 3-octanone, référencées comme étant attractives pour les insectes (Siddiquee et al. 2012). Or ces indicateurs chimiques ne sont présents qu'en CT+ et non dans le sol témoin (Figure 34). De surcroît, le 1-octen-3-ol est uniquement émis en CT+ lors de la semaine 1 de test, en petite quantité par rapport à d'autres COVs. Ces résultats convergent vers une étude menée en 2006, dans laquelle il a été confirmé que le 1-octen-3-ol et le 3-octanone devaient être considérées

comme des molécules clés modulant le comportement de ponte chez les femelles *Delia platura* (Gouinguéné P. and Städler 2006). De plus, la modalité A+ a émis une quantité bien plus importante de COVs lors de la première semaine de test par rapport à CT+ sans attirer les femelles pour autant (Figure 28). Il semblerait donc que les femelles se basent sur la présence de molécules spécifiques, émises même en petite quantité, pour sélectionner un site de ponte. Ceci est en accord avec une hypothèse émise pour tenter d'expliquer l'attraction des adultes sur un site de ponte. Cette hypothèse stipule que les insectes seraient capables de reconnaître des composés volatils spécifiques à une espèce d'hôte ou un site de ponte. Les insectes phytophages pourraient, par exemple, localiser les plantes dont ils se nourrissent grâce aux odeurs et goûts caractéristiques des métabolites secondaires présentes dans celles-ci (Fraenkel 2016). Concernant les mouches du genre *Delia*, une étude menée en 1989 avait ainsi déterminé que les mouches du chou (*Delia antiqua*) utilisaient des signaux olfactifs précis dès le début de leur recherche à distance pour une plante hôte. Les femelles de cette espèce détecteraient ainsi le dipropyl-disulphide afin de localiser et d'accepter une plante hôte (Judd and Borden 1989). Un comportement similaire pourrait donc être présent également chez les femelles *Delia platura* dans leur recherche pour un site de ponte.

Il semble ainsi que les femelles *Delia platura* soient attirées par les modalités dont le profil odorant inclus des COVs émis par les microorganismes, dont les molécules citées précédemment. Cette attraction en semaine 1 pourrait correspondre à une activité croissante des microorganismes inoculés s'attaquant à la dégradation des couverts végétaux. Au fur et à mesure de la dégradation de la matière organique, un nombre moins conséquent d'œufs est ainsi pondus (Figure 37), traduisant l'impact de la date sur les traitements avec des différences très hautement significatives de pontes entre les semaines 1 et 2, 1 et 3 et hautement significatives entre les semaines 1 et 4. Cette observation concorde avec l'hypothèse d'attractivité illustrée dans la section précédent (Figure 13) selon laquelle la courbe d'attractivité ressemblerait à une parabole concave dont le maximum correspondrait au pic d'attractivité des femelles vis-à-vis des sols. Suite à la fréquence des essais comportementaux, il se pourrait que les premiers essais aient directement coïncidé avec le pic d'attractivité (maximum de la parabole). Afin de mettre en évidence une éventuelle croissance d'attractivité (pente croissante de la parabole), le protocole pourrait être modifié afin d'inclure plusieurs essais comportementaux supplémentaires entre l'incorporation des couverts végétaux et la semaine 1 actuelle des essais, correspondant à un temps T+2 semaines après incorporation. Des essais en T+5 jours et T+10 jours pourraient peut-être mettre en évidence cette attraction croissante jusqu'en semaine 1 (T+15 jours).

Cette différence de comportement de ponte entre le sol témoin et une modalité ayant été traitée avec des microorganismes se traduit également lors de la troisième semaine de test. En effet, une différence entre le témoin et la modalité CT+ s'observe lors de la semaine 3 d'essai avec un nombre plus important d'œufs pondus dans la modalité CT+. En parallèle, une différence proche de la significativité en termes de composés organiques volatils émis lors de cette même semaine est observable entre toutes modalités. De manière plus précise, une différence est à souligner entre le témoin et la modalité CT+ sur base des distances (ACP). Effectivement, les deux modalités sont efficacement séparées par la dimension 3. Cette dernière semble expliquée par la présence du dodécane, undécane et du tétradécane qui se retrouvent encore une fois dans les composés organiques volatils émis par *Trichoderma harzianum*, inoculé en début de test (Siddiquee et al. 2012). Cette attraction pour les modalités inoculées se confirme également cette semaine 3 de test avec plus d'œufs pondus en CT+ plutôt qu'en CT-. Les femelles ont donc préféré le couvert triple traité par rapport au couvert triple non traité. Cette préférence peut aussi s'expliquer par la présence de dodécane, undécane et tétradécane au sein de CT+, même si ces COVs étaient présents en petite quantité (Annexe 5).

De plus, lors de l'analyse statistique réalisée sur l'ensemble des conditions expérimentales, nous observons un impact du temps sur le nombre d'œufs pondus. Une diminution de la ponte a effectivement été mise en évidence (Figure 37) ce qui reflète l'évolution dans le temps de la décomposition des couverts végétaux enfouis. Effectivement, suite au pic de décomposition qui pris place lors de la semaine



1, une majorité de la biomasse enfouie était décomposée. Comme mentionné précédemment, il a été prouvé à de nombreuses reprises que les insectes discriminaient les sites de pontes entre eux sur base de la présence d'une ou plusieurs molécules importantes dans le blend odorant de l'environnement (Bruce and Pickett 2011; Bruce et al. 2005). Lorsque nous regardons les profils odorants des modalités pour chaque semaine de test (Annexe 3 à 6), nous observons que le DMDS et le 1-octen-3-ol sont présents en semaine 1 de test uniquement. De plus, le 3-octanone est présent en plus grande quantité lors de la première semaine de test avant de voir sa production diminuer. Ces deux observations semblent confirmer que les femelles choisissent un site de ponte sur base de la présence, même en petite quantité, de molécules spécifiques.

Pour finir, nous n'avons pas pu mettre en évidence une préférence des femelles, dans les conditions expérimentales de cette étude, entre un type de matière organique en décomposition plutôt qu'un autre. En effet, aucune différence statistique en termes d'œufs pondus n'a été observée entre le couvert triple et l'avoine. Afin de déterminer l'attrait des femelles pour un type ou l'autre de matière organique en décomposition, un double choix supplémentaire avoine vs couvert triple pourrait être installé dans le dispositif expérimental. Nous pouvons émettre l'hypothèse qu'un choix sera réalisé sur base des différences d'émission de COVs qu'il pourrait exister entre ces deux couverts végétaux. En effet, il a été démontré que le type de substrat impact le profil des composés organiques volatils émis lors de la décomposition microbienne (Wheatley et al. 1997). Ainsi, un comportement de ponte pourrait éventuellement être observé dans ces conditions.

### Rapport C/N en lien avec le comportement de ponte des femelles

Ce mémoire a été réalisé avec un objectif à long terme de mise en place d'une méthode de lutte alternative contre *Delia platura*. Cette dernière propose de faire coïncider la date de semis des cultures à risques avec une teneur plus faible en matière organique en décomposition, issue du couvert végétal d'interculture par exemple, afin de limiter l'attraction des femelles. Le couvert végétal triple avait donc été sélectionné afin qu'il soit plus hautement fermentescible que le couvert végétal d'interculture, l'avoine, fréquemment employé dans la culture à risque visée dans le projet, à savoir le pois de printemps. De plus, l'ajout de *Trichoderma harzianum* et de la bactérie *Bacillus amyloliquefaciens* devait accentuer la différence d'attractivité à une même date de semis (Figure 13). Ainsi, l'attractivité plus élevée des femelles pour la modalité CT+ lors d'une semaine de test ne signifie pas que l'instauration de ce couvert végétal couplé à une inoculation en microorganismes et prébiotiques ne répond pas aux attentes du projet de recherche. En effet, sur base d'observations réalisées lors des semaines de test, le couvert végétal expérimental semblait se dégrader de manière plus rapide que l'avoine (Figure 44).

Pour rappel, l'avoine possédait à son incorporation un rapport C/N de 16,8 et le couvert triple un rapport de 17,7. Cependant, l'avoine possède un pourcentage de carbone nettement supérieur au couvert triple. Or, le carbone entre dans la composition de la cellulose et la lignine, principaux composants des végétaux. Ceci pourrait expliquer la différence de vitesse de décomposition des deux couverts, bien que l'avoine possédait un rapport C/N légèrement inférieur au couvert triple initialement (Figure 41).

La différence de vitesse de décomposition s'explique donc par le fait que lors de l'incorporation, le couvert végétal triple était composé de moins de parties lignocellulosiques en comparaison de l'avoine, dont les nervures foliaires sont restées indemnes de décomposition et donc visibles plus longtemps dans le temps. De ce fait, le couvert végétal composé du sarrasin, de la carthame et du radis chinois s'inscrit bien dans une démarche de réduction de l'attractivité des parcelles agricoles vis-à-vis de la date de semis de la culture à risque.

Lors de leur incorporation, les couverts végétaux étaient à une croissance de 6 semaines et n'avaient donc pas complété leur cycle. En effet, ces derniers subissent une incorporation dans les parcelles

agricoles après une croissance nettement plus importante car restant en place pour toute la durée de l'hiver afin de jouer leur rôle de couverture du sol. Ainsi, leur teneur en lignine et cellulose augmente avec leur sénescence. L'avoine va, par exemple, voir sa teneur en cellulose, hémicellulose et lignine atteindre des valeurs de respectivement  $35,5 \pm 4,6$ ,  $24,3 \pm 6,5$  et  $13,7 \pm 4,0$  kg/100kg de matière sèche (Godin et al. 2010). Suite à cette sénescence, il se pourrait bien qu'au moment du broyage et de l'incorporation de l'avoine et du couvert triple espèces en condition réelle sur le terrain, l'avoine possède une proportion plus grande de parties lignocellulosiques. Cette teneur plus élevée pourrait par conséquent entraîner un rapport C/N supérieur à celui du couvert constitué de sarrasin, carthame et radis chinois dont la biomasse est moins lignocellulosique. Ainsi, l'avoine qui possédait un rapport C/N inférieur au couvert triple lors de l'incorporation dans les essais verrait cette condition s'inverser en condition réelle, coïncidant avec une dégradation plus rapide recherchée du couvert expérimental.

Comme mentionné précédemment, une fois enfouies, les matières organiques subissent diverses transformations menant à leur minéralisation. Certaines de leurs caractéristiques peuvent aider à prédire l'évolution de cette décomposition : Ainsi, le rapport C/N traduit la facilité avec laquelle elles vont se dégrader car étant le rapport entre les composés difficilement décomposables (lignine, cellulose, ...) sur ceux facilement décomposables (sucres) (Blum et al. 2018). Suite à cette décomposition, une évolution dans le temps du rapport C/N du substrat doit être observable. En effet, avec un rapport C/N des couverts végétaux inférieur à 25 (Figure 41), les microorganismes vont pouvoir puiser l'azote dont ils ont besoin pour constituer leurs protéines dans les couverts et libérer ainsi l'excès dans le substrat. Le carbone est quant à lui utilisé comme source d'énergie. Une diminution du rapport C/N du substrat dans le temps devrait donc être observée. Or, les résultats des analyses minérales ont montrés qu'il n'y avait aucune évolution dans le temps du rapport C/N du substrat à part pour la modalité avoine non traité (A-). Ces résultats sont cependant à mettre en contraste avec la richesse initiale du substrat. Effectivement, les bacs d'essai contenant les couverts végétaux à dégrader étaient composés d'un terreau universel enrichi par un engrais NPK 14 – 16 – 18 à une dose de 1kg/m<sup>2</sup> (Oh Green®). De ce fait, les doses en azote contenues initialement dans le substrat pourraient influencer les résultats obtenus concernant le rapport carbone organique sur azote total en diluant les variations dues à la décomposition de la matière organique au fil des semaines. L'unique évolution de la modalité A- pourrait s'expliquer par le fait que les autres évolutions n'ont pu être mises en évidence du fait de cette dilution par une quantité en azote initialement très élevée.

En ce qui concerne la moyenne inférieure du rapport C/N de la modalité CT+ (couvert triple traité) par rapport au témoin, cette dernière confirme l'évolution de la décomposition de la matière organique. Les microorganismes inoculés ont joué leur rôle d'accélérateur en libérant l'excès d'azote dans le sol, entraînant une diminution du rapport C/N de la modalité CT+ alors que le témoin ne contenait aucun couvert végétal en décomposition. Ces résultats sont en accord avec les comportements de ponte. Ils traduisent en effet la présence de matière organique en décomposition dans le substrat.

Comme mentionné au préalable, les femelles utilisent une combinaison de stimuli olfactifs et visuels dans leur discrimination vis-à-vis des différents sites de ponte qui s'offrent à elles (Gouinguéné et Städler 2006). Lors des essais comportementaux, les femelles pouvaient se baser sur ces stimuli afin de réaliser leur choix entre les deux sites de ponte proposés. Il semblerait donc que la détection de molécules olfactives au sein des unités expérimentales, combinée à la possibilité d'entrer en contact avec le matériel végétal en décomposition, impacte le comportement de ponte des femelles vis-à-vis du choix qu'il leur était proposé de faire. Suite à ces essais, nous savons que le profil odorant d'un sol contenant de la matière organique en décomposition, ici un couvert végétal d'interculture, impacte le choix des femelles car étant différent de celui d'un sol indemne de matière végétale en décomposition. De plus, la majorité des composés identifiés émis lors de la décomposition étaient des COVs oxygénés tels que des alcools, des aldéhydes et des cétones en accord avec la littérature (Asensio et al. 2007). Pour finir, cette matière organique en décomposition était couplée à la présence de microorganismes dont

l'émission de composés organiques volatils comme le 1-octen-3-ol et le 3-octanone régulent l'oviposition des femelles gravides *Delia platura* (Gouinguéné P. and Städler 2006; Siddiquee et al. 2012).

## Perspectives et améliorations

### Optimisation du dispositif expérimental

Suite à la mise en place de ce dispositif expérimental, un point pourrait être optimisé afin de tenter de mettre en évidence de nouvelles tendances statistiques concernant les essais sur les couverts végétaux en décomposition

En effet, des essais comportementaux comparant simultanément différents types de matière organique en décomposition pourraient être réalisés afin de montrer l'intérêt des femelles vis-à-vis d'un type de matière organique en décomposition.

### Perspectives

Suite à ce projet, divers aspects pourraient également être approfondis afin de mieux comprendre les facteurs modulant le comportement de ponte des femelles *Delia platura*.

### Electroantennographie

Des essais électrophysiologiques pourraient être combinés aux essais comportementaux afin d'identifier de nouvelles molécules attractives émises par la matière organique en décomposition. Une fois un mélange de molécules identifié comme attractif, des essais comportementaux couplés à l'électrophysiologie pourraient être menés en faisant varier la proportion relative de ces molécules. Ainsi, nous pourrions déterminer le ratio attractif de molécules issues du blend olfactif de la matière organique en décomposition dont la présence est nécessaire pour les femelles afin de sélectionner un site de ponte viable.

### Programme de lutte alternative

Comme mentionné précédemment, cette étude s'inscrivait dans le cadre d'un projet de recherche visant à mettre en place une méthode de lutte alternative contre *D. platura*. Afin d'optimiser cette méthode de lutte, différentes phases du cycle pourraient être visées. Ainsi, des essais entomopathogènes en laboratoire pourraient être menés afin de viser le stade larvaire. En effet, une étude a d'ores et déjà mis en évidence l'efficacité du nématode *Steinernema sp.* (Jaramillo et al. 2013). Des essais de formulation en enrobage de semences pourraient ainsi s'avérer efficaces contre les attaques larvaires, diminuant ainsi les dommages causés aux cultures. Parallèlement, des dispositifs de piégeage pourraient être testés en y incluant les molécules attractives, à savoir le 1-octen-3-ol et le 3-octanone, afin d'attirer les femelles et ainsi limiter les pontes dans les cultures à risque.

## Conclusion

Cette étude a démontré l'impact de la présence de matière organique en décomposition dans le sol sur le comportement de ponte des femelles gravides *Delia platura*. Étant un insecte généraliste, les femelles détecteraient préférentiellement des composés organiques volatils émis par la matière organique en décomposition dans le sol plutôt que de détecter la multitude de signaux olfactifs émis par des nombreuses plantes hôtes. Cette discrimination entre les sols semble donc être liée à la présence de composés organiques volatils en lien avec la décomposition, comme le diméthyl disulfure. Cette attraction est également expliquée par la présence de COVs émis lors de la décomposition microbienne au sein desquels deux molécules régulant l'oviposition des femelles ressortent, à savoir le 1-octen-3-ol et le 3-octanone. Il apparaît donc que les femelles se basent sur la présence de molécules spécifiques, émises même en petite quantité, pour sélectionner un site de ponte.

Il semblerait également que, passé un certain stade de dégradation, les sols deviennent moins attractifs pour les femelles avec un nombre moins important d'œufs pondus. En effet, le pic d'attractivité semble se recouper avec l'émission de composés organiques volatils émis lors des premières phases de décomposition. Par la suite, la biomasse restant à dégrader n'attire plus les femelles, sans doute lié à une modification du profil odorant.

Pour finir, nous n'avons pas pu mettre en évidence dans les conditions expérimentales de ce travail l'impact d'un type de matière organique sur le comportement de ponte. Afin de déterminer l'attrait des femelles pour un type ou l'autre de matière organique en décomposition, une étude plus poussée serait nécessaire.

Ces observations s'inscrivent dans une démarche de lutte intégrée. A l'avenir, il sera possible de tenter de moduler la date de semis des cultures à risques afin de la faire concorder avec une teneur plus faible en matière organique en décomposition. Ceci passera par l'instauration d'un couvert végétal d'interculture plus hautement fermentescible et subissant une dégradation accélérée afin de décaler le pic d'attractivité plus tôt dans la saison. Ainsi, le semis de la culture à risque ne sera plus phasé sur les stades larvaires de *D. platura*, réduisant de ce fait les dommages agronomiques et économiques en découlant.

## Références bibliographiques

- Abis, Letizia, Benjamin Loubet, Raluca Ciuraru, Florence Lafouge, Samuel Dequiedt, Sabine Houot, Pierre Alain Maron, and Sophie Bourgeteau-Sadet. 2018. "Profiles of Volatile Organic Compound Emissions from Soils Amended with Organic Waste Products." *Science of the Total Environment* 636:1333–43.
- Abou-Taleb, Khadiga A. A., W. A. Mashhoor, Sohair A. Nasr, M. S. Sharaf, and Hoda H. M. Abdel-Azeem. 2009. "Nutritional and Environmental Factors Affecting Cellulase Production by Two Strains of Cellulolytic Bacilli." *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3(3):2429–36.
- Agri Réseau. 2007. *Spinosad – Un Biopesticide Hautement Compatible Dans Les Systèmes de Lutte Intégrée*.
- Andreassen, L. D., U Kuhlmann, P. G. Mason, N. J. Holliday, and Ulrich Kuhlmann. 2007. "Classical Biological Control of the Cabbage Root Fly, *Delia Radicum*, in Canadian Canola: An Analysis of Research Needs."
- Anon. 2002. "Delia Platura (HYLEPL)[Overview]| EPPO Global Database." Retrieved July 30, 2019 (<https://gd.eppo.int/taxon/HYLEPL>).
- Anon. n.d. "Hypp : Encyclopédie En Protection Des Plantes - Anthomyiidae." 2018. Retrieved July 30, 2019 (<http://ephytia.inra.fr/fr/C/11333/Hypp-encyclopedie-en-protection-des-plantes-Anthomyiidae>).
- Arvalis. n.d. *Le Radis Chinois, Une Destruction plus Facile Que Le Radis Fourrager*.
- Asensio, Dolores, Josep Peñuelas, Iolanda Filella, and Joan Llusà. 2007. "On-Line Screening of Soil VOCs Exchange Responses to Moisture, Temperature and Root Presence." *Plant and Soil* 291(1–2):249–61.
- Ave, DA and JH Visser. 1978. "General Green Leaf Volatiles in the Olfactory Orientation of the Colorado Beetle, *Lerptinotarsa Decemlineata*." *Entomologia Experimentalis et Applicata* 24:738–49.
- Bachy, A., M. Aubinet, C. Amelynck, N. Schoon, B. Bodson, C. Moureaux, P. Delaplace, A. De Ligne, and B. Heinesch. 2018. "Methanol Exchange Dynamics between a Temperate Cropland Soil and the Atmosphere." *Atmospheric Environment* 176(December 2017):229–39.
- Barlow, C. A. 1965. "STIMULATION OF OVIPOSITION IN THE SEED-CORN MAGGOT FLY, *HYLEMYA CILICRURA* (ROND.) (DIPTERA: ANTHOMYIIDAE)." 8(50):83–95.
- Barron, Andrew B. 2001. "The Life and Death of Hopkins' Host-Selection Principle." *Journal of Insect Behavior* 14(6):725–37.
- Benjamin, H. 1954. "THE BIOLOGY AND CONTROL OF THE SEED-CORN MAGGOT (*Hylemya Cilicrura*) ON SPINACH FOLIAGE."
- Beyaert, I., N. Wäschke, A. Scholz, M. Varama, A. Reinecke, and M. Hilker. 2010. "Relevance of Resource-Indicating Key Volatiles and Habitat Odour for Insect Orientation." *Animal Behaviour*.
- Blum, Winfried E. H., Peter Schad, and Stephen Nortcliff. 2018. *Essentials of Soil Science : Soil Formation, Functions, Use and Classification*. Borntraeger Science Publishers.
- Boquel, Sébastien, Jean-Philippe Légaré, and Joseph Moisan-De Serres. n.d. *Fiche Technique Grandes Cultures : Mouche Des Semis*.
- Bosquain, Franck and Anne Marie Fortier. 2016a. *Évaluation de l'efficacité de Biopesticides et Pesticides à Risque Réduit Pour Le Contrôle de La Mouche Des Semis, Delia Platura, Dans l'oignon Jaune*.
- Bosquain, Franck and Anne Marie Fortier. 2016b. *ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ DE*

*BIOPESTICIDES ET PESTICIDES À RISQUE RÉDUIT POUR LE CONTRÔLE DE LA MOUCHE DES SEMIS, DELIA PLATURA, DANS L'OIGNON JAUNE.*

- Bruce, Toby J. A. and John A. Pickett. 2011. "Perception of Plant Volatile Blends by Herbivorous Insects - Finding the Right Mix." *Phytochemistry*.
- Bruce, Toby J. A., Lester J. Wadhams, and Christine M. Woodcock. 2005. "Insect Host Location: A Volatile Situation." *Trends in Plant Science*.
- De Bruyne, M. and T. C. Baker. 2008. "Odor Detection in Insects: Volatile Codes." *J Chem Ecol* 34:882–97.
- Calvet, Raoul, Claire Chenu, and Sabine Houot. 2015. *Les Matières Organiques Des Sols : Rôles Agronomiques et Environnementaux*. Editions F.
- Campos-Herrera, R., J. G. Ali, B. M. Diaz, and L. W. Duncan. 2013. "Analyzing Spatial Patterns Linked to the Ecology of Herbivores and Their Natural Enemies in the Soil." *Frontiers in Plant Science* 4(SEP):1–18.
- Capinera, John L. 2001. *Handbook of Vegetable Pests*. New York: Academic Press.
- Caria, Giovanni, Nicolas Proix, and Henri Ciesielski. 2007. "Dosage Du Carbone Organique Par Combustion Seche Apres Decarbonatation Automatisee Des Sols."
- Caria, Giovanni, Nicolas Proix, and Henri Ciesielski. n.d. *Dosage Du Carbone Organique Par Combustion Sèche Après Décarbonatation Automatisée Des Sols*.
- Chen, Shulong, Xiuying Han, and Maurice Moens. 2003. "Biological Control of Delia Radicum (Diptera: Anthomyiidae) with Entomopathogenic Nematodes." *Applied Entomology and Zoology* 38(4):441–48.
- Cruz, Jesus D. E. L. A., Antonio Hidalgo-galleg, Jose M. Lora, Tahia Benitez, and Jose A. Pintor-tor. 1992. "Isolation and Characterization of Three Chitinases from Trichoderma Harzianum." 867:859–67.
- Dekeirsschieter, Jessica, François Verheggen, Christine Frederickx, Christelle Marlet, Georges Lognay, and Éric Haubruge. 2012. "Comment Les Insectes Communiquent-Ils Au Sein de l'«écosystème-Cadavre»? L'écologie Chimique Des Insectes Nérophages et Nérophiles." *Faunistic Entomology - Entomologie Faunistique* 65:3–13.
- Dellicour, Simon and Thomas Lecocq. 2013. "GCALIGNER 1.0: An Alignment Program to Compute a Multiple Sample Comparison Data Matrix from Large Eco-Chemical Datasets Obtained by GC." *Journal of Separation Science* 36(19):3206–9.
- Eckenrode, C. J., G. E. Harman, and D. R. Webb. 1975. "Seed-Borne Microorganisms Stimulate Seedcorn Maggot Egg Laying." (1).
- Ephytia. 2013. "Biocontrol - Steinernema Feltiae." Retrieved August 30, 2019 (<http://ephytia.inra.fr/fr/C/19256/Biocontrol-Steinernema-feltiae>).
- EU Pesticides database. 2016. "Search Active Substances." Retrieved (<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=FR>).
- Fallis, A. .. 2013. "Dispersal and Host-Finding Ability of Entomopathogenic Nematodes at Low Temperatures." *Journal of Chemical Information and Modeling* 53(9):1689–99.
- FAO. 2005. "Focus: Lutte Intégrée Contre Les Ravageurs à l'échelle Régionale." Retrieved August 30, 2019 (<http://www.fao.org/ag/fr/magazine/0506sp1.htm>).
- Ferry, Antonin. 2007. *ÉCOLOGIE CHIMIQUE APPLIQUÉE A LA LUTTE CONTRE DELIA*

*RADICUM, LA MOUCHE DU CHOU.*

- Fitt, Gary P. 1989. "The Ecology Of Heliothis Species in Relation To Agroecosystems." (66):17–52.
- Fraenkel, Gottfried S. 2016. "The Raison d ' Être of Secondary Plant Substances Linked References Are Available on JSTOR for This Article : The Raison d ' Etre of Secondary Plant Substances." 129(3361):1466–70.
- G. J. House and Maria Del Rosario Alzugaray. 1989. "Influence of Cover Cropping and No-Tillage Practices on Community Composition of Soil Arthropods in a North Carolina Agroecosystem."
- Giri, Bhoopander, Pham Huong Giang, Rina Kumari, Ram Prasad, and Ajit Varma. 2013. *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. Vol. 53.
- Godin, Bruno, François Ghysel, Richard Agneessens, Thomas Schmit, Sébastien Gofflot, Stéphane Lamaudière, Georges Sinnaeve, Jean Pierre Goffart, Patrick A. Gerin, Didier Stilmant, and Jérôme Delcarte. 2010. "Détermination de La Cellulose, Des Hémicelluloses, de La Lignine et Des Cendres Dans Diverses Cultures Lignocellulosiques Dédiées à La Production de Bioéthanol de Deuxième Génération." *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment* 14(SPEC. ISSUE 2):549–60.
- Gouinguéné P., Sandrine and Erich Städler. 2006. "Oviposition in *Delia Platura* (Diptera, Anthomyiidae): The Role of Volatile and Contact Cues of Bean." *Journal of Chemical Ecology* 32(7):1399–1413.
- Gouinguene, S. P. D. and E. Städler. 2005. "Comparison of the Sensitivity of Four *Delia* Species to Host and Non-Host Plant Compounds." *Physiological Entomology* 30(1):62–74.
- Gray, Christopher M., Russell K. Monson, and Noah Fierer. 2010. "Emissions of Volatile Organic Compounds during the Decomposition of Plant Litter." *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences* 115(3).
- Hammond, Ronald B. 1997. "Long-Term Conservation Tillage Studies: Impact of No-till on Seedcorn Maggot (Diptera: Anthomyiidae)." *Crop Protection* 16(3):221–25.
- Hammond, Ronald B. and Richard L. Cooper. 1993. "Interaction of Planting Times Following the Incorporation of a Living, Green Cover Crop and Control Measures on Seedcorn Maggot Populations in Soybean." *Crop Protection* 12(7):539–43.
- Hammond, Ronald B. and Benjamin R. Stinner. 1987. "Seedcorn Maggots (Diptera: Anthomyiidae) and Slugs in Conservation Tillage Systems in Ohio." *Journal of Economic Entomology* 80(3):680–84.
- Harman, G. E., C. J. Eckenrode, and D. R. Webb. 1978. "Alteration of Spermosphere Ecosystems Affecting Oviposition by the Bean Seed Fly and Attack by Soilborne Fungi on Germinating Seeds." Retrieved (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1744-7348.1978.tb02602.x>).
- Harris, C. R. 1977. "Insecticide Resistance in Soil Insects Attacking Crops." *Pesticide Management and Insecticide Resistance* 321–51.
- Harris, C. R., G. F. Manson, and J. H. Mazurek. 1962. "Development of Insecticidal Resistance by Soil Insects in Canada1." *Journal of Economic Entomology* 55(5):777–80.
- Holm, Katelin and Eileen Cullen. 2012. *Insect IPM in Organic Field Crops: Seedcorn Maggot*.
- Honda, Ikuro and Yukio Ishikawa. 1987. *Ultrastructure of the Larval Cephalic Sensory Organs of the Inion and Seed-Corn Flies, Hylemya Antiqua Meigen and H. Platura Meigen (Diptera : Anthomyiidae)*.
- Hough-Goldstein, J. A. 1985. "Oviposition Site Selection By Seedcorn Maggot Flies (Diptera,

- Anthomyiidae) Unaffected By Prior Experience or Larval Host.” *Environmental Entomology* 14(3):289–92.
- Hough-Goldstein, J. A. and M. A. Bassler. 1988. “Effects of Bacteria on Oviposition by Seedcorn Maggots (Diptera: Anthomyiidae).” *Environmental Entomology* 17(1):7–12.
- Hulas, N. and E. Lascaux. 2011. *AFPP-NEUVIEME CONFERENCE INTERNATIONALE SUR LES RAVAGEURS EN AGRICULTURE*.
- Ibrahim, Y. B. and A. A. Hower. 1979. “Oviposition Preference of the Seedcorn Maggot for Various Developmental Stages of Soybeans<sup>123</sup>.” *Journal of Economic Entomology* 72(1):64–66.
- Insam, Heribert and Martin S. A. Seewald. 2010. “Volatile Organic Compounds (VOCs) in Soils.”
- Institut scientifique de service public (ISSeP). 2014. “Détermination de l’azote Total Par Combustion Sèche.” 5–7.
- Ishikawa, Yukio, Toshiaki Ikeshoji, Yoshiharu Matsumoto, Masaaki Tsutsumi, and Yasushi Mitsui. 1981. “Field Trapping of the Onion and Seed-Corn Flies with Baits of Fresh and Aged Onion Pulp.” *Applied Entomology and Zoology*.
- Ishikawa, Yukio, Toshiaki Ikeshoji, Yoshiharu Matsumoto, Masaaki Tsutsumi, and Yasushi Mitsui. 1982. “2-Phenylethanol: An Attractant for the Onion and Seed-Corn Flies, *Hylemya Antiqua* and *H. Platura* (Diptera: Anthomyiidae).” *Applied Entomology and Zoology*.
- Ishikawa, Yukio, Yoshiharu Matsumoto, Masaaki Tsutsumi, and Yasushi Mitsui. 1984a. “Experimental Field Trapping of the Onion and Seed-Corn Flies, *Hylemya Antiqua* and *H. Platura* (Diptera: Anthomyiidae), Using 2-Phenylethanol for Population Estimation.” *Applied Entomology and Zoology*.
- Ishikawa, Yukio, Yoshiharu Matsumoto, Masaaki Tsutsumi, and Yasushi Mitsui. 1984b. “Mixture of 2-Phenylethanol and n-Valeric Acid, a New Attractant for the Onion and Seed-Corn Flies, *Hylemya Antiqua* and *H. Platura* (Diptera: Anthomyiidae).” *Applied Entomology and Zoology*.
- Ishikawa, Yukio, Atsushi Mochizuki, Toshiaki Ikeshoji, and Yoshiharu Matsumoto. 1983. “Mass-Rearing of the Onion and Seed-Corn Flies, *Hylemya Antiqua* and *H. Platura* (Diptera: Anthomyiidae), on an Artificial Diet with Antibiotics.” *Applied Entomology and Zoology* 18(1):62–69.
- Isidorov, Valery and Maria Jdanova. 2012. “Volatile Organic Compounds from Leaves Litter.” *Chemosphere* 48 48:2058–72.
- Jaramillo, Carolina M., José-Joaquín Celeita, and Adriana Sáenz. 2013. *Suceptibility of Delia Platura to Seven Entomopathogenic Nematode Isolates from the Central Andes Region of Colombia*. Vol. 18. Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias.
- Judd, G. J. R. and J. H. Borden. 1989. “Distant Olfactory Response of the Onion Fly, *Delia Antiqua*, to Host-plant Odour in the Field.” *Physiological Entomology* 14(4):429–41.
- Keil, Thomas A. 1997. “Comparative Morphogenesis of Sensilla: A Review.” *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 26(3–4):151–60.
- Kergunteuil, Alan and Matthias Erb. 2014. “Des Odeurs Pour Protéger Les Cultures : Utilisation de Composés Volatils Pour Modifier Le Comportement de La Mouche Du Chou , *Delia Radicum* et de Ses Ennemis Naturels.”
- Košťál, Vladimír. 1992. “Orientation Behavior of Newly Hatched Larvae of the Cabbage Maggot, *Delia Radicum* (L.) (Diptera: Anthomyiidae), to Volatile Plant Metabolites.” *Journal of Insect Behavior* 5(1):61–70.
- Lamy, Fabrice. 2016. “Comprendre et Manipuler La Communication Entre Les Plantes et Les Insectes



Pour Protéger Les Cultures : Vers l'Élaboration d'une Stratégie « Push-Pull » Pour Lutter Contre La Mouche Du Chou (*Delia Radicum*).”

- Langer, Vibeke. 1996. “Insect-Crop Interactions in a Diversified Cropping System: Parasitism by *Aleochara Bilineata* and *Trybliographa Rapae* of the Cabbage Root Fly, *Delia Radicum*, on Cabbage in the Presence of White Clover.” *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80(2):365–74.
- Lascaux, E., S. Gerard, and R. Dutertre. 2015. *AFPP-CINQUIÈME CONFÉRENCE INTERNATIONALE SUR LES MÉTHODES ALTERNATIVES DE PROTECTION DES PLANTES LILLE-11 AU 13 MARS 2015 BILAN DE 4 ANNEES D'ETUDE DE SOLUTIONS DE BIOCONTROLE DANS LA LUTTE CONTRE LES MOUCHES DU GENRE DELIA SP. EN MARAICHAGE*.
- Lechner, Matthias, Manfred Fille, Johann Hausdorfer, Manfred P. Dierich, and Josef Rieder. 2005. “Diagnosis of Bacteria in Vitro by Mass Spectrometric Fingerprinting: A Pilot Study.” *Current Microbiology* 51(4):267–69.
- Lee, You Jung, Bo Kyung Kim, Bo Hwa Lee, Kang Ik Jo, Nam Kyu Lee, Chung Han Chung, Young Choon Lee, and Jin Woo Lee. 2008. “Purification and Characterization of Cellulase Produced by *Bacillus Amyoliquefaciens* DL-3 Utilizing Rice Hull.” *Bioresource Technology* 99(2):378–86.
- Leff, Jonathan W. and Noah Fierer. 2008. “Volatile Organic Compound (VOC) Emissions from Soil and Litter Samples.” *Soil Biology and Biochemistry*.
- Légaré, Jean-Philippe and Joseph Moisan-De Serres. 2015. “La Mouche Des Semis (*Delia Platura* ).” 1–5.
- Li, X. Y., R. S. Cowles, E. A. Cowles, R. Gaugler, and D. L. Cox-Foster. 2007. “Relationship between the Successful Infection by Entomopathogenic Nematodes and the Host Immune Response.” *International Journal for Parasitology*.
- McClanahan, R. J. and L. A. Miller. 1958. “Laboratory Rearing of the Seed-Corn Maggot, *Hylemya Cilicrura* (Rond.) (Diptera: Anthomyiidae).” *The Canadian Entomologist* 90(6):372–74.
- Meillour, Patricia Nagnan-le. 1998. “Le Rôle Des Protéines Liant Les Odeurs (OBP) Dans La Transduction Olfactive.” *L'Année Biologique* 37(2):69–93.
- Miller, James R. and Brian K. Haarer. 1981. “Yeast and Corn Hydrolysates and Other Nutritious Materials as Attractants for Onion and Seed Flies.” *Journal of Chemical Ecology* 7(3):555–62.
- Miller, L. A. and R. J. McClanahan. 1960. “Life-History of the Seed-Corn Maggot, *Hylemya Cilicrura* (Rond.) and of *H. Litorata* (Mg.) (Diptera: Anthomyiidae) in Southwestern Ontario.”
- Mochizuki, Atushi, Yukio Ishikawa, and Yoshiharu Matsumoto. 1988. *Olfactory Response of the Larvae of the Onion Fly, Hylemya Antiqua Meigen (Diptera : Anthomyiidae) to Volatile Compounds*.
- Montecinos, Maria Teresa, Patricio Arretz, and Jaime E. Araya. 1986. “Chemical Control of *Delia Platura* in *Phaseolus Vulgaris* with Seed and Soil Treatments in Chile.” 5:427–29.
- Nault, Brian A., Richard W. Straub, and Alan G. Taylor. 2006. “Performance of Novel Insecticide Seed Treatments for Managing Onion Maggot (Diptera: Anthomyiidae) in Onion Fields.” *Crop Protection* 25(1):58–65.
- NBN Atlas. 2017. “Anthomyiidae.” Retrieved July 30, 2019 (<https://species.nbnatlas.org/species/NBNSYS0000159382>).
- Nunes, Claudio, J. Lix, and E. Guarchaj. n.d. *Lutte Contre La Mouche Des Semis: L'exemple Du Guatemala*.

- Ohta, Shinya, Yousuke Seto, Koichiro Tamura, Yukio Ishikawa, and Takashi Matsuo. 2015. "Comprehensive Identification of Odorant-Binding Protein Genes in the Seed Fly, *Delia Platura* (Diptera: Anthomyiidae)." *Applied Entomology and Zoology* 50:457–63.
- Paul Das, Merina, L. Jeyanthi Rebecca, S. Sharmila, Anu, Ankita Banerjee, and Dhiraj Kumar. 2012. "Identification and Optimization of Cultural Conditions for Chitinase Production by *Bacillus Amyloliquefaciens* SM3." *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 4(12):4969–74.
- Perspectives Agricoles. 2012. *FICHE ACCIDENT La Mouche Des Semis*.
- Phytoweb. 2015. "Phytoweb : Produits Phytopharmaceutiques et Engrais." Retrieved (<https://fytoweb.be/fr/autorisations>).
- Phytoweb. 2019. "Produit à Base de Cyantranilprole Temporairement Autorisé Contre *Drosophila Suzukii*, La Mouche Du Chou, La Mouche de l'oignon et Le Thrips En Différentes Cultures | Phytoweb." Retrieved August 30, 2019 (<https://fytoweb.be/fr/nouvelles/produit-base-de-cyantranilprole-temporairement-autorise-contre-drosophila-suzukii-la>).
- Picimbon, Jean-François. 2002. "Les Péri-Récepteurs Chimiosensoriels Des Insectes."
- Poprawski, T. J., P. H. Robert, and N. K. Maniania. 1985. "SUSCEPTIBILITY OF THE ONION MAGGOT, *DELIA ANTIQUA* (DIPTERA: ANTHOMYIIDAE), TO THE MYCOTOXIN DESTRUXIN E." *The Canadian Entomologist* 117(06):801–2.
- Potard, Kevin, Cécile Monard, Jean Luc Le Garrec, Jean Pierre Caudal, Nathalie Le Bris, and Françoise Binet. 2017. "Organic Amendment Practices as Possible Drivers of Biogenic Volatile Organic Compounds Emitted by Soils in Agrosystems." *Agriculture, Ecosystems and Environment* 250(September):25–36.
- Raza, Waseem, Xinlan Mei, Zhong Wei, Ning Ling, Jun Yuan, Jichen Wang, Qiwei Huang, and Qirong Shen. 2017. "Profiling of Soil Volatile Organic Compounds after Long-Term Application of Inorganic, Organic and Organic-Inorganic Mixed Fertilizers and Their Effect on Plant Growth." *Science of the Total Environment* 607–608:326–38.
- Read, D. C. 1962. "Notes on the Life History of *Aleochara Bilineata* (Gyll.) (Coleoptera: Staphylinidae), and on Its Potential Value as a Control Agent for the Cabbage Maggot, *Hylemya Brassicae* (Bouch) (Diptera: Anthomyiidae)." *The Canadian Entomologist* 94(4):417–24.
- Reid, W. J., JR. 1940. *Biology of the Seed-Corn Maggot in the Coastal Plain of the South Atlantic States*.
- Roger-Estrade, J. 2004. "Dégradation Des Matières Organiques." Retrieved August 12, 2019 ([https://tice.agroparistech.fr/coursenligne/courses/SIAFEEAGRONOMIE5bd9/document/people/ments/sol/part2\\_mo\\_degradation.htm](https://tice.agroparistech.fr/coursenligne/courses/SIAFEEAGRONOMIE5bd9/document/people/ments/sol/part2_mo_degradation.htm)).
- Ross, Kathryn T. A. 1992. *COMPARATIVE STUDY OF THE ANTENNAL SENSILLA OF FIVE SPECIES OF ROOT MAGGOTS*. Vol. 21.
- Sanborn, S. M., J. A. Wyman, and R. K. Chapman. 1982. "Threshold Temperature and Heat Unit Summations for Seedcorn Maggot Development under Controlled Conditions." *Annals of Entomological Society of America* 75(1):103–6.
- Savage, Jade, Anne-marie Fortier, François Fournier, and Véronique Bellavance. 2016. "Identification of *Delia* Pest Species (Diptera: Anthomyiidae) in Cultivated Crucifers and Other Vegetable Crops in Canada." *Canadian Journal of Arthropod Identification* 29(29):1–40.
- Schuster, André and Monika Schmoll. 2010. "Biology and Biotechnology of *Trichoderma*." 787–99.
- Sem-Partners. 2016a. *CIPAN : Radis Chinois Hiver*.
- Sem-Partners. 2016b. *Sarrasin : L' Interculture Courte Pour Maîtriser Les Adventices*.

- Sem-Partners. 2017. *Carthame : Hyper-Résistant Aux Conditions Sèches*.
- Sharma, Brij Lal, Sujeet Pratap Singh, and Mukut Lal Sharma. 2012. "Bio-Degradation of Crop Residues by Trichoderma Species Vis-à Vis Nutrient Quality of the Prepared Compost." *Sugar Tech* 14(2):174–80.
- Siddiquee, Shafiquzzaman. 2014. "Recent Advancements on the Role and Analysis of Volatile Compounds (VOCs) from Trichoderma." in *Biotechnology and Biology of Trichoderma*.
- Siddiquee, Shafiquzzaman, Bo Eng Cheong, Khanam Taslima, Hossain Kausar, and Md Mainul Hasan. 2012. "Separation and Identification of Volatile Compounds from Liquid Cultures of Trichoderma Harzianum by GC-MS Using Three Different Capillary Columns." *Journal of Chromatographic Science* 50(4):358–67.
- Simser, Davr. 1992. *Field Application of Entomopathogenic Nematodes for Control of Delia Radicum in Collards I*. Vol. 24.
- Singh, Anuradha, Mohammad Shahid, Mukesh Srivastava, Sonika Pandey, Antima Sharma, and Vipul Kumar. 2015. "Optimal Physical Parameters for Growth of Trichoderma Species at Varying Virology & Mycology Optimal Physical Parameters for Growth of Trichoderma Species at Varying PH , Temperature and Agitation." (January 2014):1–8.
- Sonet, Michel. 2019. "Agroécologie, Module : Pédologie."
- Soroka, Juliana J. and Lloyd M. Dossall. 2011. *Coping with Root Maggots in Prairie Canola Crops*.
- Urbina-Salazar, Anabell del Rocío, Alberto Renato Inca-Torres, Gonzalo Falcón-García, Pilar Carbonero-Aguilar, Bruno Rodríguez-Morgado, José A. del Campo, Juan Parrado, and Juan Bautista. 2019. "Chitinase Production by Trichoderma Harzianum Grown on a Chitin-Rich Mushroom Byproduct Formulated Medium." *Waste and Biomass Valorization* 10(10):2915–23.
- Valenciano, J. .., P. .. Casquero, and J. .. Boto. 2004. "Evaluation of the Occurrence of Bean Plants (Phaseolus Vulgaris L.) Affected by Bean Seed Fly, Delia Platura (Meigen), Grown under Different Sowing Techniques and with Different Forms of Pesticide Application." *Field Crops Research* 85(2–3):103–9.
- Valenciano, J. B. and B. Reinoso. 2005. *Evaluation of Different Seed Treatment for Control of Bean Seed Fly (Delia Platura [Meigen]) on Bean in Spain*.
- Wang, Qi Ke, Yan Zhi Yang, Mei Qin Liu, and Dong Zhang. 2014. "Fine Structure of Delia Platura (Meigen) (Diptera: Anthomyiidae) Revealed by Scanning Electron Microscopy." *Microscopy Research and Technique* 77(8):619–30.
- Wang, San Lang, Ing Lung Shih, Tze Wun Liang, and Chi Hau Wang. 2002. "Purification and Characterization of Two Antifungal Chitinases Extracellularly Produced by Bacillus Amyloliquefaciens V656 in a Shrimp and Crab Shell Powder Medium." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(8):2241–48.
- Wang, Yi, James F. Campbell, and Randy Gaugler. 1995. "Infection of Entomopathogenic Nematodes Steinernema Glaseri and Heterorhabditis Bacteriophora against Popillia Japonica (Coleoptera: Scarabaeidae) Larvae." *Journal of Invertebrate Pathology* 66:178–84.
- Webster, Ben, Toby Bruce, John Pickett, and Jim Hardie. 2010. "Volatiles Functioning as Host Cues in a Blend Become Nonhost Cues When Presented Alone to the Black Bean Aphid." *Animal Behaviour*.
- Weston, P. A. and J. R. Miller. 1989. "Ovipositional Responses of Seecorn Maggot, Delia Platura (Diptera: Anthomyiidae), to Developmental Stages of Lima Bean." *Annals of Entomological Society of America* 82:387–92.
- Wheatley, Ron, Christine Hackett, Alan Bruce, and Andrzej Kundzewicz. 1997. "Effect of Substrate

Composition on Production of Volatile Organic Compounds from Trichoderma Spp. Inhibitory to Wood Decay Fungi.” *International Biodeterioration and Biodegradation*.

Willmott, Deena M., Andrew J. Hart, Steve J. Long, Paul N. Richardson, and David Chandler. 2002. “Susceptibility of Cabbage Root Fly *Delia Radicum*, in Potted Cauliflower (*Brassica Oleracea* Var. *Botrytis*) to Isolates of Entomopathogenic Nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* Spp.) Indigenous to the UK.” *Nematology* 4(8):965–70.

Wilson, Rob G., Steve B. Orloff, and Alan G. Taylor. 2015. “Evaluation of Insecticides and Application Methods to Protect Onions from Onion Maggot, *Delia Antiqua*, and Seedcorn Maggot, *Delia Platura*, Damage.” *Crop Protection* 67:102–8.

Wu, Ting, Xinming Wang, Dejun Li, and Zhigang Yi. 2010. “Emission of Volatile Organic Sulfur Compounds (VOSCs) during Aerobic Decomposition of Food Wastes.” *Atmospheric Environment* 44(39):5065–71.

Yu, Ching-Chieh, D. R. Webb, R. J. Kuhr, and C. J. Eckenrode. 1975. “Attraction and Oviposition Stimulation of Seedcorn Maggot Adults to Germinating Seeds.” *Environmental Entomology* 4(4):545–48.



Annexe 2. Diète artificielle utilisée pour l'élevage des larves de *Delia platura*  
(Ishikawa et al. 1983).

Ingredients	Quantity	Cost <sup>a</sup>
1) Guinea pig food <sup>b</sup> (RC-4®, Powder, Oriental Kobo Co.)	8 g	1.68 yen
2) Defatted soybean flour <sup>c</sup> (Prorich®, Ajinomoto Co.)	14	7.00
3) Cellulose powder (Pulp Flock®, Sanyo pulp Co.)	14	4.90
4) Dehydrated yeast powder (Ebios®, Ebios Co.)	4	3.76
5) Sucrose	4	1.12
6) Agar powder (Nakarai Chemicals Co.)	4	21.60
7) Choline chloride (Wako Pure Chemicals Co.)	300 mg	3.96
8) Ascorbic acid (Takeda Pharmaceuticals Co.)	300	1.80
9) Methyl p-hydroxy benzoate	600	2.00
10) Chloramphenicol (Chloromyctin® sol intramuscular, Sankyo)	0.6 ml <sup>d</sup>	16.80
11) Neomycin sulfate (Sigma Chemicals)	150 mg	23.40
12) Distilled water	200 ml	—
Total	250.0 g	88.02

<sup>a</sup> 1981 Cost.

<sup>b</sup> GC-4®, a formula for pregnant animals, is also usable.

<sup>c</sup> This can be substituted by Ajipron®, a product of the same company.

<sup>d</sup> 150 mg equivalent.

*Preparation of the artificial diet.* Ingredients 1 to 6, 9 and 12 listed in Table 1 were weighed in an aluminum container (120×170×55 mm) and blended thoroughly. The mixture was covered, steamed for 20 min, and again well stirred until it cooled below 60°C. Meanwhile, choline chloride, ascorbic acid and antibiotics or formalin were dissolved in 10 ml of water in a small vial. Then this antibiotic solution was added to the diet in small portions so that it was homogeneously incorporated. The diet could be stored over one month in a refrigerator.

Annexe 3. Liste des composés organiques volatils émis en semaine 1 de test pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+, exprimés en ng de COVs pour une heure de prélèvement.

<b>Composés organiques volatils</b>	<b>Moy_T (ng)</b>	<b>Moy_A- (ng)</b>	<b>Moy_A+ (ng)</b>	<b>Moy_CT- (ng)</b>	<b>Moy_CT+ (ng)</b>
<b>Hexane, 3-méthyl-</b>	0	0	49,5414987	1,63384564	1,61097702
<b>Diméthyl disulfure</b>	0	0	0	23,5862703	11,1525712
<b>Benzaldéhyde</b>	0	1,1698544	45,1736146	0,55813042	0,55787729
<b>1-Octen-3-one</b>	0	0,29966679	1,06747668	3,04654096	4,33998499
<b>1-Octen-3-ol</b>	0	0	0	0	2,61897202
<b>Carbamic acid, methyl-, phenyl ester</b>	0,80959134	0	0,85601503	4,20806337	0
<b>Phosphonic acid, (p-hydroxyphenyl)-</b>	0,40446687	3,09152568	93,0672607	0	2,21712309
<b>3-Octanone</b>	2,2758508	0,92788769	29,1005994	17,621819	11,5494962
<b>Octanal</b>	0	0,10152351	8,28634366	0,28550895	0
<b>2-Propyl-1-pentanol</b>	0	0,37244862	0	0,35628552	0,89235754
<b>Nonanal</b>	0,12067468	1,49658796	50,0788005	3,64943343	2,41342783
<b>2-[(Trimethylsilyloxy)-2-{4-[(trimethylsilyloxy)phenyl]ethanamine</b>	1,42736469	1,09697294	0	3,84890185	1,98054743
<b>Benzoic acid</b>	1,67528594	4,77874336	0	3,43347627	2,37250727
<b>Decanal</b>	0,20941791	0,58458333	0,88680277	1,74685512	0,77716028
<b>Heptadecane</b>	0,97423348	1,14459036	0	0,76803607	0,55287309
<b>2,4-Di-tert-butylphenol</b>	0	0	25,2178341	1,05579076	0,35333982
<b>Nonadecane</b>	0,58176613	0	0	0	0
<b>Glutaric acid, butyl isobutyl ester</b>	6,4462412	5,64173595	148,203142	8,59896503	4,68188384
<b>2,2'-Binaphthalène, 5,5',6,6',7,7',8,8'-octahydro-</b>	0	11,6551482	0	0	0

Annexe 4. Liste des composés organiques volatils émis en semaine 2 de test pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+, exprimés en ng de COVs pour une heure de prélèvement.

Composés organiques volatils	Moy_T (ng)	Moy_A- (ng)	Moy_A+ (ng)	Moy_CT- (ng)	Moy_CT+ (ng)
Hexane, 3-methyl-	1,97936712	1,81797637	1,74414908	2,26974963	2,02997447
8-Oxabicyclo[3.2.1]oct-6-en-3-one	0,78059552	0	0	0,20039056	0
Benzaldehyde	1,26620568	0,98183266	1,09514124	1,3747679	1,22929445
1-Octen-3-one	0	0,92639058	0,42682814	1,13860423	0,57459941
Carbamic acid, methyl-, phenyl ester	3,74064283	1,31788139	1,77057497	2,22353418	1,76242144
3-Octanone	0,44087903	1,81110413	0,72766322	2,38795986	0
Octanal	0	0,19582634	0,19545664	0,12777479	1,58374932
4-Cyanocyclohexene	0	0,11110381	0,30702909	0,17465677	0,58886184
1-Hexanol, 2-ethyl-	1,57203354	0	0	0	0
2-Propyl-1-pentanol	0	0,11876285	0,30968074	0,18743647	0,35077502
(Z)-3,7-Dimethyl-2,7-octadien-1-ol, propanoate(ester)	0	0,27110914	0,14010021	0	0
Acetophenone	0,5258392	0,33430517	0	0	0,55783845
Undecane	0	0	0	0	0,19765369
Nonanal	0,98222504	0,95302593	0,76283078	0,48373595	0,82845552
2-[(Trimethylsilyl)oxy]-2-[4-[(trimethylsilyl)oxy]phenyl]ethanamine	3,21602673	2,84392402	2,21117906	2,1590754	3,41603447
Benzoic acid	0,71137706	0,71777237	0,91218281	0	1,98118371
Decanal	0,45990304	0,26355082	0,18542867	0,13136257	0,47208211
Tetradecane	0,95298415	0,45024275	0,4654378	0	1,20542268
Glycerol 1,2-diacetate	1,13437788	0	0	0	0,98506238
Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester	0,34097534	0	0	0	0
Pentadecane	1,24420619	0,50900608	0,56037987	0,26310563	1,1324574
Tetradecanal	0,34376583	0	0	0	0
1-Dodecanol	0,10762117	0,10716484	0,08416482	0	0,08104158
Hexadecane	1,79706935	0,41167253	0,35866758	0	0,48020398
2,4-Di-tert-butylphenol	0	1,42940183	1,02483764	0,90259914	0,95804216
2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	2,7747025	0	0	0	0
Heptadecane	1,6791878	0,18109692	0,14814207	0,11823107	0,38009561
Benzene, (1-butylheptyl)-	0	0,43009796	0,2503171	0,40913409	0,52128306
Glutaric acid, butyl isobutyl ester	18,268896	18,067532	10,281435	2,56101378	14,7003713
Dibutyl adipate	0,90765318	1,52549817	1,0905586	0	2,20895861
Bis(1-chloro-2-propyl)(3-chloro-1-propyl)phosphate	0	0	0,26618878	0,1673898	0,39615456
2,2'-Binaphthalene, 5,5',6,6',7,7',8,8'-octahydro-	8,58014436	9,2647173	7,97441872	5,42094271	2,81772478



Annexe 5. Liste des composés organiques volatils émis en semaine 3 de test pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+, exprimés en ng de COVs pour une heure de prélèvement.

<b>Composés organiques volatils</b>	<b>Moy_T (ng)</b>	<b>Moy_A- (ng)</b>	<b>Moy_A+ (ng)</b>	<b>Moy_CT- (ng)</b>	<b>Moy_CT+ (ng)</b>
<b>Hexane, 3-methyl-</b>	2,15553051	1,96829988	1,19367873	2,09804482	1,37275155
<b>Benzaldehyde</b>	0,70765514	0,92757683	0,23398276	1,03831531	0,27817548
<b>Carbamic acid, methyl-, phenyl ester</b>	0,97355388	0,10241816	0	1,65513838	0,62717144
<b>Octanal</b>	0,25670957	0,18143364	0,81569302	1,46084805	0,34155499
<b>2-Propyl-1-pentanol</b>	1,04415052	0,37155332	0,76711053	0,13018251	0,74199875
<b>Undecane</b>	0	0	0	0,14410766	0,20681716
<b>Nonanal</b>	0,97992527	0,59397419	1,81770389	2,41632186	1,21138667
<b>2-[(Trimethylsilyl)oxy]-2-[4- [(trimethylsilyl)oxy]phenyl]ethanamine</b>	22,4336855	4,55075399	11,5750659	4,56705987	6,68329535
<b>Dodecane</b>	0	0	0,25417592	0,18115058	0,38932524
<b>Decanal</b>	0,31384215	0,10344566	0,59644784	0,354252	0,44144009
<b>Malonic acid, bis(2-trimethylsilylethyl ester</b>	0,29405412	0	1,1838292	0	0
<b>Tetradecane</b>	0,34362848	0,08425384	0,42602016	0,51876688	0,8914542
<b>Pentadecane</b>	0,77231663	0,26684428	0,41742676	0,60256116	1,02542695
<b>Nonadecane</b>	1,1702594	0,25286941	0,4467668	0,62850127	1,33205059
<b>2,4-Di-tert-butylphenol</b>	0	0,37999765	0	0,27694901	0,94067788
<b>2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate</b>	1,67399354	1,64461116	0,42226255	1,63545581	0,88349678
<b>Heptadecane</b>	1,20791032	0	0	0,87256846	0,33478542
<b>Ethylene glycol - Adipate - Diethylene glycol</b>	0,41029287	0	0	1,1994203	0
<b>Glutaric acid, butyl isobutyl ester</b>	13,3946595	2,40890875	12,937305	9,75380926	30,6242727

Annexe 6. Liste des composés organiques volatils émis en semaine 4 de test pour les modalités T, A-, A+, CT- et CT+, exprimés en ng de COVs pour une heure de prélèvement.

Composés organiques volatils	Moy_T (ng)	Moy_A- (ng)	Moy_A+ (ng)	Moy_CT- (ng)	Moy_CT+ (ng)
Hexane, 3-methyl-	2,0805963	1,70001262	2,0159736	2,08019391	2,02954376
Toluene	1,56854995	0,73463122	0,83843658	1,49916267	1,53868939
p-Xylene	0,64960815	0	0,33059469	0,42732748	0,54191636
Benzene, 1,3-dimethyl-	0	0,26952847	0,29631506	0,30040718	0,86315775
(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-ene	0,75729935	0	0	0	0
Benzaldehyde	0,58671572	0,70933657	0,97429319	0,94421006	0,86390644
Carbamic acid, methyl-, phenyl ester	2,33548497	1,86961566	0	0,93590751	0
3-Octanone	0	0	0	3,19777707	0,70741986
Decane, 2,2-dimethyl-	0	0,31150208	0,35633684	0,78096226	0,40218678
Mesitylene	0	0,88308798	0,97908746	0,79917558	1,3424378
Octanal	0	0,18861695	0,2329539	0,31889993	0,15450508
4-Cyanocyclohexene	0	0,30722255	0,2782667	0,29250165	0,4242552
2-Propyl-1-pentanol	1,61788546	0,80305272	1,04994756	2,78460087	0,63355643
Undecane	0	0,14421355	0,29589606	0,32714078	0,12750851
Nonanal	0,6845278	0,79192813	1,04746675	1,79039468	0,70082443
2-[(Trimethylsilyl)oxy]-2-[4-[(trimethylsilyl)oxy]phenyl]ethanamine	2,46417845	2,88779679	2,93407437	2,59328578	2,54410627
Decane, 5-propyl-	0,75121132	0,19176091	0,41880655	0,23313991	0
Decanal	0,40548121	0,26464227	0,38788005	0,50990707	0
1,3,5,7,9-Pentasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9-decamethyl-1,9-di(tert.butyl)-	0	0	0,28718237	0	0
Tetradecane	1,87632956	0,41403793	0,5402047	0,5570527	0,12091474
Glycerol 1,2-diacetate	2,2066959	0	0	0,62069142	0
Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl ester	0,89731976	0	0	0,34809271	0
Pentadecane	2,9008118	0,64809144	0,64199624	0,94447611	0,39440424
5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (Z)-	0	0	0,29132803	0	0
Hexadecane	1,90457402	0,59094963	0,65276996	1,37286379	0,58856016
2,4-Di-tert-butylphenol	0	1,2017272	1,39515444	0,83991898	0,55914575
2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	2,5917558	0	0,28478645	1,08174952	0
Heptadecane	1,17253624	0,33518801	0,25969086	1,0788325	0,37156549
Ethylene glycol - Adipate - Diethylene glycol	2,68701826	0	0	0	0
Glutaric acid, butyl isobutyl ester	61,5714546	35,8127497	37,1074931	26,4891784	2,05400172
Dibutyl adipate	3,45576792	1,53274541	0,17777118	0,1980135	0