

COMMUNAUTE FRANCAISE DE BELGIQUE

ACADEMIE UNIVERSITAIRE WALLONIE-EUROPE

UNIVERSITE DE LIEGE – GEMBLoux AGRO-BIO TECH

Etude des relations pucerons-virus en pomme de terre et perspectives de stratégies alternatives de lutte

Almouner ag Alhamis YATTARA

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

Promoteur: Prof. Frédéric FRANCIS

Co-promoteur: Prof. Eric HAUBRUGE

2013

COMMUNAUTE FRANCAISE DE BELGIQUE

ACADEMIE UNIVERSITAIRE WALLONIE-EUROPE

UNIVERSITE DE LIEGE – GEMBLoux AGRO-BIO TECH

Etude des relations pucerons-virus en pomme de terre et perspectives de stratégies alternatives de lutte

Almouner ag Alhamis YATTARA

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

Promoteur: Prof. Frédéric FRANCIS

Co-promoteur: Prof. Eric HAUBRUGE

2013

Copyright. *Aux termes de la loi belge du 30 juin 1994, sur le droit d'auteur et les droits voisins, seul l'auteur a le droit de reproduire partiellement ou complètement cet ouvrage de quelque façon et forme que ce soit ou d'en autoriser la reproduction partielle ou complète de quelque manière et sous quelque forme que ce soit. Toute photocopie ou reproduction sous autre forme est donc faite en violation de la dite loi et des modifications ultérieures.*

Almouner ag Alhamis Yattara (2013). Etude des relations pucerons-virus en pomme de terre et perspectives de stratégies alternatives de lutte (Thèse de doctorat). Gembloux, Belgique, Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, 114 p., 12 tabl., 8 fig.

Résumé – Dans une approche de productions durables, la mise en œuvre du contrôle biologique en pomme de terre, des bio-agresseurs en général, et des pucerons et viroses associées en particulier est essentielle. Au vu du manque de données disponibles pour le Mali, il était essentiel d'étudier les protagonistes liés à cette localisation géographique et de comparer les résultats à la situation en Belgique. Une comparaison de deux techniques de piégeage des pucerons a été réalisée. Nous avons démontré que les pièges jaunes sont plus efficaces que les pièges Malaise dans le suivi des pucerons en pomme de terre. L'utilisation des techniques de piégeage et les limitations de chacune de celles-ci ont été discutées dans le cadre de la mise en œuvre d'une surveillance de ravageurs de cultures, dans un secteur ou la question de l'échantillonnage des pucerons collectés et la manière de procéder à cette fin reste débattue. Ensuite, la présence et l'impact de l'aphidifaune au Mali ont été suivis pendant trois ans consécutifs. Dix-neuf espèces de pucerons ont été recensées, pour la première fois sur l'ensemble des zones investiguées. Corollairement, la présence du virus Y de la pomme de terre et du virus de l'enroulement a été ainsi montrée dans les deux principales régions productrices de pomme de terre au Mali. L'occurrence de ces maladies virales s'est révélée être très homogène d'une année à l'autre avec des taux relativement importants. Cette étude est une première quantification dans cette région du Mali de l'importance des couples pucerons vecteurs – virus en culture de pomme de terre. Enfin, la thèse établit une comparaison avec les conditions de production en Belgique où nous avons aussi, démontré une abondance et une richesse spécifique des espèces de pucerons, plus élevées qu'au Mali. Contrairement au Mali, seul le virus Y de la pomme de terre, détecté par RT-PCR dans les champs de production de plants et de consommation en Wallonie avec l'apparition des souches PVY^N et PVY^{NTN}. Les relations entre la diversité des pucerons - l'abondance et la présence de virus dans les champs de pommes de terre ont été examinés afin d'améliorer les stratégies de contrôle du virus. Les résultats des surveillances des couples pucerons-virus associés sont discuté dans le cadre de mise en œuvre de modèle épidémiologiques et de perspectives de stratégies alternatives de lutte contre les bio-agresseurs ciblés.

Almouner ag Alhamis Yattara (2013). Study of aphid-virus relationships in potato and prospects of alternative control strategies (PhD thesis) Gembloux, Belgium, University of Liege, Gembloux Agro-Bio Tech, 114 p., 12 tabl., 8 fig.

Abstract – Sustainable approach of crop production, including the implementation of biological control is essential in potato pest and disease control in general, and aphids and viruses associated in particular. In addition, given to the lack of data available for Mali, it was essential to study the aphid and virus actors related to this geographical location. Here we firstly proposed to compare two techniques for trapping aphids. During two growing seasons, the yellow traps were found to be more effective (73.6%) than Malaise traps (26.4%) in the potato aphid survey. The use of trapping techniques and limitations of each of these were discussed in the context of the implementation of a monitoring crop pests in an area or issue of sampling aphids collected. How to efficiently proceed for this purpose was discussed. Then, as very few data documenting the presence and impact of aphids in Mali were available, we followed for three consecutive years, the abundance and diversity of aphids in the fields of potato consumption. Nineteen species of aphids have been identified for the first time in all investigated areas. As a corollary, the presence of potato virus Y and potato leaf roll virus was shown in the two main producing areas of potato. The occurrence of these viral

diseases has proved to be very consistent from one year to another with relatively high levels. This study is a first quantification in this region of Mali of the importance of aphid vector-virus couples in cultured potato. Finally, a comparison with the conditions of production in Belgium was performed and higher abundance and richness of aphid species was found in Belgium than in Mali. Unlike Mali, only the potato virus Y detected by RT-PCR in the fields of plant production and consumption in Wallonia with the appearance of PVY-N and PVY-NTN strains. The relationship between the diversity of aphids - abundance and the presence of virus in the potato fields were examined to improve the control strategies of the virus.

*Je dédie ce travail à tous mes compatriotes
victimes de la barbarie des islamistes
et des bandits armés qui ont agressé
mon pays, le Mali*

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de cette thèse. Je remercie par la même occasion tous ceux qui ne sont peut être pas cités mais qui se reconnaîtront, et dont la présence ou intervention à un moment donné de la thèse était bénéfique.

Je tiens d'abord à remercier, le professeur Frédéric Francis, mon promoteur de thèse pour m'avoir donné l'occasion de réaliser ce travail fascinant et stimulant. Ses précieux conseils, son écoute permanente ont été pour moi d'un apport inestimable. Je lui suis reconnaissant de la confiance qu'il m'a accordée, des discussions enrichissantes que nous avons eues. Outre ses qualités humaines, je salue la qualité de son encadrement, sa disponibilité pour répondre à mes questions ou pour me relire mêmes pendant les périodes chaudes, sa vigilance scientifique, ainsi que sa patience dans les corrections de mes écrits, suite aux nombreux allers-retours. Merci, pour toutes les choses qu'il a fait pour moi et que je pourrais pas citer ici, mais qui resteront à jamais graver dans ma mémoire. Merci pour tout.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit du professeur Eric Haubruge, co-promoteur de ce travail, pour m'avoir accepté comme doctorant au sein de l'unité d'entomologie fonctionnelle et évolutive, alors qu'il dirigeait ce service.

A mon promoteur local, Dr Amadou K. Coulibaly, pour avoir cru en moi et accepter m'encadrer au sein de son laboratoire au Mali. Il était toujours là, pour répondre à mes nombreuses sollicitations. J'ai beaucoup appris à ses côtés.

A la coopération technique Belge (CTB) pour m'avoir accordé leur confiance en m'octroyant le financement nécessaire qui m'a permis de mener à bien cette thèse.

A toute l'unité d'Entomologie fonctionnelle et évolutive

A l'unité de Phytopathologie de l'Université Catholique de Louvain, pour la collaboration et l'analyse des échantillons foliaires issus des parcelles de la Wallonie

A mes collègues: René Noël Poligui, Sandrine Bayendi, Emilie Bosquée, Julien Bauwens, Slimane Boukhra, j'en oublie certainement.

Je remercie enfin, ma famille pour leur soutien et leurs encouragements et surtout leur patience.

Table des matières

CHAPITRE I: INTRODUCTION GÉNÉRALE	13
CHAPITRE II : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	19
1. Introduction	23
2. Diversité des pucerons en pomme de terre.....	24
3. Diversité de virus de la pomme de terre.....	25
4. Rôle des bactéries symbiotiques dans la transmission virale.....	28
5. Stratégies de lutte contre les pucerons et virus associés	30
6. Alternatives de lutte pour réduire la transmission virale.....	31
6.1. Lectines et interactions dans la transmission virale.....	32
6.2. Application des lectines dans la réduction de transmission virale.....	33
6.3. Application des substances informatives dans la réduction de transmission virale.....	33
7. Conclusions	35
CHAPITRE III : OBJECTIFS	43
CHAPITRE IV : IMPACT DES MÉTHODES DE PIÉGEAGE SUR L'EFFICACITÉ DE SURVEILLANCE DES PUCERONS: ILLUSTRATION DANS LES CHAMPS DE POMMES DE TERRE EN BELGIQUE.....	47
Introduction	50
Matériels et méthodes.....	53
Résultats	53
Discussion	57
CHAPITRE V : DIVERSITÉ ET ABONDANCE DES PUCERONS[HOMOPTERA: APHIDIDAE] ET LEUR IMPACT DANS LA DISSÉMINATION DES VIRUS INFECTANT LA POMME DE TERRE AU MALI.....	61
Introduction	64
Matériels et méthodes.....	65
Résultats	68
CHAPITRE VI : SYSTEMATIC SURVEY OF APHIDS AND ASSOCIATED VIRUS IN POTATO FIELDS: A FOUR YEAR OVERVIEW IN SOUTH PART OF BELGIUM	81
Introduction	84
Materials and methods	85

Results	87
Discussion	91
CHAPITRE VII : DISCUSSION GÉNÉRALE, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	99
DISCUSSION GÉNÉRALE	101
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	104
CHAPITRE VII: LISTE DES PUBLICATIONS ET PARTICAPTIONS AUX CONGRÈS.....	107
1. Publications.....	109
2. Communications	109
Liste des tableaux	113
Liste des figures	114

CHAPITRE I: INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est une culture importante du point de vue économique dans le monde. Elle est cultivée aussi bien dans les régions tempérées que dans les régions tropicales. En 2007, la production totale était estimée par la FAO à plus de 325 millions de tonnes répartie sur plus de 19 millions d'hectares (FAOSTAT, 2007). La production des pays ouest africains est négligeable au plan international, mais constitue néanmoins une culture importante au niveau national, notamment au Mali. La production nationale dans ce pays, est estimée à 67.000 tonnes/an, avec un rendement moyen d'environ 20 t/ha (FAOSTAT, 2008). Pourtant, cette culture est attaquée par une large gamme d'insectes ravageurs, parmi lesquels les pucerons. Appartenant à la famille des Aphididae, les pucerons sont très répandus: plus de 4700 espèces ont été répertoriées dans le monde (Remaudière & Remaudière, 1997). En Europe, plus de 365 espèces ont été enregistrées en Belgique (Nieto-Nafria *et al.*, 1999). La Chine totalise à elle seule, environ 23% de l'aphidifaune mondiale (Liu *et al.*, 2009). Environ 450 ont été identifiées sur des plantes cultivées (Blackman & Eastop, 2000), dont une centaine a une importance économique notable, vu leur adaptation à divers agro-écosystèmes (Blackman & Eastop, 2007). Au moins 220 espèces aphidiennes ont été recensées en Afrique au sud du Sahara (Autrique *et al.*, 1994).

Les pucerons (Homoptera: Aphididae) constituent un problème économique et agricole majeur dans de nombreuses cultures tempérées par la transmission de virus et par les dommages directs qu'ils infligent aux plantes en se nourrissant du phloème (Dedryver *et al.*, 2010). En Europe, les pucerons étaient directement responsables de pertes annuelles moyennes d'environ 850 000 tonnes de pomme de terre (Wellings *et al.*, 1989). Ils jouent un rôle important dans la transmission des maladies virales.

Les viroses en culture de pomme de terre représentent une contrainte économique majeure. La revue de littérature révèle que les pertes de rendement des pommes de terre dues aux maladies virales fluctuent entre 5 et 90% (Gladders et Campbell-Hill, 1988; Kurppa et Hassi, 1989; Hane et Hamm, 1999; Rykbost *et al.*, 1999). Plusieurs facteurs sont à la base de cette grande variation. Nous pouvons citer entre autres : (i) les conditions environnementales, (ii) le type de virus et la sévérité des infections, (iii) la diversité des espèces de pucerons et autres vecteurs infestant les champs en saison. D'autres facteurs comme, la qualité des semences et des variétés de pomme de terre utilisées ainsi que les règles de production et de protection des variétés peuvent contribuer à la propagation des viroses. Six virus, sont considérés dans le

monde comme majeurs, car les dégâts qu'ils infligent aux cultures ont un impact économique important (Marchoux et *al.*, 2008). Les virus, les plus dommageables à travers le monde sont le Potato Virus Yellow et le Potato Leaf Roll Virus. Ils peuvent entraîner jusqu'à 50% des pertes en rendement pour la pomme de terre de consommation (Acta, 1999). L'épidémiologie des maladies virales est déterminée par une multitude de facteurs liés au système virus-vecteur-plante et leurs interactions dans un environnement donné (Terradot et Giblot Ducray, 2008). Parmi ces facteurs, le niveau initial d'infection constitue un élément important surtout dans le cas des plantes à multiplication végétative comme la pomme de terre. Cependant, même quand celui est faible, les conditions du milieu, le nombre de pucerons et leur provenance, l'existence de plantes réservoirs, sont autant d'agents qui vont décider le niveau final d'infection. Dans ces circonstances, le mode de transmission du virus a des répercussions très importantes à la fois sur la capacité d'évolution du système virus-puceron-plante mais aussi sur l'épidémiologie des maladies virales. Ainsi, les modes de transmission persistante et non-persistante déterminent des situations différentes qui expliquent la différence de spécificité du couple virus-vecteur. Le virus de l'enroulement de la pomme de terre (PLRV), transmis selon le mode persistant est acquis ou transmis par un nombre limité de pucerons, car seules les espèces capables de coloniser la plante sont susceptibles de le transmettre (Rolot, 2005; Marchoux et *al.*, 2008). En revanche une quarantaine d'espèces aphidiennes interviennent dans la transmission non-persistante du virus Y de la pomme de terre (PVY), avec une efficacité relativement faible (Terradot et Giblot Ducray, 2008). Une grande majorité de ces espèces ne colonisent pas la pomme de terre, mais peuvent transmettre le virus seulement lors de leur passage sur la plante à la recherche d'un hôte adéquat lors de piqûres d'essai. L'efficacité des méthodes de lutte contre les pucerons vecteurs est donc déterminée notamment par les processus de transmission persistante et non-persistante.

L'utilisation à grande échelle de produits aphicides a conduit à la sélection de populations de pucerons résistants (Harmel, 2008b). De plus, les pesticides sont reconnus comme dangereux pour la santé humaine et l'environnement (Dedryver et *al.*, 2010). En effet, de nombreuses familles d'insecticides se sont révélées inefficaces dans le contrôle de ces ravageurs fortement dommageables pour de nombreuses espèces végétales. Ainsi, le puceron de la pomme de terre *Macrosiphum euphorbiae*, le puceron vert du pêcher *Myzus persicae*, le puceron du cotonnier *Aphis gossypii* et le puceron du nerprun *Aphis nasturtii* constituent un problème majeur en culture de pomme de terre (Harmel et *al.*, 2008b).

Des alternatives novatrices et efficaces aux pesticides doivent donc être adoptées en culture de pomme de terre. Pour optimiser la gestion des insectes ravageurs, dans le cadre de la lutte intégrée, tout en minimisant les effets négatifs sur l'environnement, plusieurs méthodes peuvent être combinées (Flint et Van den Bosch, 1981). En plus, des méthodes traditionnelles de lutte (suivi et élimination de toute source de contamination du vecteur, défanage plus ou moins précoce, limitation de l'enherbement), des insecticides de synthèse sont très fréquemment utilisées. Il est donc important de mieux connaître les relations pucerons-virus pour proposer de nouvelles méthodes de lutte efficace et respectueuses de l'environnement.

Références

ACTA (1999). Guide pratique de défenses des cultures. ACTA.

Autrique A. & Ntahimpera L. (1994). Atlas des principales espèces de pucerons rencontrées en Afrique Sub-saharienne. Administration Générale de la Coopération au Développement, AGCD, Publication Agricole n° 33, p.78.

Blackman R.L. & Eastop V.F. (2000). *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide*. 2^e éd. Wiley, Chichester, 476p.

Blackman R.L. & Eastop V.F. (2007). Taxonomics Issues. *In* van Emden H.F. & Harrington R. (éd.), *Aphids as Crop Pests*, p. 1-3. CAB International, Cambridge, Massachusetts.

Dedryver C.-A., Le Ralec A., Fabre F. (2010). The conflicting relationships between aphids and men: A review of aphid damage and control strategies. *C.R. Biologies* 333, 539-553.

Durieux D., Verheggen F.J., Vandereycken A., Joie E. & Haubruge E., 2010. L'écologie chimique des coccinelles : Synthèse bibliographique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 14(2), 351-367.

FAOSTAT (2007). <http://www.potato2008.org/fr/monde/index.html>.

Flint, M. L. et R. Van den Bosch. 1981. *Introduction to integrated pest management*. Plenum Press, New York. 240 pp.

Gladders, P. and Campbell-Hill, C.E. (1988). Effect of potato virus Y on the yield of potato cultivar Morene. Tests of Agrochemicals and Cultivars 9. *Ann. Appl. Biol.* (Suppl.), 112 : 90-91.

- Hane, D. C. and Hamm, P.B. (1999). Effects of seed borne potato Y infection in two potato cultivars expressing mild disease symptoms. *Plant Dis.*, 83 : 43-45.
- Harmel N., Francis F., Haubruge E., Giordanengo P. (2008b). Physiologie des interactions entre pomme de terre et pucerons: vers une nouvelle stratégie de lutte basée sur les systèmes de défense de la plante. *Cahiers Agricultures* 17 (4), 395-400.
- Kurppa, A. and Hassi A. (1989). Reaction of four table potato cultivars to primary and secondary infection by potato viruses Y^O and Y^N. *Ann. Agric. Fenn.* 28 : 297-307.
- Liu Z., Huang X. L., Jiang L. Y. and Qiao G. X. (2009). The species diversity and geographical distribution of aphids in China (Hemiptera, Aphidoidea). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 34 (2), 277-291.
- Nieto-Nafria J., Latteur G., Durante M.M., Tahon J. & Hidalgo N.P. (1999). Les pucerons de Belgique (Hemiptera: Aphididae). *Parasitica*, 55, 5-38.
- Pickett, J. A., Wadhams, L. J., et Woodcock, C. M. 1997. Developing sustainable pest control from chemical ecology. *Agric. Ecos. Environ.* 64:149-156.
- Remaudière G. & Remaudière M., 1997. *Catalogue des Aphididae du monde*. Inra, Paris, 473p.
- Rykbost, K. A., Hane, D. C., Hamm, P.B., Voss, R. and Kirby, D. (1999). Effects of seed-borne potato virus Y on Russet Norkotah performance. *Am. J. Potato Res.*, 76 : 91-96.
- Terradot L. & D. Giblot Ducray, 2008. La transmission des virus de Solanacées par les pucerons. In Marchoux G., Gognalons P. & Sélassié K.G., 2008. *Virus des Solanacées. Du génome viral à la protection des cultures*. Paris, France: Quae.

CHAPITRE II : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les pucerons et viroses associées en pomme de terre : description, synthèse et perspectives de lutte intégrée

(article accepté pour publication dans BASE)

Almouner A. Yattara^{1, 2}, Emilie Bosquée¹, Amadou K. Coulibaly², Claude Bragard³, Eric Haubruge¹, Frédéric Francis¹

¹Unité d'entomologie fonctionnelle et évolutive, Gembloux Agro-Bio Tech, Passage des Déportés, 2. B-5030, Université de Liège, Gembloux, (Belgique).

² Laboratoire de Biologie des Arthropodes et de Lutte Intégrée, IPR/IFRA de Katibougou, (Mali)

³ Unité de Phytopathologie, Université Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, (Belgique)

Résumé: La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.), est une plante dont le tubercule constitue un élément important dans le régime alimentaire de nombreuses populations et est considérée par la FAO, comme une des solutions pour pallier au problème de la faim dans le monde. Cependant, cette culture est soumise à de nombreux bio-agresseurs parmi lesquels, les pucerons sont particulièrement dommageables, non seulement par les dégâts directs qu'ils infligent à la plante, mais aussi et surtout en tant que vecteurs d'une large gamme de virus phytopathogènes. Les pucerons sont bien connus pour leur rôle dans la transmission des virus à la plante hôte. Dans certains cas, le virus est transmis d'une plante à une autre tout simplement lors des prises d'essais alimentaires des pucerons.

Dans d'autres cas, la transmission virale par voie circulante est basée sur l'internalisation du virion à travers le tube digestif du puceron suivie d'un transfert dans l'hémolymphe jusqu'aux glandes salivaires pour être ensuite transmis à de prochaines plantes lors des prises alimentaires suivantes.

Dans les deux situations, la présence de récepteurs au niveau des pièces buccales et/ou du tube digestif des pucerons est nécessaire pour assurer la transmission virale. Le mode de transmission du virus détermine en grande partie sa dissémination dans les cultures. La lutte contre le(s) puceron(s) vecteur(s) a longtemps été basée sur l'utilisation de produits aphicides, qui n'ont pas tardés à montrer leur limite. La compréhension des mécanismes de transmission

des virus par les pucerons, est une étape importante dans le développement des stratégies de lutte alternatives pour diminuer les interactions vecteur-virus. Les stratégies de lutte permettant une gestion intégrée de la dissémination de virus sont présentées et développées dans cet article.

Mots clés : pucerons, virus, interaction vecteur-virus, lutte biologique, bio-pesticides, biologie moléculaire, *Solanum tuberosum*.

Abstract: The potato (*Solanum tuberosum* L.) is important crops which tuber constitutes an essential food component for many populations. Indeed, FAO considers Potato as one of the solutions to fight famine problem in the world. However, this culture is attacked by many diseases and pests among which aphids are particularly damageable, not only by the direct injuries that they inflict to the plant, but more especially as vectors of a wide range of phytopatogeneous viruses. Aphids are well-known for their role in the transmission of viruses to host plants. In some cases, virus is transmitted from an infected plant to a safe plant just by probing sucking test. In other cases, the virus is transmitted by circulating way, after virion transit through the aphid digestive tract, haemolymph and salivary glands. From then, the infected aphid can transmit viruses to other plants during it next sucking. In both cases, the presence of receivers within oral parts and/or digestive tract of the aphids is necessary to ensure the viral transmission. The virus mode of transmission mainly determines its dissemination between crops. For longtime, the control of vector aphid(s) was based on the use of aphicid products, which have shown their limit. Then, improving knowledge of viral transmission mechanisms by aphids is currently a big challenge for alternatives control, in order to manage interactions between vectors and viruses. This paper describes and develops integrated pest management strategies focused on virus dissemination.

Key words: Aphids, virus, vector-virus interaction, biological control, bio-pesticides, molecular biology, *Solanum tuberosum*.

1. Introduction

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.), une des premières ressources alimentaires au monde est cultivée aussi bien dans les régions tempérées que dans les régions tropicales (Rolot, 2005). De par son mode de multiplication, elle est soumise à l'influence de nombreux agents phytopathogènes (champignons, bactéries, virus, nématodes et insectes). Parmi ces bio-agresseurs, les pucerons constituent les ravageurs, les plus importants, tant par les dégâts directs qu'ils infligent à la plante par prélèvement de sève, que par la vexion de nombreux virus (Harmel et al., 2008). Le nombre de viroses de plantes connues en Afrique tropicale est encore très réduit pour avoir une opinion générale quant à la transmission par les insectes de ces maladies. Toutes fois, on peut dire que les principaux groupes de vecteurs du monde sont présents sur ce continent, certainement avec des importances relatives différentes. Les pucerons sont partout, les vecteurs majoritaires par le nombre de maladies transmises mais aussi par le nombre de plantes infectées (Fauquet et Thouvenel, 1984). Injectées dès la première piqûre dans les tissus épidermiques et durant la phase d'ingestion de sève, les sécrétions salivaires des pucerons semblent jouer un rôle majeur dans l'établissement d'une interaction compatible avec leur plante hôte (Giordanengo et al., 2007). Au vu des effets négatifs liés à l'utilisation de pesticides conventionnels, la lutte intégrée basée sur l'utilisation accrue de pratiques et substances biologiques s'est développée. Il est donc nécessaire de mettre au point des bio-insecticides performants basés sur la connaissance de la physiologie des insectes, afin de contrôler les ravageurs comme les pucerons. Comprendre la compétence et la capacité vectorielle de transmission d'un insecte et développer des outils qui permettent d'identifier rapidement et avec précision les vecteurs potentiels sont importants pour déterminer l'épidémiologie du virus.

L'identification de récepteurs qui interviennent dans la spécificité de vexion de nombreux phytovirus devrait nous offrir de nouvelles opportunités pour contrôler les maladies, comprenant la neutralisation de l'interaction virus-vecteur par le biais de traitements ou de protéines recombinantes produites par les plantes. Nos moyens de contrôler la transmission virale dans une stratégie de lutte intégrée sont dépendants de notre capacité à comprendre les processus de transmission. La diversité des espèces de pucerons contribue également à celle des virus transmis.

2. Diversité des pucerons en pomme de terre

Environ 4700 espèces de pucerons ont été recensées à travers le monde (Remaudière & Rémaudière, 2007), dans 600 genres taxonomiques (Remaudière et *al.*, 1997), dont 900 en Europe. Au moins 450 espèces de pucerons ont été identifiées sur des plantes cultivées (Blackman et Eastop, 2000). Parmi elles, une centaine s'est adaptée à des agro-écosystèmes différents et présente, de ce fait une importance économique notable (Blackman et Eastop, 2007). Les pucerons, constituent sans doute les ravageurs les plus importants de la pomme de terre, tant par les dégâts directs qu'indirects qu'ils infligent à la plante. Tous les pucerons sont potentiellement des vecteurs importants de viroses. Parmi ces insectes cinq espèces s'alimentent réellement sur la pomme de terre. Il s'agit, des pucerons *Myzus persicae* (Sulzer), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) qui établissent précocement leurs colonies sur les feuilles supérieures de la plante, suivies plus tard de trois autres espèces : *Aphis gossypii* (Glover), *Aphis nasturtii* (Kaltenbach) et *Aulacorthum solani* (Kaltenbach), qui colonisent les feuilles inférieures et médianes des plants. Ces insectes sont vecteurs de nombreux virus (**Tableau 1**). *M. persicae* peut à lui seul transmettre plus d'une centaine de virus, et reste de ce fait le vecteur le plus important alors que *M. euphorbiae* peut en véhiculer une quarantaine de viroses (Kennedy et *al.*, 1963).

En Afrique subsaharienne, plus de 220 espèces de pucerons ont déjà été recensés dont 40% endémiques au continent africain (Autrique et Ntahimpera, 1994) et près de 45% des espèces étrangères à l'Afrique ont une distribution cosmopolite et sub-cosmopolite (Remaudière et *al.*, 1985). D'autres espèces de pucerons, non inféodées à la pomme de terre, sont également capables de véhiculer de nombreux virus (Rolot, 2005). Au moins 250 espèces de pucerons appartenant à 13 genres sont vectrices de plus de 300 virus (Matthews, 1991).

Tableau 1 : Quelques virus transmis par pucerons (Duvauchelle et *al.*, 2004). *Few virus transmitted by aphids* (Devauchelle et *al.*, 2004)

Nom du virus	Mode de transmission	Principaux vecteurs	Symptômes des infections secondaires
PLRV	Persistant	<i>M. persicae</i> <i>A. solani</i> <i>M. euphorbiae</i> <i>A. nasturtii</i>	Feuilles enroulées en cuillères, dures et craquantes ; tubercules fils de petites tailles ; nécroses internes en forme de réseaux ; pertes de rendement
PVY	Non persistant	<i>M. persicae</i> <i>A. nasturtii</i>	Nécroses, rabougrissement des plants ; pertes de rendement
PVA	Non persistant	<i>M. persicae</i> <i>M. euphorbiae</i>	Marbrures; perte de rendement

3. Diversité de virus de la pomme de terre

Plus de 35 virus infectent naturellement la pomme de terre, à travers le monde. Six sont considérés comme majeurs car les dégâts causés aux cultures ont un impact économique important (Marchoux et *al.*, 2008). Une fois introduit dans la plante, le virus perturbe l'activité des cellules qu'il envahit, troublant ainsi le fonctionnement normal de la cellule.

En Belgique, seulement quatre de ces six espèces de virus sont réellement importantes : le *Potato virus Y* (PVY), le *Potato virus S* (PVS), le *Potato virus X* (PVX) et le *Potato Leaf Roll virus* (PLRV), le virus de l'enroulement des feuilles de la pomme de terre (Rolot, 2005). La majorité des virus sont transmis de façon non-persistante par un très un grand nombre d'espèces de pucerons, le puceron vert du pêcher *M. persicae* étant le vecteur le plus efficace (Van Harten, 1983 ; Verbeek et *al.*, 2010). Le temps d'acquisition dure quelques secondes et la période de transmission infectieuse moins d'une heure. Quelques virus ont été signalés sur les cultures de pommes de terre en Afrique subsaharienne notamment au Mali. Même s'ils ne sont pas très importants, une faible incidence des virus S, X et Y a été signalée dans la région de Sikasso (Coulibaly et *al.*, 2002). Les symptômes du PLRV ont été observés quelques fois sans aucun diagnostic définitif. Ce virus est rencontré dans toutes les zones productrices de pomme de terre. Son incidence est fonction de l'abondance, de l'année précédente et des

espèces de pucerons en présence. Le puceron vert du pêcher *M. persicae* demeure le vecteur le plus efficace dans la transmission parmi la dizaine d'espèces vectrices connues pour ce virus (Hogue, 2010). Parmi ces virus, les plus connus sur la culture de pomme de terre sont : le PLRV, PVY, PVA, PVX et le *Potato virus M* (PVM). Ils sont tous transmis par pucerons (Kennedy et al., 1963 ; FNPPPT, 2000).

Le PVX est très répandu dans le monde, le symptôme principal de la maladie va d'une mosaïque légère à sévère en fonction des souches. Les infections graves conduisent à un nanisme des plantes et une nécrose des tubercules, surtout quand ceux-ci sont également infectés avec le PVA et/ou le PVY (Stevenson et al., 2001). Certaines infections restent néanmoins asymptomatiques, favorisant ainsi facilement la propagation de la maladie. Le PVX peut être transmis mécaniquement, par contact avec le feuillage, la pulvérisation et la section des tubercules de semences contaminées.

Le PVY, appartenant au genre Potyvirus est l'une des plus importantes maladies virales qui affectent la pomme de terre (Ward et Shukla, 1991). Le genome du PVY se présente sous la forme d'un brin d'ARN positif, long de 9,7 kb. Avec une très large gamme d'hôtes (Edwardson et Christie, 1997), il infecte naturellement 41 espèces réparties en quatre familles botaniques. Les symptômes dépendent de la souche du virus, les cultivars et la nature de l'infection primaire ou secondaire (Palukaitus, 2012), allant d'une mosaïque légère à sévère avec des nécroses foliaires et finalement la mort des plants infectés (Stevenson et al., 2001). Il existe plusieurs souches connues, comme les souches PVY^O, PVY^N, et PVY^{NTN}. L'épidémiologie du PVY a permis de démontrer que les proportions relatives de ces différents groupes et sous-groupes au sein des populations de ce virus ont récemment évolué en faveur d'isolats nécrotiques recombinants (Rolland et al., 2008). Les pucerons sont les principaux vecteurs de cette maladie, mais le virus peut être aussi transmis mécaniquement. Le PVY est transmis en conditions naturelles, par plus de 50 espèces de pucerons (Kennedy et al., 1963; Sigvald, 1984; Ragsdale et al., 2001; Robert et Bourdin, 2001).

Le PLRV est un virus isométrique phytopathogène transmis uniquement par certains pucerons selon le mode persistant. L'hôte principal de ce virus est la pomme de terre, mais il peut aussi se développer sur des cultures comme la tomate ou le poivron. L'infection systémique touche tous les organes de la plante. Il est présent partout où la pomme de terre est cultivée (Stevenson et al., 2001). Les symptômes de la maladie varient en fonction de l'origine de l'infection (Douglas & Pavek, 1972), qui se traduisent par une chlorose ou un

enroulement des folioles, ou alors par un nanisme des plants quand c'est le tubercule qui est infecté. Les folioles deviennent alors craquantes. La marge du limbe des feuilles infectées se courbent vers le haut, caractéristique de la maladie. Du point de vue économique, le PLRV est considéré comme l'un des virus les plus dommageables en culture de pomme de terre, causant ainsi de sévères pertes jusqu'à 90%, et peut entraîner ainsi une réduction significative de la valeur marchande de certains cultivars (Jeffries, 1998).

Modes de transmission virale

Sur base des interactions avec le vecteur, les virus sont classés en deux catégories : les virus *non-circulants* et les virus *circulants* (**Tableau 2**). Le vecteur est donc indispensable pour la survie des virus.

Transmission non-persistante: Quand le puceron procède à des piqûres d'essai sur une plante virosée, les virus non-circulants se fixent aux récepteurs spécifiques présents au niveau des pièces buccales du vecteur et sont ensuite relâchés dans une autre plante via les sécrétions salivaires lors d'une prochaine pique d'épreuve (Gray, 1996 ; Hogenhout et *al.*, 2008). Tous les virus transmis de cette manière ne peuvent se répliquer dans l'insecte. Le puceron devient immédiatement infectieux mais pour un temps relativement court, quelques minutes, heures voir quelques jours (Wang et *al.*, 1996 ; Blanc, 2008). Les pucerons ailés, en phase de dissémination ou de colonisation de nouvelles plantes sont des vecteurs potentiels de ce type de virus (Gray et *al.*, 1999).

La majorité des virus à mosaïque de la famille des *Potyviridae*, comme le PVY, PVA, PVX, PVS et le PVM peuvent être transmis de façon non-persistante en pomme de terre (Raman, 1987). Parmi ces virus, le PVY est sans doute le virus le plus important économiquement en culture de pomme terre car il peut entraîner des pertes de rendement pouvant atteindre 100% de la récolte (De Bokx et Huttinga, 1981). Le virus Y de la pomme de terre, est transmis par une large gamme de pucerons vecteurs puisqu'il suffit d'une simple piqûre d'épreuve pour acquérir le virus. Ce mode de transmission détermine une part importante de la dissémination des viroses (Rolot, 2005).

Transmission persistante : le puceron recherche une plante hôte acceptable, il entreprend des piqûres d'essai et lorsque le choix est réalisé se pose pour s'alimenter. Cette phase nécessite une période plus longue pour atteindre le phloème (Terradot et Giblot Ducray, 2008). Les particules ingérées passent de la lumière intestinale dans l'hémocèle pour ensuite

arriver dans l'hémolymphe et atteindre ensuite les glandes salivaires pour se fixer de manière spécifique (Brault et *al.*, 2010 ; Yang et *al.*, 2008 ; Gildow, 1999). Ce mode de transmission nécessite une relation de reconnaissance vecteur-virus. Seuls les pucerons s'alimentant sur la pomme de terre sont capables d'assurer la transmission, réduisant ainsi la gamme d'espèces vectrices (Marchoux et *al.*, 2008). Une certaine variabilité due à divers critères, liés au vecteur (espèce, forme, stade morphologique) et au virus est constatée au niveau de la transmission persistante (Robert et Bourdin, 2001). Le PLRV, est le plus important virus transmis de cette façon (RAMAN, 1987). *M. persicae*, est l'espèce la plus efficace dans la transmission du PLRV (Terradot et Giblot, 2008).

Tableau 2 : Modes de transmission des virus (Marchoux et *al.*, 2008). *Mode of virus transmission* (Marchoux et *al.*, 2008).

	Virus non- circulants		Virus circulants
	Non-persistants	Semi-persistants	Persistants
Acquisition et inoculation	Très brèves (de l'ordre de la seconde, piqûre d'essai)	Généralement brèves (de l'ordre de la minute)	Longues (de l'ordre de l'heure, dans le phloème)
Rétention	Brève (quelques heures)	Assez longue (quelques jours)	Longue (plus de 6 heures, parfois toute la vie)
Latence	Nulle (le puceron est immédiatement infectieux)	Nulle	Longue (nécessité d'un circuit dans le corps de l'insecte)
Spécificité de transmission	Faible	Etroite (2 à 3 espèces)	Très étroite (1 espèce, voir une race)
Multiplication du virus dans l'insecte	Non	Non	Oui (pour certains virus)

4. Rôle des bactéries symbiotiques dans la transmission virale

Un grand nombre de phytovirus est transmis exclusivement par les pucerons de manière circulante après le transport des particules virales de l'hémolymphe aux glandes salivaires de l'insecte. Certaines protéines, synthétisées dans les pucerons par des bactéries symbiotiques,

semblent se lier dans l'hémolymphe aux particules virales, pour aider le transfert dans le puceron et augmenter l'efficacité de la transmission virale. En effet, des interactions spécifiques biochimiques et physiologiques complexes existent entre le virus et les composantes du vecteur (Mowry et al., 2006 ; Hogenhout et al., 2008). Les endosymbiontes coexistent couramment dans les insectes hôtes.

Les partenaires endosymbiotiques bactériens du puceron se répartissent en deux catégories: les symbiontes obligatoires dits «primaires» comme *Buchnera sp.* se retrouvant dans presque tous les pucerons et les symbiontes facultatifs dits "secondaires" qui ne sont pas systématiquement présents.

Les associations particulières entre les pucerons, *Buchnera sp.* et les symbiontes secondaires sont déjà bien documentées lorsque cela concerne l'adaptation à la plante hôte. En revanche, l'impact des associations spécifiques entre *Buchnera* et d'autres endosymbiontes facultatifs secondaires sur la transmission des virus circulants est moins bien compris.

Le succès de la transmission non-persistante est déterminé par le comportement alimentaire du puceron et les différentes interactions qui rendent possibles la rétention des particules virales sur des sites spécifiques dans leur vecteur (Marchoux et al., 2008). Pirone et Blanc (1996), ont déjà montré à travers leurs études le rôle de la protéine capsidique (CP) dans la transmission virale. Outre cette CP, une autre protéine virale non-structurale semblait être nécessaire pour la transmission des *Potyvirus*. En effet, une souche *Potato virus C* (PVY^C) non transmissible du PVY ne pourrait être transmise que quand le puceron se nourrit sur plantes infectées par le PVY. Aussi, l'insecte est incapable de transmettre le virus à partir d'une suspension purifiée, à moins qu'il ne soit nourri auparavant sur des plantes infectées par le PVY dans lesquelles le virus a été inactivé par irradiation aux UV.

Si le rôle des protéines virales dans la transmission par pucerons a été démontré, ceux concernant le vecteur lui-même sont encore insuffisants au niveau moléculaire. Quelques hypothèses ont néanmoins été formulées, pour la transmission non-persistante. La cuticule qui recouvre les stylets du puceron serait directement impliquée dans les interactions avec le HC (*Helper component*), conduisant ainsi au séquençage de gènes de protéines cuticulaires chez six espèces de pucerons (Dombrovski et al., 2003). Par contre le rôle de ces protéines dans la rétention des particules virales et les mécanismes d'attachement restent des zones d'ombre. Les composantes aphidiennes déterminantes dans la transmission persistante restent encore à élucider. Cependant, des travaux réalisés par Van den Heuvel et al. (1994) ont

permis d'identifier chez *M. persicae* cinq protéines sur lesquelles le PLRV est susceptible de s'attacher.

La symbionine, synthétisée par les bactéries endosymbiotiques du puceron (*Buchnera sp.*) serait la plus abondante. Ces mêmes études, démontraient que l'interaction a lieu entre la partie N-terminale de la *reverse transcriptase* du virus et le domaine équatorial de la symbionine (Van den Heuvel et *al.*, 1997 ; Hogenhout et *al.*, 1998 ; 2000). En nourrissant, des pucerons sur diète artificielle contenant des antibiotiques, Heuvel et *al.* (1994) ont constaté une transmission réduite du PLRV et ont conclu que la symbionine interagit avec le virus dans l'hémolymphe de l'insecte, protégeant ainsi l'intégrité des particules virales *in vivo*. Des expériences similaires, ont également permis de mettre en évidence chez *Sitobion avenae* deux types de protéines aphidiennes et une chez *Schizaphis graminium* (Wang et Zhou, 2003) au niveau des glandes salivaires (Gray et Gildow, 2003) ayant une affinité pour le BYDV-MAV. Mais ces protéines sont absentes chez les espèces de pucerons non vectrices de ce virus (Li et *al.*, 2001). L'implication exacte de ces interactions dans la transmission reste à vérifier, mais constitue néanmoins une piste intéressante pour la recherche des récepteurs aphidiens.

Les phytovirus transmis de manière circulante par les pucerons, transitent de l'hémolymphe vers les glandes salivaires de l'insecte pour être transmis à la plante. Certaines protéines, synthétisées dans les pucerons par des bactéries symbiotiques, se lient dans l'hémolymphe aux particules virales, pour aider le transfert dans le puceron et augmenter l'efficacité de transmission virale. Ce qui laisse supposer que les bactéries symbiotiques ont un rôle majeur dans la transmission virale par puceron.

5. Stratégies de lutte contre les pucerons et virus associés

L'utilisation de semences de pommes de terre certifiées constitue à l'heure actuelle le cœur du dispositif de lutte intégrée contre les maladies virales de la pomme de terre. En effet, elle garantit à l'agriculteur l'utilisation d'un matériel sain au début de chaque culture et retarde les épidémies. Il est donc clair que la production des semences repose elle-même sur la garantie d'une culture contenant le moins de virus possible. Pour ce faire, il est d'abord impératif d'utiliser une procédure de détection des virus simple, rapide, fiable et sensible et qui permet d'éliminer les semences infectées du matériel de propagation végétative (Singh, 1999). Cependant, l'inoculum peut venir de sources indépendantes de la volonté du producteur, c'est-à-dire de sources se trouvant à l'extérieur du champ, en grande partie des jardins d'amateur qui n'utilisent pas de semences certifiées (Radcliffe, 1982). Il s'avère donc également nécessaire

de protéger la culture contre les pucerons qui pourraient introduire le virus dans le champ après s'être alimentés sur des sources virosées extérieures. C'est pourquoi les programmes de lutte contre la propagation du PVY et du PLRV, aussi bien en culture de production de pomme de terre de consommation qu'en production de plants - semences, sont basés sur l'entrave à la compétence de leur vecteur.

L'association de méthodes de lutte associant l'utilisation de plantes résistantes au virus, la sélection sanitaire et les traitements insecticides permet de contrôler plus ou moins efficacement les épidémies virales. Cependant chacune de ces mesures présente des inconvénients économiques et /ou écologiques (Marchoux et *al.*, 2008). L'élaboration de nouvelles stratégies visant à interrompre le processus de transmission passe par la connaissance des relations virus-vecteurs: l'inhibition de la transmission du PLRV par l'azadirachtine (qui agit sur les bactéries symbiotiques des pucerons) en est un exemple intéressant (van den Heuvel et *al.*, 1998).

6. Alternatives de lutte pour réduire la transmission virale

Aujourd'hui, la protection conventionnelle exclusive des cultures est de plus en plus remise en cause. Des alternatives sont nécessaires pour développer des stratégies de contrôle intégrées et durables. De récents développements technologiques permettent de proposer des solutions alternatives aux insecticides de synthèse pour le contrôle des viroses transmises. Il est ainsi possible d'envisager la mise en place de diffuseurs de substances informatives répulsives, notamment phéromonaux pour éviter les infestations de pucerons dans les parcelles et l'insertion de bandes enherbées tampon pour réduire la charge virale transmise par simple piqûre d'essais ou encore l'utilisation de substances compétitrices des virus, telles que les lectines.

La lutte contre les pucerons vecteurs de virus, repose actuellement sur l'utilisation soit d'huile végétales, soit d'insecticides de synthèse. Les effets nocifs des produits chimiques sur l'environnement et la santé humaine ont conduit à des recherches visant à développer de nouvelles méthodes alternatives pour les producteurs. Dans ce contexte de lutte biologique contre les pucerons et la transmission de virus associés, l'utilisation des substances sémiouchimiques (phéromones et molécules allélochimiques) et les cultures intercalaires sont de plus en plus des stratégies étudiées. Les propriétés des molécules sémiouchimiques comme l'(E)- β -farnesene (EBF) ont été utilisées pour mettre en œuvre des techniques visant à repousser les ravageurs et attirer les insectes bénéfiques (Xiangyu et *al.*, 2002 ; Cui et *al.*,

2012 ab ; Zhou et *al.*, 2013). Les cultures intercalaires constituent aussi une stratégie intéressante pour lutter contre les pucerons et les virus grâce à l'émission de substances allélochimiques ou en jouant un rôle de plantes tampons.

6.1. Lectines et interactions dans la transmission virale

Les lectines végétales peuvent être définies comme l'ensemble des protéines végétales qui possèdent au moins un domaine non catalytique se liant de manière réversible à un mono ou un oligosaccharide spécifique (Dixon, 1981 ; Peumans et Van Damme, 1995 ; Lanno et Van Damme, 2010).

Elles sont largement répandues dans la nature et plusieurs centaines de ces molécules ont été isolées à partir des plantes, les champignons, les virus, les bactéries, les invertébrés et les vertébrés (Peumans et *al.*, 1995 ; Van Damme et *al.*, 1998). Les familles végétales, les mieux caractérisées sont les *Fabaceae*, les *Poaceae* et les *Solanaceae*. Les graines de légumineuses contiennent une quantité remarquable de lectines (Karimi et *al.*, 2010). Au cours des dernières années, d'importants progrès ont été réalisés dans l'étude des lectines végétales en général et la compréhension de leurs effets sur d'autres organismes, en particulier. Certaines lectines ont la propriété de se fixer aux récepteurs aphidiens au niveau du système digestif, et entrent ainsi en compétition avec les virions pour les glycoprotéines récepteurs depuis le stylet jusqu'aux intestins du puceron. Les virus non-persistants se fixent sur les récepteurs du stylet de l'insecte, une compétition peut s'opérer entre la lectine et les virions, réduisant ainsi l'efficacité de la transmission du virus. Concernant, les virus circulants, bien que les particules virales cheminent dans l'hémolymphe de l'insecte, la première étape est la fixation au niveau de récepteurs sur les épithélia intestinaux avant de franchir la barrière intestinale. Dans tous les cas, des liaisons virus-récepteurs correspondent à une étape majeure de l'interaction et de l'efficacité de transmission virale. La lectine du perce-neige a montré une grande toxicité envers les pucerons, nourris sur diète artificielle mais aussi dans des expériences avec des plantes transgéniques (Hilder et *al.*, 2008). Bien qu'il soit probable que leur toxicité soit basée sur une liaison spécifique avec des glucoconjugués dans l'intestin de l'insecte, le mécanisme d'action exact des lectines végétales est encore mal compris. Cependant trois types d'interaction avec les lectines sont possibles : la liaison des lectines à la chitine dans la membrane péritrophique, ou à des glucoconjugués exposés le long du tractus digestif de l'insecte et enfin la liaison de la lectine à des enzymes digestives glycosylées (Peumans et *al.*, 1995). Les interactions entre virus et les récepteurs du vecteur sont

complexes et font intervenir des mécanismes moléculaires spécifiques (Altier et *al.*, 2001). Des résultats de réduction significative, de l'ordre d'un facteur 2 à 3 d'efficacité de transmissions virales ont été obtenus lorsque les pucerons ont été nourris avec des diètes contenant des lectines avant transfert sur plantes viroses et essais de transmission sur des plantes saines (Francis, com. Pers.).

6.2. Application des lectines dans la réduction de transmission virale

Les premières barrières rencontrées par les insectes sont en général, les plantes se trouvant tout autour des cultures principales. Il peut donc être envisagé, de border ces cultures, par une largeur de plantes, produisant naturellement des lectines, comme les *Fabaceae* (Van Damme et *al.*, 1997), ce qui pourrait logiquement amoindrir les dégâts causés et les potentialités de transmission des virus par les pucerons. L'emploi des OGM conférant aux plantes une résistance contre les insectes ravageurs est une alternative qui mériterait d'être explorée par manipulation de l'expression des protéines de défense endogènes des plantes ou par introduction d'un gène dérivé d'autre organisme permettant le contrôle de certains nuisibles (Karimi, 2008, Vandenborre et *al.*, 2011). Pour les lectines, les mécanismes d'action n'étant pas encore suffisamment connus, il est important de procéder à des investigations afin de déterminer avec précision leur mode d'action au niveau cellulaire chez les insectes vecteurs. L'action des lectines sur l'efficacité de la transmission virale à travers un insecte vecteur devrait être approfondie. Les effets indirects de ces glycoprotéines sur les insectes non cibles et les dangers potentiels pour les animaux et la santé humaine devraient être déterminés.

6.3. Application des substances informatives dans la réduction de transmission virale

Parmi les stratégies de lutte intégrée, pour combattre les insectes nuisibles, l'utilisation de substances informatives pourrait être une composante utile, pour manipuler le comportement de ces nuisibles (Bjostad et *al.*, 1993).

Les sémiochimiques ou substances informatives telles que définies par Law et Regnier (1971), sont des molécules véhiculant des informations au sein des interactions insecte-insecte ou plante-insecte. Elles sont largement utilisées dans de nombreuses stratégies de lutte intégrée (Agelopoulos et *al.*, 1999; Rodriguez-Saona & Stelinski, 2009), pour attirer les ennemis des pucerons. Une approche plus récente basée sur l'utilisation des substances sémiochimiques est la stratégie dite de « push-pull ». Elle est axée sur la combinaison de stimuli répulsifs et attractifs pour modifier le comportement des insectes nuisibles et /ou de

leurs ennemis naturels. L'utilisation de stimuli répulsifs permet d'éloigner (« push ») de la culture, les ravageurs. Inversement, les stimuli attractifs pourraient être utilisés pour les attirer (« pull ») vers d'autres cultures, telles que les plantes pièges. Cette stratégie requiert une bonne compréhension de la biologie des ravageurs, de leur écologie chimique et des interactions avec les hôtes et des ennemis naturels (Cook et al., 2007). Ces substances volatiles peuvent être émises aussi bien par des végétaux que par des animaux (Regnault-Roger, 2005). Face à une agression, les pucerons émettent des phéromones d'alarmes, à travers lesquelles les individus d'une même espèce communiquent, mais aussi une occasion pour d'autres organismes qui l'a perçoivent de la mettre à profit. C'est le cas de l'(E)- β -farnesene (EBF), qui une fois détectée par les ennemis naturels des pucerons sont capables de localiser les colonies de leur proie. Ce phénomène a été démontré chez plusieurs espèces de coccinelles : *Coccinella sp.*, *Adalia sp.* et *Harmonia sp.* (Francis et al., 2004), de syrphes (Francis et al., 2005a ; Verheggen et al., 2008 ; Almohamad et al., 2009), de coléoptères du sol (Kielty et al., 1996), de chrysopes (Boo et al., 1998 ; Zhu et al., 1999) et de parasitoïdes adultes et larves (Beale et al., 2006). Plusieurs travaux ont déjà été conduits en utilisant l'EBF et la (Z)-3-héxénol pour attirer les prédateurs de pucerons et repousser les ravageurs aphidiens (Francis et al., 2005; Verheggen et al., 2008; Leroy et al., 2010 ; Bayendi Loudit et al., 2012).

D'autres substances comme l'extrait d'ail sont souvent utilisées comme un répulsif des insectes (Regnault-Roger, 2005). Il est également possible d'obtenir un effet de « push-pull » par la mise en place de « l'intercropping » et de plantes pièges (Cook et al., 2007). Ces plantes secondaires non hôtes des insectes nuisibles, peuvent également libérer des substances sémiochimiques ayant un effet répulsif envers ces derniers (Khan et al., 2000) et attractifs envers les auxiliaires (Khan et al., 1997). Développer des stratégies de lutte intégrée (figure 1) pour pallier à l'utilisation abusive des substances chimiques sur les cultures comme la pomme de terre, devient plus que nécessaire pour le suivi et le contrôle des viroses transmises par pucerons. L'installation dans les cultures principales, de diffuseurs de phéromones comme le EBF pour éviter les infestations de pucerons et la mise en place de bandes enherbées tampon pourraient réduire la charge virale transmise par simple pique d'essais. Ce qui passe nécessairement par une meilleure compréhension de la physiologie de l'insecte, conduisant à l'identification de nouvelles cibles potentielles pour le développement de nouvelles stratégies de lutte.

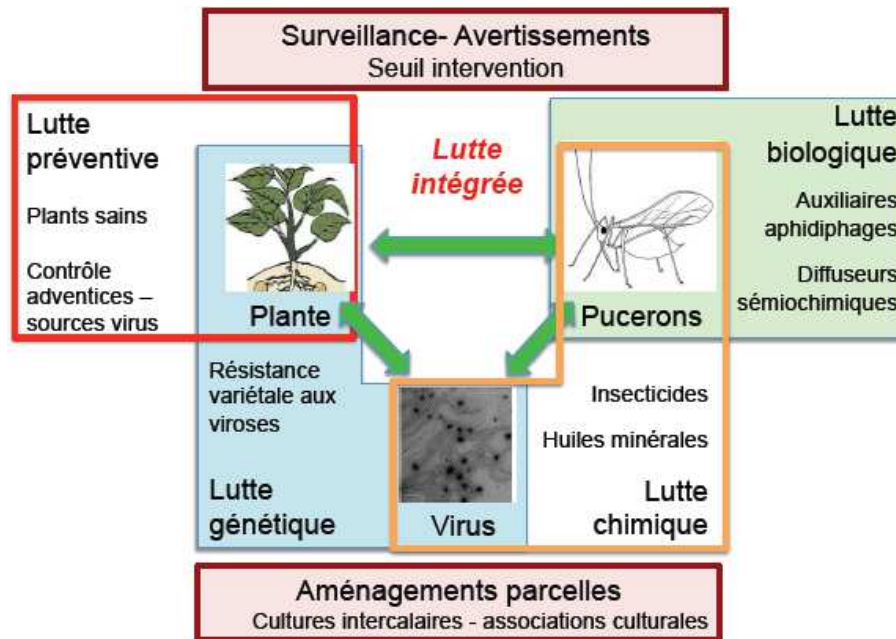


Figure 1 : Protection intégrée en culture de pomme de terre contre les pucerons vecteurs de viroses. *Integrated crop protection against potato aphid vectors of virus diseases.*

7. Conclusions

Les pucerons ont la capacité de transmettre une large gamme de virus. Les interactions entre le virus et son vecteur sont complexes. La compréhension des mécanismes de transmission des virus par les pucerons, est une étape importante dans le développement des stratégies de lutte alternative pour diminuer les interactions vecteur-virus. Il devient dès lors important d'explorer des stratégies alternatives pour la gestion des ravageurs, afin de réduire l'utilisation intempestive des produits chimiques toxiques. Certaines glycoprotéines, comme les lectines permettent le contrôle des maladies virales en réduisant l'efficacité de transmission du virus par les pucerons. L'utilisation de plantes émettrices ou de diffuseurs de substances informatives répulsives de pucerons est également une stratégie potentiellement efficace pour réduire la dispersion de viroses notamment en pomme de terre.

Références

- Agelopoulos N.G. et al. , 1999. Exploiting semiochemicals in insect control. *Pesticide Science* **55**, 225–235.
- Almohamad R., Verheggen F. J. & Haubruge E., 2009. Searching and oviposition behavior of aphidophagous hoverflies (Diptera: Syrphidae): a review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **13**(3), 467-481.

- Astier S., Albony J., Maury Y. & Lecoq H., 2001. Principes de virologie végétale, génome, pouvoir pathogène, écologie des virus. *Eds.* INRA, Paris, France.
- Autrique A. & Ntahimpera L., 1994. Atlas des principales espèces de pucerons rencontrées en Afrique Sud-Saharienne. Administration Générale Coopération au Développement, Bruxelles, 78 p.
- Bayendi Loudit S., Bodson B. & Francis F., 2012. Impact de substances informatives utilisées pour le contrôle des pucerons de céréales sur la diversité et l'abondance de l'entomofaune non cible. *Faun. Entomol.* **65**, 127-133.
- Beale M.H., Birkett M.A., Bruce T.J.A., Chamberlain K., Field L.M., Huttly A.K., Martin J.L., Parker R., Phillips A.L., Pickett J.A., Prosser I.M., Shewry P.R., Smart L.E., Wadhams L.J., Woodcock C.M. & Zhang Y.H., 2006. Aphid alarm pheromone produced by transgenic plants affects aphid and parasitoid behavior. *P.N.A.S.*, **103**(27), 10509-10513.
- Bjostad L. B., Hibbard B. E. & Cranshaw W. S. 1993. Application of semiochemicals in integrated pest management programs, pp. 199-218, *Dans* S. O. Duke, J. J. Menn, et J. R. Plimmer (eds.). Pest control with enhanced environmental safety. Am. Chem. Soc. Washington, DC.
- Blackman R.L. & Eastop V.F., 2000. *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide*. 2 éd. Wiley, Chichester.
- Blackman R.L. & Eastop V.F., 2007. Taxonomic Issues. *In* van Emden H. F. & Harrington R. (éd.), *Aphids as Crop Pests*. CAB International, Cambridge, Massachusetts.
- Blanc S., 2008. Vector Transmission of plant Viruses. *In* : Mahy B.W.J. & Van Regenmortel M.H.V., eds. *Encyclopedia of virology*, 3rded. Oxford, UK : Elsevier, 274-282.
- Boo K.S., Chung I.B., Han K.S., Pickett J.A. & Wadhams L.J., 1998. Response of the lacewings *Chrysopa cognate* to pheromones of its aphid prey. *J. Chem. Ecol.* **24**, 631-643.
- Brault V. et al., 2010. Transcriptomic analysis of intestinal genes following acquisition of pea enation mosaic virus by the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Journal of General Virology*, **91**, 802-808.
- Cook S.M., Khan Z.R. & Pickett J.A., 2007. The use of push-pull strategies in integrated pest management. *Annu. Rev. Entomol.*, **52**, 375-400.

- Coulibaly M., Dembélé D. & Vanderhofstadt B., 2002. Unité de production de plants de pomme de terre au Mali. Soc Internacional, Amatevi et IER.
- Cui L., Dong J., Francis F., Heuskin S., Lognay G., Chen J-L., Bragard C. & Liu Y., 2012a. E- β -farnesene synergizes the influence of an insecticide to improve control of cabbage aphids in China. *Crop Protection*, 35, 91-96.
- Cui L., Francis F., Heuskin S., Lognay G., Liu Y-J., Dong J., Chen J., Song X-M. & Liu Y., 2012b. The functional significance of E- β -Farnesene: does it influence the populations of aphid natural enemies in the fields. *Biological Control*, 60(2), 108-112.
- De Bokx J.A., Huttinga H. 1981. Potato Virus Y. Descriptions of Plant Viruses. 242. Commonw. Mycol. Inst. /Assoc. Appl. Biol., Kew, England, 6 pp.
- Dixon H.B.F., 1981. Defining a lectin. Letter to nature. *Nature*, **292**, 192.
- Dombrowski A., Huet H., Zhang H., Chejanovski N. & Raccach B., 2003. Comparison of newly isolated cuticular protein genes from six aphid species, *Insect Biochem. Mol.*, **33**, 709-715.
- Edwardson, J. & Christie, R. 1997. Viruses infecting peppers and other solanaceous crops. Monograph of Agricultural Experiment Station, University of Florida, 18 (12), 467-479.
- Fauquet C. & Thouvenel J-C., 1984. Transmission par insectes des maladies virales de plantes en Afrique tropicale. Bulletin de la société entomologique de France, tome 89, 741-746.
- FNPPPT, 2000. *Fiches descriptives des maladies et ravageurs de la pomme de terre*, Paris.
- Francis F., Lognay G. & Haubruge E., 2004. Olfactory responses to aphid and host plant volatile releases: (E)- β -farnesene an effective kairomone for the predator *Adalia bipunctata*. *J. Chem. Ecol.* **30**, 741-755.
- Francis F., Vandermoten S., Verheggen F., Lognay G. & Haubruge E., 2005. Is the (E)- β -farnesene only volatile terpenoid in aphids. *Journal of Applied Entomology*, **129**, 6-11.

- Gildow F., 1999. Luteovirus transmission mechanisms regulating vector specificity. In *The Luteoviridae*, 88–111. Edited by H. G. Smith & H. Barker. Wallingford, UK: CAB International.
- Giordanengo P., Febvay G. & Rahbé Y., 2007. Comment les pucerons manipulent les plantes. *Biofutur*, **279**, 35-38.
- Gray S. & Gildow F.E., 2003. Luteovirus-aphid interactions, *Ann. Rev. Phytopathol.*, **41**, 539-546.
- Gray S.M. & Banerjee N., 1999. Mechanisms of Arthropod Transmission of Plant and Animal Viruses. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **63**, 128-148.
- Gray S.M., 1996. Plant virus proteins involved in natural vector transmission. *Trends Microbiol.*, **4**(7) 259-264.
- Harmel N., Francis F., Haubruge E. & Giordanengo P., 2008. Physiologie des interactions entre pomme de terre et pucerons : vers une nouvelle stratégie de lutte basée sur les systèmes de défense de la plante. *Cahiers d'Agricultures*, **17** (4), 395-400.
- Hilder VA. et al., 2008. Insect Vector Interactions with Persistently Transmitted Viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **46**, 327-359.
- Hogenhout S.A. et al., 1998. Potato leaf roll virus binds to the equatorial domain of aphid endosymbiotic GroEL homolog, *J. Virol.*, **72**, 358-365.
- Hogenhout S.A. et al., 2000. Identifying the determinants in the equatorial domain of Buchnera GroEL implicated in binding Potato leaf roll virus, *J. Virol.*, **74**, 4541-4548.
- Hogenhout S.A., Ammar E.-D., Whitfield A.E. & Redinbaugh M.G., 2008. Insect Vector Interactions with Persistently Transmitted Viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **46**, 327-359.
- Hogue R., 2010. Impacts des virus sur la production des pommes de terre. Colloque sur la pomme de terre, CRAAQ.
- Karimi J., Haubruge E. & Francis F., 2010. Development of entomotoxic molecules as control agents : illustration of some protein potential uses and limits of lectins (Review). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **14** (1), 225-241.

- Kennedy J.S., Day M.F. & Eastop V.F., 1963. A conspectus of aphids as vectors of plant viruses. *New Phytol.*, **62**, 113-4.
- Khan et al., 1997. *Insect science and its application*, 17 (1), 143-150.
- Khan Z. R., Pickett J. A., van den Berg J., Wadhams L J. & Woodcock C. M., 2000. Exploiting chemical ecology and species diversity: stem borer and striga control for maize and sorghum in Africa. *Pest Management Science.*, **56**, 957–962.
- Kielty J.P., Allen-Williams L.J., Underwood N. & Eastwood E.A., 1996. Behavioral responses of three species of ground beetle (Coleoptera: Carabidae) to olfactory cues associated with prey and habitat. *J. Insect Behav.*, **9** (2), 237-250.
- Lannoo N. & Van Damme E.J.M., 2010. *Biochem. Biophys. Acta.* 1800, 190-201.
- Law J. H. & Regnier F. E., 1971. Pheromones. *Annu Rev Biochem.*, **40**, 533-548.
- Leroy P.D., Verheggen F.J., Capella Q., Francis F. & Haubruge E., 2010. An introduction device for the aphidophagous hoverfly *Episyrphus balteatus* (De Geer) (Diptera: Syrphidae). *Biological Control* **54**, 181–188.
- Li Q.B., Ryu K.H. & Palukaitis P., 2001. Cucumber mosaic virus-plant interactions: Identification of 3a protein sequences affecting infectivity cell-to-cell movement and long-distance movement, *Mol.Plant-Microbe Interact.*, 14, 378-385.
- Marchoux G., Gognalons P. & Sélassié K.G., 2008. *Virus des Solanacées. Du génome viral à la protection des cultures*. Paris, France: Quae.
- Matthews R.E.F., 1991. *Plant Virology*. 3rd edition, Academic Press, San Diego.
- Mowry T.M. & Ophus J.D., 2006. Influence of the potato leafroll virus and virus-infected plants on the arrestment of the aphid, *Myzus persicae*. *Journal of insect Science*, **6**, 1-8.
- Palukaitis P., 2012. Resistance to viruses of potato and their vectors. *Plant Pathol. J.*, 28 (3), 248-258.
- Peumans W.J. & Van Damme E.J.M., 1995. Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol.*, **109** (2), 347-352.

- Pirone T. & Blanc S., 1996. Helper-dependent vector transmission of plant viruses. *Annu. Rev. Phytopathol.* , 34, 227-47.
- Raman K.V., 1987. Transmission des virus de la pomme de terre par les insectes. *In: Centre International de la pomme de terre, ed. La pomme de terre : bulletins d'information technique, 1 à 19.* Lima, Pérou : Centre international de la pomme de terre.
- Regnault-Roger C., 2005. *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement.* Editions TEC & DOC, Lavoisier, 1014 p.
- Remaudière G. & Remaudière M., 1997. Catalogue des aphididae du monde. Editions QUAE.
- Remaudière G., Eastop V.F. & Autrique A., 1985. Distribution des aphides de la région éthiopienne. *In : Contribution à l'écologie des aphides africains, Remaudière et Autrique (loc. cit.), 77-93.*
- Robert Y. & Bourdin D., 2001. Aphid transmission of potato viruses. *In: Loebenstein G., Berger P. H., Brunt A. A. & Lawson R. H., eds. Virus and Virus-Like Diseases of Potatoes and Production of Seed-Potatoes.* Dordrecht: Kluwer, 195-225.
- Rodriguez-Saona C.R. & Stelinski L.L., 2009. Behavior-modifying strategies. *In IPM, Theory and practice. In Integrated Pest Management, Innovation-Development Process* (Ed. by R. Peshin & A. K. Dhawan), 263–315. Dordrecht: Springer.
- Rolot J-L., 2005. Analyse des facteurs régulant la dissémination du virus de la pomme de terre(PVY) en vue de stratégies de lutte raisonnées. Thèse de doctorat, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, Gembloux, Belgique.
- Stevenson, W. R., Loria, R., Franc, G. D. & Weingartner, D. P., 2001. *Compendium of Potato Diseases.* St Paul, MN: American Phytopathological Society.
- Terradot L. & Ducray D.G., 2008. La transmission des virus de Solanacées par les pucerons. *In : Marchoux G., Gognalons P. & Gébré Sélassié K., eds. Virus des Solanacées, Du génome viral à la protection des cultures.* Quae, c/o Inra, Versailles, 625-638.
- Van Damme E. J. M., Peumans W. J., Barre A. & Rougé P., 1998. Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Crit Rev Plant Sci*, **17**, 575-692.

- Van Damme EJM, Peumans WJ, Pusztai A. & Bardocz S., 1997. *Handbook of plant lectins: properties and biochemical applications*. Chichester (Grande-Bretagne) : John Wiley and Sons Ltd.
- Van den Heuvel J.F.J.M. et al., 1997. The N-terminal region of luteovirus read through domain determines virus binding to Buchnera GroEl and is essential for virus persistence in the aphid. *J. Virol.* **71**, 7258-7265.
- Van den Heuvel J.F.J.M., Verbeek M. & Van der Wilk F., 1994. Endosymbiotic bacteria associated with circulative transmission of potato leaf roll virus by *Myzus persicae*, *J. Gen. Virol.*, **75**, 2559-2565.
- Van Harten, A., 1983. The relation between aphid flights and the spread of Potato virus YN in the Netherlands. *Potato Res.*, 26, 1-15.
- Vandenborre G., Smagghe G. & Van Damme E. J. M., 2011. Plant lectins as defense proteins against phytophagous insects. *Phytochemistry in presse*.
- Verbeek, M., P.G.M. Piron, A.M. Dulleman, C. Cuperus and R.A.A. van der Vlugt, 2010. Determination of aphid transmission efficiencies for N, NTN and Wilga strains of Potato virus Y. *Ann. Appl. Biol.*, 156, 39-49.
- Verheggen F. J., Arnaud L., Bartram S., Gohy M. & Haubruge E., 2008. Aphid and plant volatiles induce oviposition in an aphidophagous hoverfly. *J. Chem. Ecol.*, **34** (3), 301-307.
- Wang R., Ammar E., Thornbury D., Lopez-Moya J. & Pirone T., 1996. Loss of Potyvirus transmissibility and helper-component activity correlate with non-retention of virions in aphids stylets. *Journal of General Virology*, **77** (5), 861-867.
- Wang X. & Zhou G., 2003. Identification of a protein associated with circulative transmission of Barley yellow dwarf virus from cereal aphids, *Schizaphis graminium* and *Sitobion avenae*, *Chin. Sci. Bull.*, **48**, 2083-2087.
- Ward, C.W. and Shukla, D.D., 1991. Taxonomy of potyviruses: current problems and possible solutions. *Intervirology*, 32: 269-296.

- Xiangyu J.G., Zhang F., Fang Y.L., Kan W., Zhang G.X. & Zhang Z.N., 2002. Behavioural response of aphids to alarm pheromone component (E)- β -farnesene in field. *Physiological Entomology*, **27**, 307-311.
- Yang X. et al., 2008. Coupling Genetics and Proteomics to Identify Aphid Proteins Associated with Vector-Specific Transmission of Polerovirus (*Luteoviridae*). *Journal of virology*, **82** (1), 291–299.
- Zhou H., Chen J., Liu Y., Francis F., Haubruge E., Bragard C., Sun J. & Cheng D., 2013. Influence of Garlic Intercropping or Active Emitted Volatiles in Releasers on Aphid and Related Beneficial in Wheat Fields in China. *Journal of Integrative Agriculture*, **12**(3), 101-108.
- Zhu J.W., Cosse A.A., Obrycki J.J., Boo K.S. & Baker T.C., 1999. Olfactory reactions of the twelve-spotted lady beetle, *Coleomegilla maculate* and the green lacewing, *Chrysoperla carnea* to semiochemicals released from their prey and host plant: electroantennogram and behavioral responses. *J. Chem. Ecol.* **25**, 1163-1177.
- Sigvald, R., 1984. A relative efficiency of some aphid species as vectors of potato virus Y (PVY^O). *Potato Research*, **27**, 285-290.
- Ragsdale D., Radcliffe E. et C. Difonzo. 2001. In : Loebenstein G., Berger PH., Brunt A.A., Lawson RH., eds. *Virus and virus-like Diseases of potatoes and production of seed-potatoes*, chap. Epidemiology and field control of PVY and PLRV, pp. 237-270.
- Rolland et al., 2008. La virus Y de la pomme de terre (PVY): de la première description aux derniers épisodes d'émergence. *Virologie*, **12** (4), 261-273.
- Boonham, N., Walsh, K., Preston, S., North, J., Smith, P. and Barker, I. (2002). The detection of tuber necrotic isolates of Potato Virus Y, and the accurate discrimination of PVY^O, PVY^N and PVY^C strains using RT-PCR. *J. Virol. Meth.*, **102**: 103–112.
- Singh, R.P., 1999. Development of the molecular methods for virus and viroid détection and prévention. *Génome*, **42**: 592-604.
- Radcliffe, E.B. 1982. Insect pest of potato. *Annu. Rev. Entomol*, **27**: 173-204.

CHAPITRE III : OBJECTIFS

OBJECTIFS

Cette étude s'intègre dans une approche de productions durables, notamment par la mise en œuvre du contrôle biologique en pomme de terre, des bio-agresseurs en général, et des pucerons et viroses associées en particulier. De plus, au vu du manque de données disponibles pour le Mali, il était essentiel d'étudier les protagonistes liés à cette localisation géographique. Une comparaison avec les conditions de production en Belgique a été programmée au vu des questionnements au sujet des méthodes à mettre en œuvre suite à la suppression de certains traitements. Les activités prévues dans cette étude sont :

- le piégeage et l'identification de pucerons en parcelles de pomme de terre (en Belgique et au Mali) et la caractérisation des souches virales (PVY et PLRV notamment) des échantillons foliaires de pomme de terre ;
- l'évaluation de la diversité et l'abondance des pucerons dans les parcelles de pomme de terre en milieux tropical (Mali) et tempéré (Sud de la Belgique),
- la proposition de stratégies de production durable en pomme de terre.

Avant de présenter les résultats, une recherche bibliographique a été menée afin d'avoir un aperçu sur les mécanismes de transmission des virus par les pucerons et les stratégies de lutte permettant une gestion intégrée de la dissémination des virus.

Le chapitre IV de cette thèse est consacrée à l'étude de l'impact des méthodes de piégeage sur l'efficacité de surveillance des pucerons. Ce travail a consisté à la comparaison d'une méthode de piégeage par attraction et par interception. L'efficacité du piège est alors déterminée en comparant l'abondance et la diversité des pucerons capturés dans les deux pièges pendant la même période.

Dans les chapitres V et VI, nous avons mené une étude sur la diversité et l'abondance des pucerons, (i) en climat tropical notamment au Mali et en (ii) dans le sud de la Belgique.

Le chapitre VII consiste en une discussion globale des résultats obtenus. Il reprend également les conclusions issues des essais aux champs ainsi que les perspectives envisagées pour approfondir d'avantage les connaissances sur les relations pucerons-virus-plantes.

**CHAPITRE IV : IMPACT DES MÉTHODES DE PIÉGEAGE SUR
L'EFFICACITÉ DE SURVEILLANCE DES PUCERONS: ILLUSTRATION
DANS LES CHAMPS DE POMMES DE TERRE EN BELGIQUE**

Impact des méthodes de piégeage sur l'efficacité de surveillance des pucerons:

illustration dans les champs de pommes de terre en Belgique

(article accepté dans Entomologie faunistique)

Almouner A.A.Yattara, Frédéric Francis

Unité d'entomologie fonctionnelle et évolutive, Gembloux Agro-Bio Tech, Passage des Déportés, 2, B-5030, Université de Liège, Gembloux, (Belgique). *E-mail: pedrosannas@yahoo.fr

Résumé:

L'étude de la diversité et de l'abondance des insectes implique généralement l'utilisation de pièges, qu'ils soient d'interception ou d'attraction. Le choix du type de piège qui convient le mieux aux groupes d'insectes que l'on souhaite étudier est donc important. En 2010 et 2011 nous avons étudié la performance relative de deux méthodes de piégeage, à savoir le piège Malaise et le piège jaune à eau. L'objectif était de comparer l'impact de ces deux méthodes de piégeage quant à leur efficacité dans la surveillance des pucerons ravageurs de culture de pomme de terre. Les pièges jaunes se sont révélés plus efficaces que les pièges Malaise avec respectivement 73,6 et 26,4% de pucerons récoltés sur l'ensemble des deux saisons culturales. Non seulement l'abondance mais aussi la diversité aphidienne ont été inférieures avec le Malaise (28 espèces alors que 42 taxa ont été collectés dans les pièges jaunes). L'utilisation des techniques de piégeage a été discutée dans le cadre de la mise en œuvre d'une surveillance de ravageurs de cultures.

Mots Clés: Piège Malaise, piège jaune, stratégies d'échantillonnage, surveillance des pucerons, culture de pomme de terre.

Abstract

Study of diversity and abundance of insects often involves the use of traps, either by interception or attraction way. Selecting an appropriate trapping method for efficient insect group monitoring is of first importance. In 2010 and 2011, the relative performance of two kinds of traps were determined in the South part of Belgium (Wallonia) potato fields: namely the Malaise and yellow water traps,. The objective of this work was to compare the impact of two trapping methods for their effectiveness in monitoring aphids. Yellow traps were more effective than the Malaise trap with 73.6 and 26.4% of aphids collected throughout the two seasons, respectively. Malaise traps allowed also to record fewer aphid diversity (28 aphid species toward 42 aphid species in yellow traps). Monitoring of aphids was discussed in relation to virus spreading in crop fields.

Keys words: Malaise trap, yellow trap, sampling strategies, aphids monitoring, potato crop.

Introduction

La surveillance des populations de pucerons par la seule observation visuelle est insuffisante pour remédier aux difficultés de détection des premières attaques. Ceci rend nécessaire le piégeage des individus ailés qui peuvent coloniser diverses cultures participant ainsi à la dispersion de l'espèce sur de grande distance. L'utilisation de pièges a l'avantage d'une part de renseigner l'abondance et la richesse spécifique des pucerons, d'autre part de suivre les populations de chacune des espèces afin d'anticiper leur pullulation. L'étude de la diversité et de l'abondance des insectes implique très souvent l'utilisation de pièges, qu'ils soient d'interception ou d'attraction avec des caractéristiques et contraintes variées (Tableau 1). Il est donc important de choisir le type de piège qui convient le mieux aux groupes d'insectes que l'on souhaite étudier. Le choix d'une méthode d'échantillonnage doit tenir compte de plusieurs critères tels l'efficacité de capture, la sélectivité par rapport aux groupes d'insectes, la possibilité d'utiliser la méthode pour des comparaisons et sa faisabilité (Nageleisen & Bouget, 2009). L'abondante littérature concernant les différents types de piège et leur efficacité envers la capture d'une catégorie d'insectes confirme que, dans chaque cas, il s'agit d'une situation particulière (Lhoir et *al.*, 2003). Ce qui fait dire à Roth (1963) que le meilleur piège pour l'entomologiste est celui qui récolte plus d'insectes et d'espèces et rend compte de la proportion relative de diverses espèces, genres ou familles. Plusieurs types de pièges ont vu le jour, avec des objectifs différents pour chacun d'eux. Parmi ceux-ci, les pièges jaunes (bac de Moericke) et le piège Malaise sont fréquemment utilisés. Les pièges colorés sont composés d'un bac de polyester, contenant de l'eau savonneuse. Ces pièges sont moins coûteux et peuvent être facilement disposés dans les cultures. Ils ont théoriquement l'avantage de révéler la situation au niveau local (Rolot, 2005). Les captures réalisées par ce type de pièges dépendent du comportement spécifique et individuel des pucerons, et donc de leur capacité à percevoir la couleur et à se diriger vers elle. Il y a alors un effet de sélection des pucerons selon la couleur utilisée. La hauteur à laquelle les pièges sont installés influe également sur la densité et la nature des captures (Taylor et *al.*, 1976). Ce type de pièges est un des modèles les plus fréquemment utilisés en entomologie faunistique des milieux agricoles car ils sont efficaces et se prêtent à des échantillonnages de grande envergure (Mignon et *al.*, 2003). Le piège Malaise est un piège d'interception mis au point par René Malaise (Vardal et *al.*, 2011). Il a par la suite subi diverses modifications (Butler, 1965; Achterberg, 2009). Ce type de piège compte aujourd'hui parmi les dispositifs de piégeage les plus largement utilisés et

considéré comme le piège à insectes le plus efficace (Townes, 1972; Southwood et Henderson, 2000; Braet et *al.*, 2000; Leather, 2005; Fraser et al., 2008). Cependant son efficacité dépend de sa forme, de sa taille et de sa couleur (Marshall et *al.*, 1994). D'autre part, l'efficacité est aussi fonction des ordres d'insectes d'intérêt, particulièrement efficace pour les Diptères, les Hyménoptères (Darling & Packer, 1988) et les Homoptères (Southwood, 1978). Ce type de piège nécessite un placement dans un endroit approprié, dégagé et dans un couloir de vol (Malaise, 1937). Le principe du piège Malaise repose sur l'interception de la trajectoire de vol des insectes par un tissu qui office comme obstacle vertical. Les insectes qui butent sur cette barrière, tentent soit de l'éviter en se laissant tomber, ou alors cherchent une sortie vers le haut attirés par la lumière. Ils sont ainsi collectés dans un flacon contenant un conservateur.

Dans notre cas, une étude comparative entre des pièges d'interception (Piège Malaise) et d'attraction (Piège jaune) a été menée afin de mesurer l'impact des deux méthodes de piégeage sur l'efficacité de surveillance des populations de pucerons. L'efficacité de surveillance sera déterminée en comparant l'abondance et la richesse spécifique des pucerons au niveau des deux types de piège.

Tableau 1: Caractéristiques et contraintes des méthodes d'échantillonnage passives et actives en milieu terrestre (d'après Nageleisen & Bouget, 2009).

Méthode	Type de piégeage	Principe méthode	Compétence requise	Coût temporel (avec tri et identification)	Coût matériel	Dépendance climatique	Risque de dégradation du dispositif	Sélectivité vs. Capturabilité
Piège à vitre	Interception	Relative	+	++	-a++	+	++	S ⁻ ; C ⁺⁺
Piège Malaise	Interception	Relative	+	++	++	++	++	S ⁻ ; C ⁺⁺
Piège adhésif	Interception	Relative	+	++	++	+	++	S ⁻ ; C ⁺
Piège aérien rotatif et à succion	Interception	Semi-exhaustive	+	++	++	-	++	S ⁻ ; C ⁺
Filet stationnaire	Interception	Relative	+	++		++	++	S ⁻ ; C ⁻
Piège à fosse	Interception	Relative	+	++	+	-	+	S ⁻ à ⁺⁺ ; C ⁺⁺
Piège sexuel	Attraction	Relative	-	-	++	++	++	S ⁺⁺⁺ ; C ⁺⁺
Piège appâté au sol	Attraction	Relative	+	++	+	-	+	S ⁺⁺ ; C ⁺⁺
Piège appâté Suspendu	Attraction	Relative	+	++	+	++	++	S ⁺⁺ ; C ⁺⁺
Piège refuge	Attraction	Relative	+	++	-	-	+	S ⁺⁺ ; C ⁺
Piège coloré ou bac jaune	Attractive	Relative	+	++	+	+	++	S ⁺ ; C ⁺⁺
piège lumineux automatique	Attractive	Relative	+	++	++	++	++	S ⁺ ; C ⁺⁺
Piège microtube	Attractive	Relative	+	-	++	+		S ⁺⁺ ; C ⁺⁺
Nasse à émergence	Interception	Absolue	+	++	+	-	++ (" <i>in situ</i> ")	S ⁺ C ⁺
Piège entomologique composite (PEC)	Mixte	Relative	++	Très important	++	++	++	S ⁻ ; C ⁺⁺⁺

(- : faible; +: modéré (e); ++: important (e) ; +++: très important (e))

Matériels et méthodes

Deux méthodes de piégeage ont été utilisées simultanément pour la surveillance de l'aphidifaune: l'installation de pièges jaunes de von Moericke (Ø: 27 cm, h: 10 cm) et de pièges Malaise. Les pièges (bacs jaunes et pièges Malaise) ont été installés environ un mois après le semis, dans un réseau de neuf sites dans le sud de la Belgique.

Au centre de la parcelle est placée une station de trois pièges jaunes installés en triangle de dix mètres de côté. Les bacs sont remplis d'eau jusqu'au trait de jauge et suspendus à leur support à la hauteur du plant de pomme de terre. À cette eau est ajouté un détergent. L'eau est ajoutée régulièrement en périodes de fortes chaleurs et renouvelée lors des collectes. Dans chaque parcelle sont placés trois pièges jaunes et un piège Malaise (soit un total de 27 et 9 pièges jaunes et Malaise, respectivement). Les pièges Malaise ont été installés dans les mêmes parcelles que les pièges jaunes à environ cinq mètres de la bordure du champ. Les relevés ont été effectués hebdomadairement durant deux campagnes agricoles en 2010 et 2011. Les pucerons recueillis sont conservés dans du norvanol à 70%, comptés, puis déterminés jusqu'au rang taxonomique de l'espèce. Pour cela, plusieurs clés de détermination spécifiques ont été utilisées. L'identification des pucerons a été réalisée en se basant sur des caractères morphologiques tels que décrits par Remaudière et *al.* (1985), Leclant (1999), Jacky & Bouchery (1982), Autrique & Ntahimpera (1994), Taylor (1980), ainsi que des spécimens de référence conservés au laboratoire d'EFE-GxABT.

Des analyses de variances, suivies de tests de Tukey, ont été réalisées à l'aide du logiciel MINITAB 16 pour comparer l'abondance des pucerons piégés en fonction du type de piège. Le niveau de signification adopté est de 5%.

Résultats

Au cours des deux saisons culturales 2010 et 2011, le dispositif de piégeage nous a permis de capturer sur l'ensemble des sites 13.032 pucerons. Sur ce nombre, les pièges jaunes ont enregistré le meilleur score avec 73,6% des individus récoltés. Les pièges Malaise n'ont fourni que 26,4% de la récolte totale, soit seulement 3.433 individus. Les pucerons semblent donc être attirés beaucoup plus par la couleur jaune, puisqu'ils ont permis de récolter le plus d'insectes, comparativement aux pièges Malaise. Comme on le remarque, une abondance relative plus élevée a été constatée dans les bacs jaunes comparativement aux pièges Malaise. Au niveau des espèces, au terme de la période de piégeage, 2.611 et 1.776 individus

récoltés dans les pièges jaunes et dans les pièges Malaise en 2010 se répartissent en 34 et 25 espèces respectivement (Tableau 2). En 2011, le nombre d'individus a plus que doublé dans les pièges jaunes (n= 6.988), quand il a légèrement diminué dans les pièges Malaise (n= 1.667). Au cours de la même période, les captures issues des pièges jaunes ont permis d'identifier trente sept espèces de pucerons. Les pièges Malaise ont au contraire enregistré une baisse de plus de la moitié des espèces par rapport à celles inventoriées la saison précédente, soit 14 espèces. Ces espèces (de 30 et 25 genres pour les pièges jaunes et Malaise respectivement) appartiennent toutes à la famille des Aphididae. Globalement, 42 espèces de pucerons ont été identifiées au cours des deux saisons culturales dans les pièges jaunes contre 28 dans les pièges Malaise, soit 60% de l'ensemble des captures.

Tableau 2: Abondance relative et richesse spécifique des espèces de pucerons capturés dans deux types de pièges de 2010 à 2011

Espèces de pucerons	Pièges Jaunes				Pièges Malaise			
	2010	2011	Total	(%)	2010	2011	Total	(%)
<i>Acyrtosiphum pisum</i> (Harris,1776)	200	492	692	7,2	171	19	190	6
<i>Amphorophora gei</i> (Börner 1939)	5	-	5	0,1	-	-	-	-
<i>Amphorophora rubi</i> (Kaltenbach,1843)	1	27	28	0,3	2	-	2	0,1
<i>Anoecia corni</i> (Fabricius, 1775)	-	13	13	0,1	8	6	14	0,4
<i>Aphis fabae</i> Scopoli, 1763	515	1369	1884	19,6	194	81	275	8
<i>Aphis gossypii</i> Glover, 1877	-	45	45	0,5	-	-	-	-
<i>Aphis idaei</i> Van der Goot, 1912	-	1	1	0	-	-	-	-
<i>Aphis</i> sp.	86	78	164	1,7	4	44	48	1,3
<i>Aulacorthum solani</i> Kaltenbach,1843	4	11	15	0,1	1	-	1	0
<i>Brachycaudus helichrysi</i> (Kaltenbach,1843)	104	189	293	3,1	2	12	14	0,4
<i>Brevicoryne brassicae</i> (Linnaeus,1758)	170	49	219	2,2	37	-	37	1
<i>Capitophorus horni</i> Börner, 1931	1	28	29	0,3	10	3	13	1
<i>Capitophorus</i> sp.	2	7	9	0,1	-	-	-	-
<i>Cavariella aegopodii</i> (Scopoli, 1763)	21	49	70	0,7	75	7	82	2,3
<i>Cavariella pastinacae</i> (Linnaeus,1758)	1	-	1	0	-	-	-	-
<i>Chaitophorus</i> sp.	11	27	38	0,4	-	-	-	-
<i>Dysaphis plantaginae</i> (Passerini, 1860)	4	-	4	0,1	-	-	-	-
<i>Eriosoma ulmi</i> (Linnaeus,1758)	4	12	16	0,2	-	-	-	-
<i>Hyalpterus pruni</i> (Geoffroy, 1762)	7	1	8	0,1	1	-	1	0
<i>Hyperomyzus lactucae</i> (Linnaeus,1758)	19	8	27	0,3	16	-	16	0,4
<i>Hyperomyzus picridis</i> (Börner, 1916)	-	1	1	0	-	-	-	-
<i>Lypaphis erysimi</i> (Kaltenbach,1843)	1	3	4	0,1	19	-	19	0,5
<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Thomas, 1878)	163	178	341	3,5	12	-	12	0,3
<i>Macrosiphum rosae</i> (Linnaeus,1758)	6	-	6	0,1	-	-	-	-
<i>Megoura viciae</i> Buckton, 1876	-	7	7	0,1	1	-	1	0
<i>Metopolophium dirhodum</i> (Walker, 1849)	475	2445	2920	30,4	616	1251	1867	54,3
<i>Microlophium carnosum</i> (Buckton, 1876)	-	-	-	0	-	10	10	0,3
<i>Myzus ascalonicus</i> Doncaster, 1946	12	46	58	0,6	1	-	1	0
<i>Myzus cerasi</i> (Fabricius, 1775)	-	1	-	1	0	-	-	-
<i>Myzus ornatus</i> Laing, 1932	-	33	33	0,3	-	-	-	-
<i>Myzus persicae</i> (Sulzer, 1776)	440	1064	1504	15,7	202	99	301	8,6
<i>Nasononia ribisnigri</i> (Mosley, 1841)	13	7	20	0,2	4	2	6	0,2
<i>Pemphigus</i> sp.	1	1	2	0	-	-	-	-

<i>Periphyllus</i> sp.	4	6	10	0,1	-	-	-	-
<i>Phorodon humuli</i> (Schrank, 1801)	-	36	36	0,3	-	-	-	-
<i>Phyllaphis fagi</i> (Linnaeus, 1767)	2	2	4	0,1	1	-	1	0
<i>Rhopalosiphoninus latysiphon</i> (Davidson, 1912)	1	4	5	0,1	-	23	23	0,7
<i>Rhopalosiphum padi</i> (Linnaeus, 1899)	187	196	383	4	8	-	8	0,2
<i>Sitobion avenae</i> (Fabricius, 1775)	94	245	339	3,5	55	74	129	3,6
<i>Sitobion fragariae</i> (Walker, 1848)	8	2	10	0,1	14	-	14	0,4
<i>Tetraneura</i> sp	1	46	47	0,5	11	-	11	0,3
<i>Therioaphis trifolii</i> (Monell, 1882)	30	17	47	0,5	221	-	221	6,4
<i>Ureleucon compositae</i> (Theobald, 1915)	-	47	47	0,5	-	36	36	1
Non identifiées*	17	196	213	2,2	80	-	80	2,3
Total	2611	6988	9599	100	1766	1667	3433	100
Espèces	34	37			25	14		

* Les pucerons n'ayant pu être identifiés à cause de leur état de dégradation

Sur un total de 12.749 individus identifiés pendant les deux saisons culturales, quatre espèces sont majoritaires et représentent 75,6% des captures (Tableau 3). Le puceron *M. dirhodum* a été le plus rencontré avec 31,1% de l'ensemble des individus piégés dans les bacs jaunes. Cette tendance a été aussi remarquée dans les pièges Malaise, où il constitue l'essentiel des insectes récoltés (55,5% de l'effectif récolté). Viennent ensuite *M. persicae*, *A. fabae* et *A. pisum*. Leurs abondances relatives changent cependant en fonction du type de piège utilisé. Il faut noter aussi que 293 pucerons (213 et 80 individus en pièges jaunes et Malaise respectivement) n'ont pas pu être identifiés à cause de leur état de dégradation. Dans chaque type de piège, une grande disparité entre le nombre de captures effectuées dans les différents sites est observée.

Tableau 3. Proportion relative des espèces de pucerons capturés dans les deux types de piège sur l'ensemble des sites en 2010 et 2011.

Espèces	Pièges jaunes				Pièges Malaise			
	2010	2011	Total	%	2010	2011	Total	%
<i>Acyrtosiphum pisum</i>	200	492	692	7,3	171	19	190	5,7
<i>Aphis fabae</i>	515	1369	1884	20,1	194	81	275	8,2
<i>Metopolophium dirhodum</i>	475	2445	2920	31,1	616	1251	1867	55,5
<i>Myzus persicae</i>	440	1064	1504	16,1	202	99	301	8,9
Autres espèces	964	1422	2386	25,4	513	217	730	21,7
Total	2594	6792	9386	100	1696	1667	3363	100

Dans tous les sites, les pièges jaunes ont été plus efficaces, en termes d'abondance des individus capturés (Tableau 4). L'efficacité du dispositif de piégeage a été maximale toujours avec les pièges jaunes qui ont systématiquement donné le meilleur résultat (53,6% en

2011 et 20% en 2010). Par contre, les pièges Malaise n'ont permis de collecter que 13,6 et 12,8% des pucerons respectivement en 2010 et 2011. Aucune différence significative n'a été observée entre les individus collectés pour le même type de piège en fonction des sites ($F = 0,67$; $P = 0,71$). Par contre, les abondances des pucerons collectés sont significativement différentes ($F = 13,12$; $P = 0,001$). En effet, en moyenne, 533 pucerons ont été piégés avec les pièges jaunes sur les deux années d'observations.

Tableau 4: Répartition des captures en fonction du type de piège et du site.

Sites	Pièges jaunes		Pièges Malaise		Total	(%)
	2010	2011	2010	2011		
Gembloux	422	481	179	140	1222	9,4
Rhisnes	161	755	144	108	1168	9,0
Opprebois	62	424	141	121	748	5,8
Tubize	979	910	422	304	2615	20,1
Mehaigne	135	549	174	224	1082	8,4
Fernelmont	144	1345	286	192	1967	15,0
Verlaine	233	588	128	178	1127	8,6
Flamierge	382	671	215	281	1549	11,8
Heron	93	1265	77	119	1554	11,9
Total	2611	6988	1766	1667	3433	100
%	20,0	53,6	13,6	12,8	100	

Aucune différence significative n'a été observée entre les individus collectés pour le même type de piège en fonction des sites ($F = 0,67$; $P = 0,71$). Par contre, les abondances des pucerons collectés sont significativement différentes ($F = 13,12$; $P = 0,001$). En effet, en moyenne 533 pucerons ont été piégés avec les pièges jaunes sur les deux années d'observations

Phénologie des pucerons en fonction du type de piège

Qu'elle soit évaluée par capture à l'aide de pièges jaunes ou de pièges Malaise, la phénologie des pucerons ailés est la même d'une année à l'autre. Les pics d'occurrences se situent à la mi-juin, aussi bien dans les bacs jaunes que dans les pièges Malaise. Cette observation est similaire à d'autres réalisées précédemment, sur une grande partie du territoire wallon (Rolot, 2005).

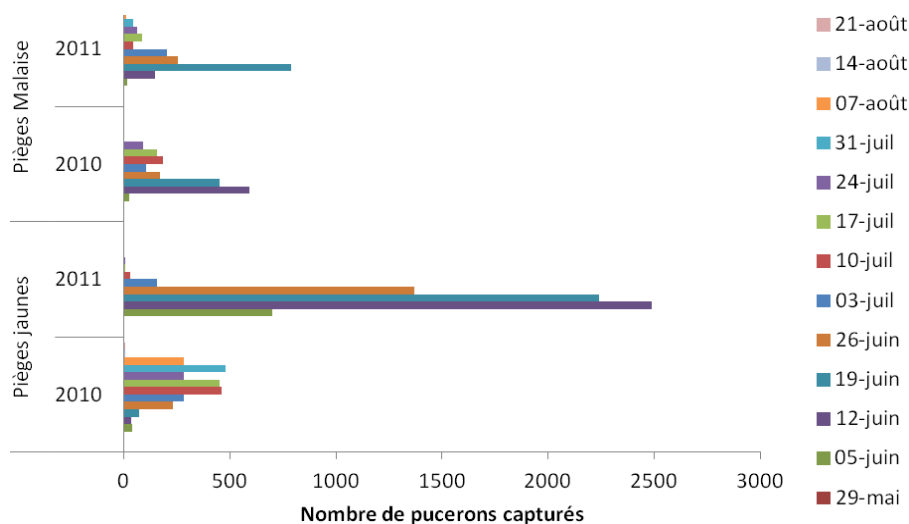


Figure 2: Phénologie des pucerons en fonction du type de pièges installés en parcelles de pomme de terre en Wallonie.

Discussion

Au terme des deux saisons de piègeage, les captures dans les pièges jaunes ont totalisé 9.599 pucerons pour 3.033 individus collectés dans les pièges Malaise. Quarante trois espèces ont été identifiées dans les pièges jaunes, pour 28 dans les pièges Malaise. Les pièges jaunes présentent un intérêt supérieur au vu de la facilité d'utilisation et de leur rendement appréciable pour la récolte de pucerons, tant en abondance qu'en richesse spécifique. La forte abondance des pucerons dans les pièges jaunes par rapport au piège Malaise confirme la préférence des pucerons pour la couleur jaune (Fraval, 2006). Les pucerons qui viennent buter contre la toile du piège Malaise ne parviennent pas tous à se diriger vers le dispositif de collecte. Certains peuvent être désorientés ou alors se retrouvés dans un coin de la tente. Il y a donc un caractère aléatoire des insectes à se diriger précisément vers le flacon de collecte. L'échantillonnage des petits insectes par le piège Malaise est beaucoup moins efficace que pour les autres insectes ailés plus mobiles (Van Achterberg et *al.*, 2010). En effet, son efficacité a été démontrée dans la capture de divers ordres d'insectes comme les Diptères, Hyménoptères et des Hémiptères en milieu tropical (Lamarre et *al.*, 2012). Ces mêmes auteurs ont constaté une faible abondance de l'ordre des Hémiptères dans les pièges Malaise qu'ils avaient utilisés. Ce qui fait suggérer à Broadbent (1947); Hodkinson et Casson (1991) une méthode complémentaire supplémentaire de piègeage dans l'échantillonnage effectif de cet ordre d'insectes.

Références

- Achterberg van C., 2009. Townes type Malaise traps can be improved? Some recent developments. *Entomologische Berichte Amsterdam*, 69: 129-135.
- Autrique A. & Ntahimpera L., 1994. Atlas des principales espèces de pucerons rencontrées en Afrique Sub-saharienne. Administration Générale de la Coopération au Développement, AGCD, Publication Agricole N° 33, 78p.
- Braet Y., Cerda J-A. et J. Fretey, 2000. Notes sur quelques insectes récoltés au piège Malaise en Guyane française. *Notes fauniques de Gembloux*, 38: 3-20.
- Broadbent L (1947). An analysis of captures of Aphidae (Hemiptera) in a light trap. *Philosophical Transactions of the Royal Society* 98: 475–490.
- Butler G.D., 1965. A modified Malaise insect trap. *Pan -Pacific Entomologist*, 41: 51-53.
- Darling D.C. & Packer L., 1988. Effectiveness of Malaise traps in collecting Hymenoptera. The influence of trap design, mesh size and location. *Canadian Entomologist* 120: 787-796.
- Fraser S.E.M, Dytham C. et Mayhew P.J., 2008. The effectiveness and optimal use of Malaise traps for monitoring parasitoid wasps. *Insect Conservation and Diversity*, 1: 22-31.
- Fraival A., 2006. Les pucerons-2^e partie. *Insectes* 27, n° 142 (3).
- Hodkinson ID, Casson D (1991). A lesser predilection for bugs: Hemiptera (Insecta) diversity in tropical rain forests. *Biological Journal of the Linnean Society* 43: 101–109.
- <http://www.biology.ualberta.ca/bsc/briefs/brcommentevaluer.htm> (1 à 15)4/22/2013 23:38:12.
- Jacky F., Bouchery Y. (1982). Atlas des formes ailées des espèces courantes de pucerons. Institut National de la Recherche Agronomique, Colmar, 48p.
- Lamarre GPA, Molto Q, Fine PVA, Baraloto C (2012). A comparison of two common flight interception traps to survey tropical arthropods. *ZooKeys* 216: 43–55.
- Leather S.R., 2005. Insect sampling in forest ecosystems. Blackwell, Oxford, 303 pp.
- Leclant F. (1999). Les pucerons des plantes cultivées. Clefs d'identification, Cultures maraichères II. Editions INRA, ACTA.

- Lhoir, J., Fagot, J., Thieren, Y. & Gilson, G., 2003. Efficacité de piégeage, par les méthodes classiques, des coléoptères saproxyliques en Région Wallonne (Belgique). *Notes fauniques de Gembloux*, 50: 49-61.
- Malaise M.R., 1937. A new insect trap. *Entomologisk Tidskrift*, 58: 148-160.
- Marshall S.A., Anderson R.S., Roughley R.E., Behan-Pelletier V. et Danks H.V., 1994. Terrestrial arthropod biodiversity : planning a study and recommended sampling techniques. A brief. *Bulletin of the Entomological Society of Canada* 26(1), Supp. 33pp.
- Matthews R.W. & Matthews J.R., 1983. Malaise traps: the Townes model catches more insects. *Contributions of the American Entomological Institute* 20: 428-432.
- Mignon J., Colignon P., Haubruge E. et F. Francis. 2003. Effet des bordures de champs sur les populations de chrysopes [Neuroptera: Chrysopidae] en cultures maraichères. *Phytoprotection*, 84 : 121-128.
- Nageleisen L. M. & Bouget C., coord., 2009. L'étude des insectes en forêt : méthodes et techniques, éléments essentiels pour une standardisation. Synthèse des réflexions menées par le groupe de travail « Inventaires Entomologiques en Forêt » (Inv.Ent.For.). Les Dossiers Forestiers n°19, Office National des Forêts, 144 p.
- Rolot J-L., 2005. Analyse des facteurs régulant la dissémination du virus de la pomme de terre (PVY) en vue de stratégies de lutte raisonnées. Thèse de doctorat, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, Gembloux, Belgique, 252p.
- Roth M., 1963. Comparaisons de méthodes de capture en écologie entomologique. *Revue de Pathologie végétale et d'Entomologie Agricole de France* T. XLII-N°3, Juillet-septembre, 178-197.
- Southwood T.R.E and Henderson P.A., 2000. *Ecological Methods*. Blackwell Science, Oxford, 575pp.
- Southwood T.R.E., 1978. *Ecological methods with particular reference to the study of insect populations*, London, Chapman et Hall, 524 p.
- Taylor L.R. (1981). *Aphid forecasting and pathogens and a handbook for aphid identification*. Euroaphid, 1980.
- Taylor L.R., French R.A. & Woiwod I.P., 1976. The Rothamsted insect Survey Rep. Rothamsted exp. Sln for 1975, part 1, 116-119.

Townes H., 1972. A light-weight Malaise trap. *Entomological News*, 83: 239-247.

Van Achterberg K., Grootaert P. & Shaw M.R. (2010). *Flight interception traps for arthropods*, Chapter 17, 40 p.

Vardal H. & Taeger A., 2011. The life of René Malaise: from the wild east to a sunken island. *Zootaxa*, 3127, 38-52.

**CHAPITRE V : DIVERSITÉ ET ABONDANCE DES
PUCERONS[HOMOPTERA: APHIDIDAE] ET LEUR IMPACT DANS LA
DISSÉMINATION DES VIRUS INFECTANT LA POMME DE TERRE AU
MALI**

Diversité et abondance des pucerons [Homoptera: Aphididae] et leur impact

dans la dissémination des virus infectant la pomme de terre au Mali

(article soumis dans Phytoprotection)

Almouner A.A. Yattara^{1,2}, Emilie Bosquée, Amadou K. Coulibaly², Frédéric Francis¹

Résumé

Des études sur l'abondance et la diversité des pucerons ont été menées pendant trois campagnes agricoles au Mali. Sur base de relevés de bacs jaunes installés dans des cultures de pomme de terre à Kati et à Sikasso, 2525 pucerons ont été capturés et identifiés. Dix-neuf espèces de pucerons ont été recensées, dont deux également observées *in situ* sur la culture: *Aphis gossypii* (Glover) et *Myzus persicae* (Sulzer). La plupart de ces espèces sont des ravageurs de cultures, mais contribuent aussi à la transmission virale. Des échantillons foliaires prélevés dans des parcelles de pomme de terre au niveau des deux régions ont été testés par la technique ELISA pour la détection des deux principaux virus dommageables, le Potato Virus Y (PVY) et le Potato Leaf Roll Virus (PLRV). Le taux de plantes virosées dans les deux localités pendant les trois années variaient de 19,3% à 21,8% pour le PVY alors qu'il était de 8.5% à 9,3% pour le PLRV. L'occurrence de ces maladies virales s'est révélée être très homogène d'une année à l'autre avec des taux relativement importants. Cette étude est une première quantification dans cette région du Mali de l'importance des couples pucerons vecteurs – virus en culture de pomme de terre.

Mots-clés: Abondance, diversité, aphidifaune, pomme de terre, PVY, PLRV, Kati, Sikasso, Mali.

[Diversity and abundance of aphids [Homoptera: Aphididae] and their impact on the spread of infecting potato virus in Mali]

Studies on the abundance and diversity of aphids were conducted during three crop seasons in Mali. Based on yellow trap surveys set in potato crops in Sikasso and Kati, 2525 aphids were collected and identified. Nineteen species of aphids have been identified, two of which also observed *in situ* on potato plants: *Aphis gossypii* (Glover) and *Myzus persicae* (Sulzer). Most of these species are crop pests, but also contribute to viral transmission. Leaf samples taken in potato plots at both regions were tested by ELISA for the detection of two major virus, Potato virus Y (PVY) and Potato Leaf Roll Virus (PLRV). The rate of virus-infected plants at both locations during the three years ranged from 19.3% to 21.8% for PVY and from 8.5% to 9.3% for PLRV. The occurrence of these viral diseases were very consistent from one year to another with relatively high levels. In conclusion, this study was a first survey in this region of Mali of the importance of aphid and associated virus in potato fields.

Keywords: Abundance, diversity, aphidifauna, potato, PVY, PLRV, Kati, Sikasso, Mali

Introduction

La pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) est l'une des premières ressources alimentaires au monde. Elle est cultivée aussi bien dans les régions tempérées que dans les régions tropicales ou équatoriales (Rolot, 2005). Cette culture est sujette à de nombreuses agressions, parmi lesquelles, les pucerons occupent une place importante. C'est un groupe d'insectes phytophages très importants, non seulement par le nombre d'espèces (4700 taxa de 600 genres), leur biologie mais aussi par la nature des dégâts qu'ils occasionnent (Remaudière et al., 1997). Environ 450 espèces aphidiennes ont été identifiées comme ravageurs de plantes cultivées (Blackman et Eastop, 2000). Parmi elles, une centaine s'est adaptée à divers agro-écosystèmes et présentent, de ce fait, une importance économique notable (Blackman et Eastop, 2007). Au moins 220 espèces ont été recensées en Afrique au sud du Sahara (Autrique et al., 1994). Le réchauffement climatique est régulièrement cité pour expliquer les changements de dispersion géographiques des pucerons. En moyenne, huit espèces apparaissent par degré Celsius supplémentaire dans une région ciblée (Harrington et al., 2007). Ces insectes sont vecteurs de nombreux virus. Au niveau mondial, six virus de la pomme de terre sont considérés comme majeurs et économiquement dommageables (Marchoux et al., 2008). En Afrique tropicale, notamment au Mali, nous disposons de peu d'informations quant au nombre de viroses transmises par les pucerons. Toutefois, les principaux groupes de vecteurs du monde sont présents sur ce continent, certainement avec des importances relatives différentes. Les pucerons sont partout les vecteurs majoritaires pour de nombreuses maladies virales transmises à une large proportion de plantes (Fauquet et Thouvenel, 1987).

Au Mali, la pomme de terre est principalement cultivée dans les zones spécifiques de Sikasso et Kati (Sidibé et al., 2008), surtout pendant la saison sèche-fraîche d'octobre à mars. A Kati, la pomme de terre est cultivée autour des points d'eau, en culture maraîchère, en association avec le chou, la tomate, le tabac, le poivron, l'oignon etc., alors qu'à Sikasso, elle est généralement cultivée en monoculture (après le riz) dans les bas-fonds dotés d'une nappe phréatique proche de la surface. Les producteurs de pomme de terre sont fortement dépendants des semences importées provenant d'Europe, principalement de la France, constituées de variétés comme Sahel, Claustar, Elodie, Pamina. Plusieurs espèces d'adventices pouvant servir d'hôtes aux pucerons ont également été observées dans et autour des champs. Quelques virus ont été signalés sur les cultures de pommes de terre au Mali. Ainsi, à Sikasso la présence du virus S (PVS), du virus X (PVX) et du virus Y (PVY) de la

pomme de terre ont été mentionnés (Coulibaly et *al.*, 2002). Les symptômes du virus de l'enroulement de la pomme de terre (PLRV) ont quelques fois été observés sans aucun diagnostic confirmatif. Parmi les différents facteurs limitant la production de la pomme de terre au Mali, notamment à Kati et à Sikasso, les virus semblent être des contraintes majeures. Bien qu'il n'y ait pas de rapport officiel sur la présence de virus dans les zones de production faisant l'objet de l'étude, la présence des principaux insectes ravageurs vecteurs de viroses sur la pomme de terre est rapportée. Mais aucune information n'est en revanche disponible quant à leur rôle dans la dissémination potentielle de viroses dans la zone malgré la large gamme d'espèces potentiellement vectrices (Hobbs et *al.*, 2000 ; Sikora et *al.*, 1998).

Des études sur la diversité et l'abondance des pucerons et virus associés constituent une étape importante dans le développement d'outils de diagnostic et de mesures de contrôle appropriées. L'objectif de cette étude est d'évaluer la diversité et l'abondance des pucerons dans les parcelles de pomme de terre à Kati et Sikasso au Mali, afin d'avoir une idée sur leur impact potentiel dans la dissémination des viroses et mettre à la disposition des acteurs de lutte contre les viroses de la pomme de terre, une base de données nécessaire dans la gestion des insectes vecteurs dans un contexte de changements climatiques.

Matériels et méthodes

Cette étude a été réalisée à Kati (12°44'48'' N et 8°4'17'') et à Bamadougou dans le cercle de Sikasso (10°55'0'' N et 7°0'0'' E), au Mali.

Matériel végétal

Neuf champs de production de pomme de terre de consommation ont été choisis dans chacune des deux zones de manière à inclure différentes conditions géographiques. Notre investigation a visé essentiellement les variétés les plus cultivées par les producteurs dans les deux zones. Ainsi, à Kati, ce sont les variétés Sahel, Claustar et Pamina qui ont été ciblées, alors qu'à Sikasso elles sont constituées par Elodie, Claustar, Spunta, Atlas et Safrane.

Collecte des pucerons

Deux méthodes ont été combinées pour la surveillance de l'aphidifaune : l'installation de pièges jaunes de Von Moericke (\emptyset : 27 cm, h: 10 cm) et des observations visuelles *in situ*. Ce type de piège est un des modèles les plus fréquemment utilisés en entomologie faunistique des milieux agricoles car ils sont efficaces et se prêtent à des échantillonnages de grande envergure (Mignon et *al.*, 2003). L'évaluation de la diversité et de l'abondance des espèces de

pucerons ont été effectuées en collectant les insectes capturés dans des bacs jaunes installés dans un réseau de quatre parcelles à Kati et de cinq à Sikasso. La superficie des parcelles variait entre un et trois hectares. Environ un mois après le semis, il a été posé au centre de la parcelle, une station de trois pièges jaunes installés en triangle de dix mètres de côté.

Les bacs sont remplis d'eau jusqu'au trait de jauge et suspendus à leur support à la hauteur du plant de pomme de terre. À cette eau est ajouté un détergent. L'eau est ajoutée régulièrement en périodes de fortes chaleurs et renouvelée lors des collectes. Les relevés et les observations ont été effectués hebdomadairement de novembre à mars durant trois saisons culturales successives, de 2009 à 2011. Les insectes prélevés sont triés sous binoculaire afin d'extraire les pucerons. Les pucerons recueillis sont conservés dans du norvanol à 70%, comptés, puis déterminés jusqu'au rang taxonomique de l'espèce.

Observations visuelles des pucerons et collectes des échantillons foliaires

L'estimation par comptage direct des pucerons est réalisée simultanément aux collectes, dans les carrés disposés sur la diagonale des parcelles. L'échantillonnage a consisté à examiner à chaque passage 30 plants de pomme de terre au hasard, soit 10 par carré d'observation au niveau de chaque poste de piégeage. Les feuilles de chaque plant sont observées et le nombre total de pucerons estimé pour chaque parcelle. Le déplacement entre plant à l'intérieur de chaque carré a été réalisé en zigzag (Figure 1). A l'intérieur de chaque carré d'observation, des feuilles sont également prélevées par groupe de dix en plus de celles montrant des symptômes potentiels de PVY ou de PLRV. Trois échantillons sont collectés dans chaque parcelle. Les échantillons foliaires de pomme de terre ainsi prélevés dans les parcelles sont mis à sécher au soleil, puis conservés dans des sacs en polyéthylène, avant leur acheminement au laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive de Gembloux Agro Bio Tech (EFE-GxABT) pour l'analyse par test ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) ciblant principalement le PVY et le PLRV. La diversité des pucerons a été évaluée jusqu'au rang taxonomique de l'espèce, après identification au laboratoire d'EFE-GxABT, Belgique. Pour cela, plusieurs clés de détermination systématique spécifique ont été utilisées.

L'identification des pucerons a été réalisée en se basant sur des caractères morphologiques tels que décrits par Remaudière et *al.* (1985), Leclant (1999), Jacky et Bouchery (1982), Autrique et Ntahimpera (1994), Taylor (1981), ainsi que des spécimens de référence conservés au laboratoire d'EFE-GxABT. La richesse spécifique et l'abondance relative de chaque espèce ont été calculées telles que définies par Barbault (1992).

Détection de virus

La présence de virus a été vérifiée par test ELISA (DSMZ, Braunschweig, Allemagne) selon les méthodes DAS (double antibody sandwich) pour le PVY et TAS (triple antibody sandwich) pour le PLRV comme décrit par Clark et Adams (1977) en suivant les instructions des fabricants. Le contrôle positif de la souche PVY^{NTN} conservée sur *Nicotiana tabacum* cv. *Xanthii* (tabac) ainsi que le témoin négatif (plants sains de tabac) proviennent du laboratoire de Phytopathologie de l'Université catholique de Louvain (UCL, Belgique) et celui du PLRV (souche DSMZ n° PV-0842) maintenu sur *Solanum tuberosum* var. *Erna*, fourni par DSMZ. Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel Minitab, par la méthode de l'analyse de la variance (ANOVA).

Test ELISA

Les échantillons foliaires sont broyés dans un tampon d'extraction en raison d'10 ml pour 1 g de feuilles à tester. Les anticorps (IgG) spécifiques au virus du PVY et du PLRV ont été fixés par adsorption passive dans les puits d'une plaque de microtitration pendant 3 à 4 heures à 37°C. Les plaques ont été lavées trois (3) fois avec du tampon de lavage (PBS Tween) dilué à 5%. 200 µl de BSA 2% sont ajoutés dans chaque puits de la plaque, puis incubés à 37°C pendant 30 mns. La solution de blocage est éliminée puis nettoyer après 3 lavages successives. 200µl de l'échantillon à tester sont ajoutés dans chaque puits à deux répétitions, puis incubé toute la nuit à 4°C. Après nettoyage des plaques 200 µl des conjugués (MAb) respectifs du PVY et PLRV ont été ajoutés dans chaque puits avant leur incubation à 37° C pendant 4 heures. Une étape supplémentaire est cependant nécessaire pour la détection du PLRV, par l'ajout de 200 µl d'un deuxième conjugué (RaM-ap), après avoir nettoyer les plaques. Les plaques sont par la suite incubées à 37° C pendant 2 heures. Après nettoyage, 200 µl du substrat (1 mgml⁻¹ de p-nitrophényl phosphate [Sigma, Fluka]), ont été ajoutés dans chaque puits et incubées pendant 1h à 37 ° C et la mesure est effectuée au spectrophotomètre à une absorbance de 405 nm. Les puits sont constitués de témoins positifs et négatifs, et un échantillon est considéré positif lorsque la valeur de sa densité optique dépasse deux fois la valeur moyenne des échantillons de plants sains de référence (Lepoivre, 2003). Six cent douze échantillons ont été ainsi testés pour l'ensemble des deux virus.

Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel Minitab, par la méthode de l'analyse de la variance (ANOVA).

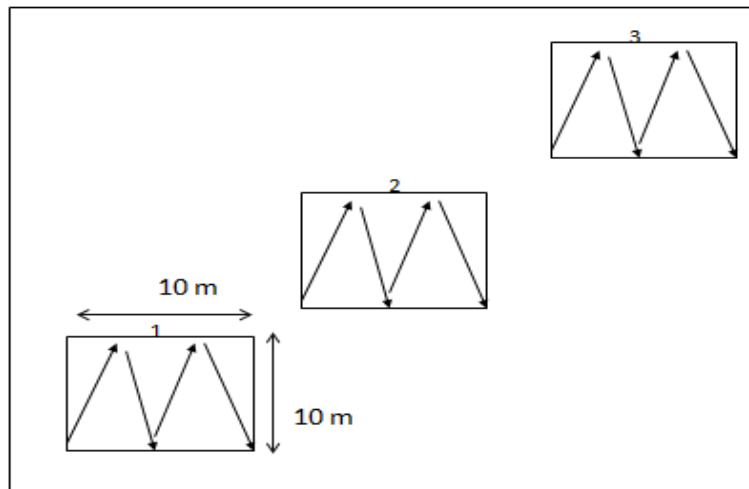


Figure 1: Dispositif d'échantillonnage des feuilles de pomme de terre dans les parcelles

Résultats

Richesse et abondance relative des espèces de pucerons

Durant l'étude, 2525 pucerons ont été collectés sur l'ensemble des deux sites à Kati et Sikasso pendant les campagnes 2009 à 2011. Près de deux tiers des captures (63,56%) ont été réalisés à Kati. L'abondance des espèces varie selon les saisons et la région. Bien que les abondances et la richesse spécifique des espèces de pucerons par rapport aux deux sites soient similaires (Tableau 1), le nombre d'espèces observées est faible : 19 espèces à Kati et 15 à Sikasso. Les espèces, les plus abondantes au cours des trois campagnes si l'on considère l'ensemble des sites sont respectivement : *Lypaphis erysimi* (46,3%), *Rhopalosiphum ruftabdominalis* (25 %), *Myzus persicae* (11,8 %) et *Aphis gossypii* (8,7 %).

Tableau 1. Proportions et richesses relatives des aphidiens observés dans les pièges en cultures de pomme de terre de 2009 à 2011 au Mali

Espèces de pucerons	Kati			Sikasso		
	2009	2010	2011	2009	2010	2011
<i>Aphis craccivora</i> Koch, 1854	2,1*	1,0	3,6	0,6	2,5	0,6
<i>Aphis fabae</i> Scopoli, 1763	2,9	-	2,2	-	0,4	2,0
<i>Aphis gossypii</i> (Glover, 1877)	19,5	3,7	22,5	14,5	3,8	12,2
<i>Brevicoryne brassicae</i> (Linnaeus, 1758)	1,7	-	-	-	-	-
<i>Cinara cupressi</i> (Buckton, 1881)	0,4	-	-	-	-	-
<i>Lypaphis erysimi</i> (Kaltenbach, 1843)	27,4	84,4	13,0	1,2	1,7	8,8
<i>Melanaphis sacchari</i> (Zehntner, 1897)	0,4	0,8	0,7	-	0,4	2,6
<i>Myzus persicae</i> (Sulzer, 1776)	21,2	2,7	39,1	22,5	0,4	23,4
<i>Pentalonia nigrinervosa</i> Coquerel, 1859	-	0,6	0,7	-	-	2,3
<i>Pseudaphis sijui</i> (Eastop, 1953)	-	0,1	-	-	-	-
<i>Rhopalosiphum insertum</i> (Walker, 1849)	1,7	-	-	0,6	-	-
<i>Rhopalosiphum maidis</i> (Fitch, 1856)	5,4	-	-	-	-	-
<i>Rhopalosiphum padi</i> (Linnaeus, 1758)	4,6	0,2	-	5,2	0,4	-
<i>Rhopalosiphum rufiabdominalis</i> (Sasaki, 1899)	9,1	5,7	13,0	54,2	88,7	42,4
<i>Sitobion graminis</i> (Takahashi, 1950)	0,8	0,3	2,9	-	-	2,3
<i>Sitobion nigrinectaria</i> (Theobald, 1915)	-	0,1	0,7	-	-	1,6
<i>Tetraneura nigriabdominalis</i> (Sasaki, 1899)	-	0,4	2,2	-	1,7	1,4
<i>Tetraneura sp</i>	0,8	-	-	0,6	-	-
<i>Toxoptera aurantii</i> (Boyer, 1841)	2,0	-	-	0,6	-	-
Nombre total d'individus	241	1226	138	173	238	509
Nombre d'espèces	15	12	11	9	9	11

Les proportions relatives sont exprimées en %

Observations visuelles des pucerons sur pomme de terre

Deux espèces de pucerons, *A. gossypii* et *M. persicae* ont été observées dans les parcelles de pomme de terre durant les trois années. Les abondances relatives par zone de production et par an sont présentées à la figure 2. Les plantes infestées sont généralement celles qui souffrent d'un stress hydrique. Si des variations importantes de dominance sont observées les deux premières années, une certaine similarité d'abondance relative est uniquement constatée sur les deux sites en 2011.

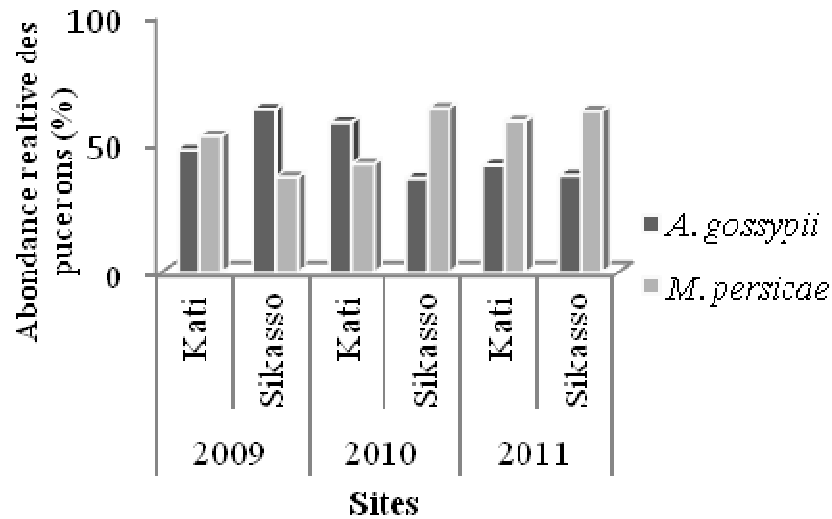
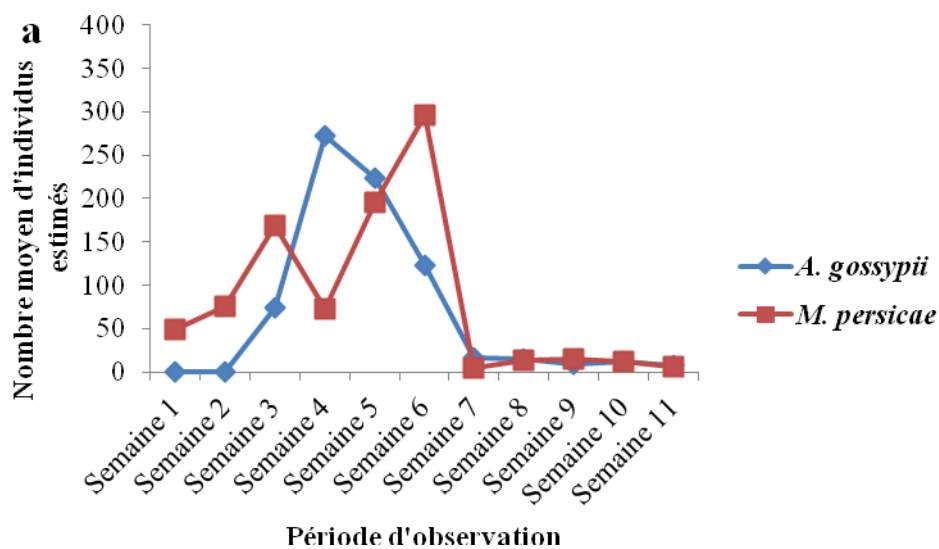


Figure 2. Abondances relatives de deux espèces de pucerons observés dans les parcelles de pomme de terre en fonction des sites (Kati et Sikasso) et des années au Mali.

L'observation de la dynamique de population des deux espèces, en considérant la moyenne de trois années d'observation montre une apparition plus précoce de *M. persicae* dès les premières semaines sur l'ensemble des deux sites par rapport à *A. gossypii*. La phénologie des deux espèces au niveau du site de Kati, reste cependant similaire, avec toute fois deux pics d'apparition pour l'espèce *M. persicae* (Figure 3a). On note vers la fin du cycle de la plante une diminution du niveau d'infestation des pucerons. Par contre à Sikasso, l'apparition de *M. persicae* et *A. gossypii* est faible au début, puis s'accroît considérablement en fin de végétation (Figure 3b).



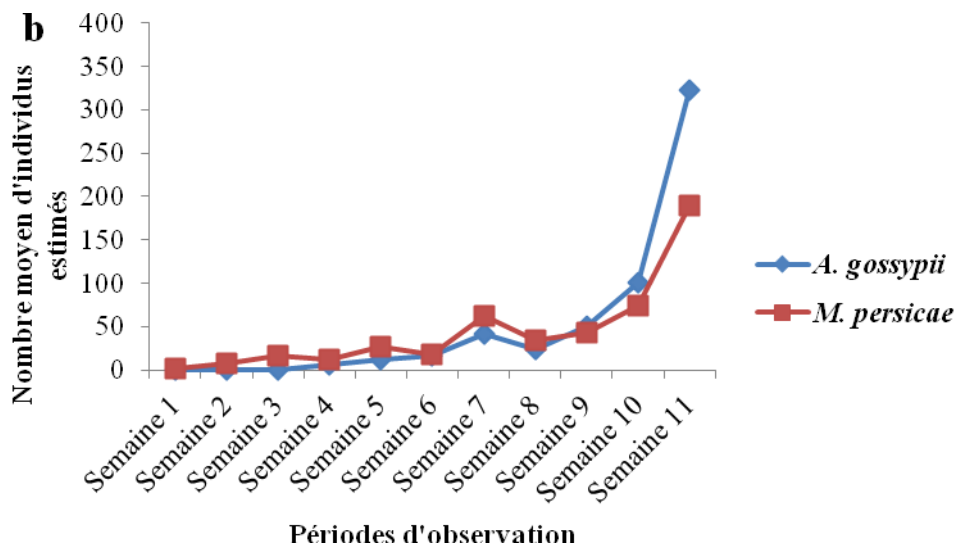


Figure 3. Phénologie de deux espèces de pucerons observées en cultures de pomme de terre de 2009 à 2011 à Kati (a) et Sikasso (b)

Détection des virus PVY et PLRV en pomme de terre

Au total de 612 échantillons foliaires de pomme de terre ont été testés, par ELISA. A Kati, 22,4% et 9,6% des échantillons se sont révélés positifs respectivement au PVY et au PLRV pendant la période considérée (Figure 4a). A Sikasso, des taux d'infection au PVY de 18,6% et au PLRV de 8,1% ont été déterminés (Figure 4b). Les taux d'infestations virales des plants de pomme de terre par les virus PVY et PLRV en fonction des sites de production au cours des trois ans de prospection sont présentés à la figure 4.

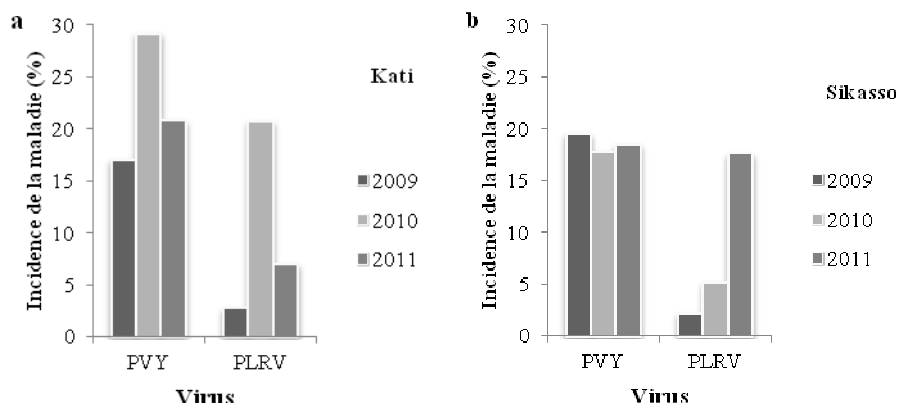


Figure 4: Incidence des virus PVY et PLRV sur la culture de pomme de terre de 2009 à 2011 à Kati(a) et Sikasso(b) au Mali

La présence des virus PVY et PLRV est détectée avec des taux importants sur l'ensemble des parcelles de pomme de terre dans les deux sites de production, à Kati et à Sikasso. L'incidence du PVY était relativement élevée de 2009 à 2011 au niveau des deux sites : entre 18,6% et 23,5%, par rapport au PLRV avec 2,1% à 12,8% selon les années. L'analyse statistique conclut qu'il n'y a pas de différence significative quant aux taux moyen d'infection virale en fonction des années (Tableau 2) et aussi entre les sites (Tableau 3), ni pour les virus PVY, ni pour le PLRV.

Tableau 2. Taux moyen d'infection (\pm écart-type) des échantillons de pomme de terre aux virus PVY et PLRV en fonction des années

Année	PVY	PLRV
2009	18,28 \pm 1,74 a	2,48 \pm 0,39 a
2010	23,47 \pm 8,07 a	12,96 \pm 11,01 a
2011	19,65 \pm 1,62 a	12,30 \pm 7,49 a
	F= 0,61	F = 1,16
	P= 0,60	P = 0,42

Au sein d'une même colonne, les moyennes ayant suivies

d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

Tableau 3. Taux moyen d'infection (\pm écart-type) des échantillons de pomme de terre aux virus PVY et PLRV en fonction des sites

Sites	PVY	PLRV
Kati	22,34 \pm 6,21 a	10,17 \pm 9,40 a
Sikasso	18,59 \pm 0,88 a	8,32 \pm 8,16 a
	F= 1,07	F = 0,07
	P= 0,36	P = 0,81

Au sein d'une même colonne, les moyennes ayant suivies

d'une même lettre ne sont pas significativement différentes.

Discussion

Seulement 6 espèces de pucerons y ont été recensées au Mali à ce jour (Remaudière et *al.*, 1985). A partir des résultats de piégeage des pucerons ailés à l'aide de bacs jaunes installés dans des cultures de pomme au Mali, 19 espèces de pucerons ont été recensées. Cette aphidifaune caractérisée par un nombre important (42,1%) d'espèces cosmopolites et par 10,5% d'espèces endémiques, a une forte affinité avec la faune subsaharienne. La plupart de ces espèces sont des ravageurs de cultures, dont l'espèce *Myzus persicae*, vecteur efficace notamment des viroses de la pomme de terre (Kennedy et *al.*, 1962 ; Sigvald, 1984 ; Ragsdale et *al.*, 2001 ; Robert et Bourdin, 2001) et vecteur d'une centaine de virus à de nombreuses de cultures (Raman, 1987).

Au niveau des deux régions majeures de production de pomme de terre, l'espèce *L. erysimi* a été plus abondante à Kati (69,7%) contre seulement 5,5% à Sikasso. A l'inverse, *R. rufiabdominalis* domine dans les parcelles de Sikasso (56,6%) comparativement à celles de Kati (6,9%). Ensuite viennent les espèces *M. persicae* (8,6 et 17,3%), *A. gossypii* (7,7 et 10,4%) respectivement à Kati et Sikasso. Cette diversité d'espèces aphidiennes observée lors de nos investigations au Mali reste cependant faible si on se réfère à la diversité des pucerons au niveau mondial. En effet, sur plus 4700 espèces de pucerons répertoriées sur le globe, 900 le sont en Europe (Hullé et *al.*, 1999) dont environ 365 espèces de pucerons ont été identifiées en Belgique (Nieto et *al.*, 1999). En Afrique, 47 espèces aphidiennes ont été retrouvées sur 85 espèces végétales dans l'est algérien (Lamaari et *al.*, 2010). Parmi, les espèces de pucerons dont la pomme de terre fait partie du spectre d'hôtes, deux ont été observées au Mali: *M. persicae* et *A. gossypii*. Elles constituent des ravageurs importants de cette culture (Hullé et *al.*, 1999). Ces espèces sont également des vecteurs importants de viroses chez des plantes hôtes comme le gombo, le haricot, les cucurbitacées et les solanacées (Bordat et *al.*, 2004). La diversité des espèces de pucerons est un facteur important dans la dissémination des viroses que ces insectes sont susceptibles de transmettre, surtout pour les virus transmis de manière non-persistante, comme c'est le cas pour le PVY en pomme de terre. Le nombre relativement élevé de pucerons capturés dans les pièges jaunes confirme que ces ravageurs sont problématiques dans les cultures de pommes de terre. Or, l'importance et la précocité de colonisation d'une culture par les ravageurs détermine en grande partie l'ampleur des dégâts causés à la culture. Identifier les facteurs réduisant la fréquence et l'intensité des pullulations des pucerons en améliorant l'efficacité de leur contrôle naturel apparaît important pour mieux adapter les stratégies de protection des cultures. Il faut noter cependant, que des températures

trop élevées peuvent conduire à une macération de certains pucerons en raison de la finesse de leur cuticule. Cependant dans notre cas, les températures douces en cette période de l'année (novembre- mars), ont limité les pertes de matériel.

Le test ELISA a conduit à la détection de 49 réactions positives au PVY et 21 pour le PLRV, soit respectivement 22,4% et 9,6% de taux d'infection aux deux virus sur le total des échantillons testés, pendant la période considérée. A Sikasso, le test ELISA a révélé 18,6% de taux d'infection au PVY et 8,1% pour le PLRV sur les 393 échantillons testés. Parmi les 612 échantillons testés, on note 28,4% de taux d'infection aux virus PVY et PLRV. Des taux plus élevés d'infection aux deux virus ont été enregistrés à travers le monde. Ainsi, jusqu'à 43,8% de la prévalence du PVY et du PLRV ont été constatés sur des échantillons foliaires et de tubercules de pomme de terre dans l'ouest du Cameroun (Njukeng et *al.*, 2007). Une forte présence du PVY a été également rapportée en pomme de terre au Kenya (Ngugi, 1983) et en Ethiopie (Yusuf, 1988). En Belgique, le suivi de l'évolution des infections virales dans les parcelles de pomme de terre a permis de noter des fréquences élevées des virus PVY et du PLRV : jusqu'à 79% et 34% respectivement (Rolot, 2005).

La proximité des parcelles de pomme de terre avec d'autres de la famille des Solanaceae principalement maraichères (piment et tomate) et industrielles comme le tabac pourrait expliquer le taux sensiblement élevé des deux virus à Kati par rapport à celles de Sikasso. En effet ces cultures constituent des réservoirs importants pour les virus notamment le PVY et leurs vecteurs, les pucerons. Le pourcentage des plantes virosées au départ de la culture de pomme de terre constitue un élément important d'appréciation de l'incidence de la maladie. Cependant, vu l'utilisation par les producteurs de semences certifiées provenant principalement d'Europe (Germicopa), cette partie n'a pas fait l'objet d'étude. Aussi un autre facteur important pouvant contribuer à la dissémination des virus de la pomme de terre au Mali est la pratique quasi systématique du sectionnement des plants à la plantation. Les raisons invoquées par les agriculteurs sont d'ordre économique : coût élevé de la semence qui incite le producteur à optimiser le rapport prix de la semences/surface plantée. Le manque de mesures préventives pour minimiser les risques potentiels d'infection lors de cette opération est cependant à déplorer.

A notre connaissance, ceci est le premier travail réalisé sur la diversité et l'abondance des pucerons ainsi que sur la surveillance des virus associés en culture de pomme de terre dans les deux régions étudiées au Mali. Cependant, d'autres études sur l'incidence et la

distribution des virus de la pomme de terre ont rapporté des infections de PVY (15,9%) seul ou en infection mixte sur des Solanacées dans le Nord du Benin (Afouda et *al.*, 2013) ou du PVY et du PLRV dans le plateau de l'état du Nigeria avec plus de 30% de taux d'incidence de la maladie (Miha et *al.*, 1993). Le puceron vert du pêcher (*M. persicae*) demeure le vecteur le plus efficace de la majorité des virus transmis de façon non-persistante, comme le PVY (Van Harten, 1983 ; Verbeek, 2010). Les processus de transmission persistante et non-persistante sont à la base de la différence de spécificité de la relation virus-vecteur. En effet, durant la piqûre d'essai dans une plante infectée de virus, les virus non-persistants viennent se fixer aux récepteurs spécifiques présents dans les pièces buccales du vecteur et seront relâchés via les sécrétions salivaires lors d'un test ultérieur dans une autre plante que l'insecte désirera sonder (Gray, 1996; Hogenhout et *al.*, 2008). Les pucerons ailés en phase de dissémination ou de colonisation de nouvelles plantes, sont particulièrement efficaces pour propager ce type de virus (Gray et *al.*, 1999). Contrairement au PVY, le PLRV, est transmis selon le mode persistant et reste confiné dans les cellules du phloème. Une fois acquis par les pucerons, les particules virales passent de la lumière intestinale dans l'hémocèle et diffusent dans l'hémolymphe, ou elles peuvent rejoindre le canal salivaire, avant d'être inoculées à une nouvelle plante (Marchoux et *al.*, 2008). Cette transmission persistante se déroule quand le puceron se nourrit réellement sur la plante.

Bien que cette étude ait été menée pendant la saison sèche-fraîche, nous avons noté une relative abondance et une grande diversité des pucerons vecteurs. Les pratiques culturales, les changements climatiques et l'activité des pucerons vecteurs et de leurs plantes hôtes peuvent conduire à une large propagation des virus (Hanssen et *al.*, 2010). La diversité des espèces de pucerons est donc un facteur important dans la dispersion de maladies virales que ces insectes sont capables de transmettre, en particulier pour les virus transmis de manière non-persistante, comme le virus Y de la pomme de terre. La détection de ces deux virus (PVY et PLRV) dans les champs de pomme de terre au Mali, nécessite la prise de mesure de contrôle adéquate pour diminuer leur dispersion.

En conclusion, la mise en œuvre de surveillance de l'aphidifaune dans des cultures comme la pomme de terre est un élément essentiel afin d'identifier la diversité de vecteurs potentiels de viroses associées. En effet, suite à la collecte de ces données sur la diversité, l'abondance et la phénologie des espèces vectrices potentielles, des estimations des risques et des périodes de contrôle devraient permettre d'établir des modèles épidémiologiques et aussi

établir des stratégies de lutte comme de l'intercropping pour que les pucerons déchargent le PVY non-persistant.

Références

- Afouda L.A.C, Regina Kotchofa R., Sare R., Zinsou V. et S. Winter. 2013. Occurrence and distribution of viruses infecting tomato and pepper in Alibori in northern Benin. *Phytoparasitica*.
- Autrique A. et L. Ntahimpera. 1994. Atlas des principales espèces de pucerons rencontrées en Afrique Sub-saharienne. Administration Générale de la Coopération au Développement, AGCD, Publication Agricole N° 33, 78p.
- Barbault R. 1992. Ecologie des peuplements (Structure, dynamique et évolution). Masson Eds, 272 p.
- Blackman R.L. et V.F. Eastop. 2000. *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide*. 2 éd. Wiley, Chichester, 476 p.
- Blackman R.L. et V.F. Eastop. 2007. Taxonomic Issues. In van Emden H. F. & Harrington R. (éd.), *Aphids as Crop Pests*, p. 1-3. CAB International, Cambridge, Massachusetts.
- Bordat D. et L. Arvanitakis. 2004. Arthropodes des cultures légumières d'Afrique de l'Ouest, centrale, Mayotte et Réunion. CIRAD.
- Clark M. F. et A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General virology*, 34 : 475-483.
- Coulibaly M., Dembélé D. et B. Vanderhofstadt. 2002. Unité de production de plants de pomme de terre au Mali. Soc Internacional, Amatevi et IER.
- EDES, 2012. Méthodes d'observation et d'échantillonnage au champ des populations de ravageurs. In Surveillance et contrôle des bio-agresseurs dans les cultures. Cahier Technique 2.5, 29.
- Fauquet C. et J.C. Thouvenel. 1987. Plant viral diseases in the ivory coast. ORSTOM, Paris, Documentation Techniques, 46 : 243p.
- Hanssen I. M., Lapidot M. et B.P.H.J. Thomma. 2010. Emerging viral diseases of tomato crops. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 23 : 539-548.

- Harrington R., Clark S. J., Welham S. J., Verrier P. J., Denholm C.H., Hulle M., Maurice D., Rounsevell M.D. et N. Cocu. 2007. Environmental change and phenology of European aphids. *Global change biology*, 13 : 1550-1564.
- Hobbs H. A., Eastburn D. M., D'Arcy C. J., Kindhart J. D., Masiunas J. B. et D.J. Voegtlin. 2000. Solanaceous weeds as possible sources of Cucumber mosaic virus in southern Illinois for aphid transmission to pepper. *Plant Disease*, 84 : 1221–1224.
- Hullé M., Ighil E.T.A., Robert Y. et Y. Monnet. 1999. *Les pucerons des plantes maraichères. Cycles biologiques et activités de vol*. Inra, Paris, 136 p.
- Jacky F. et Y. Bouchery. 1982. Atlas des formes ailées des espèces courantes de pucerons. Institut National de la Recherche Agronomique, Colmar, 48p.
- Kennedy J., Day M. et V. Eastop. 1962. *A conspectus of Aphids as vectors of Plant Viruses*. Cab International.
- Laamari Malik, Tahar Chaouche Souad, Benferhat Soraya, Abbès Sara Bekais, Merouani Halima, Ghodbane Sihem, Khenissa Naima et Stary Petr. 2011. Interactions tritrophiques: plante-puceron-hyménoptère parasitoïde observées en milieux naturels et cultivés de l'Est algérien. *Entomologie faunistique*, 63, 3 : 115-120.
- Leclant, F. 1999. Les pucerons des plantes cultivées. Clefs d'identification, Cultures maraichères II. Editions INRA, ACTA, 136 p.
- Lepoivre P. 2003. Phytopathologie. Bruxelles, Belgique : De Boeck
- Marchoux G., Gognalons P. et K.G. Sélassié. 2008. *Virus des Solanacées. Du génome viral à la protection des cultures*. Paris, France: Quae.
- Mignon J., Colignon P., Haubruge E. et F. Francis. 2003. Effet des bordures de champs sur les populations de chrysopes [Neuroptera: Chrysopidae] en cultures maraichères. *Phytoprotection*, 84 : 121-128.
- Miha A.M., Rossel H.W. et G.I. Atiri. 1993. Incidence and distribution of potato viruses in Plateau state, Nigeria. *African Crop Science Journal*, 1, 2 : 131-138.
- Ngugi D.N. 1983. Potato production in Kenya : potentials and limitations. In *Research for potato by the year 2000*. CIP., Lima, Peru, pp 140-142.
- Njukeng A. P., Chewachong M. G., Chofong G., Demo P., Sakwe P. et K.D. Njualem. 2007. Determination of Virus free Potato Planting Materials by Positive Selection and Screening of Tubers from Seed Stores in the Western Highlands of Cameroon. *African Crop Sciences Conference Proceedings*, 8 : 809-815.

- Ragsdale D., Radcliffe E. et C. Difonzo. 2001. In : Loebenstein G., Berger PH., Brunt A.A., Lawson RH., eds. *Virus and virus-like Diseases of potatoes and production of seed-potatoes*, chap. Epidemiology and field control of PVY and PLRV, pp. 237-270.
- Raman K.V. 1987. Transmission des virus de la pomme de terre par les insectes. In : Centre International de la pomme de terre, ed. *La pomme de terre : bulletins d'information technique, 1 à 19*. Lima, Pérou : Centre international de la pomme de terre.
- Remaudière G. et M. Remaudière. 1997. Catalogue des aphididae du monde. Editions QUAE.
- Remaudière G., Eastop V.F. et A. Autrique. 1985. Distribution des aphides de la région éthiopienne. In Remaudière G & Autrique A., (eds.). *Contribution à l'écologie des aphides africains*. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, Rome, 77-93.
- Robert Y. et D. Bourdin. 2001. *Virus and Virus-like Diseases of potatoes and production of seed-potatoes*, chap. Aphid transmission of potato viruses, pp. 195-225. Kluwer Academic Publishers.
- Rolot J-L. 2005. Analyse des facteurs régulant la dissémination du virus de la pomme de terre (PVY) en vue de stratégies de lutte raisonnées. Thèse de doctorat, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, Gembloux, Belgique.
- Sidibé A., Berthé A., Traoré B.M., Dembélé A.M. et O. Niangaly. 2008. Production de semences de pomme de terre dans la zone de l'Office du Niger au Mali. Atelier international APPRI 2008. Apprentissage, Production et Partage d'Innovations, Ouagadougou, 20-24 octobre.
- Sigvald R. 1984. The relative efficiency of some aphid species as vectors of potato virus (PVY⁰). *Potato Research*, 27 : 285-290.
- Sikora E. J., Gudauskas R. T., Murphy J. F., Porch D. W., Andrianifahanana M. et G.W. Zehnder. 1998. A multivirus epidemic of tomatoes in Alabama. *Plant Disease*, 82 : 117- 120.
- Taylor L.R. 1981. Aphid forecasting and pathogens and a handbook for aphid identification. Euroaphid, 1980.
- Van Harten A. 1983. The relation between aphid flights and spread of potato virus Y N in the Netherlands. *Potato Res.*, 26 : 1-15.

- Verbeek M., Piron P.G.M., Dullemans A.M., Cuperus C. et R.A.A. Van der Vlugt. 2010.
Determination of aphid transmission efficiencies for N, NTN and Wilga strains of potato virus Y. *Ann. Appl. Biol.*, 156 : 39-49.
- Yusuf A. 1988. Survey on potato and tomato viruses diseases in major growing areas (Ambo, Bako and Guder). In : S.P.L. Progress report 1987/88. Ethiopia, pp. 322-323.

**CHAPITRE VI : SYSTEMATIC SURVEY OF APHIDS AND ASSOCIATED VIRUS IN
POTATO FIELDS: A FOUR YEAR OVERVIEW IN SOUTH PART OF BELGIUM**

Systematic survey of aphids and associated virus in potato fields: a four year overview in south part of Belgium

(article soumis dans Journal of Plant Pathology)

Almouner A. Yattara ^(1,3), Emilie Bosquée⁽¹⁾, François Crutzen ⁽²⁾, Claude Bragard⁽²⁾, Amadou K. Coulibaly ⁽³⁾, Frédéric Francis ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Unité d'entomologie fonctionnelle et évolutive, Gembloux Agro-Bio Tech, Passage des Déportés, 2, B-5030, Université de Liège, Gembloux, (Belgique).

*E-mail: entomologie.gembloux@ulg.ac.be, Tel : + 32 81622414

⁽²⁾ Earth and Life Institute (ELI), Applied Microbiology – Phytopathology, Université Catholique de Louvain, Louvain-La-Neuve, Belgium.

⁽³⁾Laboratoire de Biologie des Arthropodes et de Lutte Intégrée, IPR/IFRA de Katibougou, (Mali)

Abstract :

In order to characterize the populations of viruses and aphids occurring in potato crops in the South part of Belgium (Wallonia), fields for potato seed or consumption production were followed from 2009 to 2012. Aphids were visually observed and caught using yellow pan traps. From 2009 to 2011, a thousand samples of potato leaves collected in eighty-seven plots from twenty-seven fields were analyzed for the presence and identification of PVY type by RT-PCR. More than 40 aphid species were identified. PVY was detected in 22, 2% and 26, 7% of the plots for seed potatoes in 2009 and 2010, respectively, while 60, 0% of the plots for seed potatoes were infected with PVY in 2011. Higher infection rates to 60, 0% (2010) and 66, 6% (2011) were recorded for PVY in the plots with potatoes. Relations between aphid diversity - abundance and virus occurrence in potato fields were discussed in order to improve virus control strategies.

Key words: Aphidifauna, diversity, potato viruses, potato virus Y (PVY), multiplex reverse transcription (RT), and polymerase chain reaction (PCR)

Introduction

The potato (*Solanum tuberosum* L.) is an important crop in Belgium agriculture. In 2011, the country was the twentieth largest producer of potatoes in the world (FAOSTAT, 2011) and seventh at the European level (Eurostat, 2010). A potato crop is facing too many pests among, which aphids are one of the most important (Harmel, 2008). They constitute a very widespread group of insects, approximately 4700 aphid species were identified worldwide (Remaudière & Remaudière, 1997) of which 450 were checked on cultivated plant (Blackman & Eastop, 2000). Among them, a hundred has adapted to agro ecosystems, and then presents an economic significance (Blackman & Eastop, 2007). Information on aphid diversity and abundance in Belgium in literature indicated that 365 aphid species were recorded (Nieto et al., 1999).

Aphids are the main virus vectors in potato crops throughout the world, notably in Europe (Basky, 2002). They are an important group of phloem-feeding insects that cause damage to crops (Dixon, 1998) and transmit plant viruses (Matthews, 1991). More than 35 viruses naturally infect potato in the world of which six are considered as major (Slack et al., 2001; Marchoux et al., 2008): *Potato virus Y* (PVY), *Potato leaf roll virus* (PLRV), *Potato virus S* (PVS), *Potato virus M* (PVM), *Potato virus A* (PVA) and *Potato virus X* (PVX). However, in Belgium, only four (PVY, PLRV, PVS and PVX) of these six species are really important (Rolot, 2005). Among them, PVY followed by PLRV are the most widespread viruses in potato (Siegvald, 1987; van den Heuvel et al., 1993). Potato in Belgium is severely affected by viral diseases caused by aphid-transmitted viruses. Most mosaic viruses can be transmitted in a non-persistent manner by a large number of aphid species, green peach aphid (*M. persicae*) being the most efficient vector. This polyphagous aphid is a major pest of many crops in Belgium (Francis et al., 1998).

Its economic importance lies in its ability to transmit more than 100 viral diseases in its various host plants, including many crops (Quaglia et al., 1993). PVY is one of the most important pathogens affecting potato and several species of cultivated Solanaceae including tomato (*Lycopersicon esculentum*), pepper (*Capsicum spp.*) and tobacco (*Nicotiana tabacum*). It is distinguished from other mosaic viruses from the many strains: ordinary strain of PVY (PVY^O), chlorosis strain of PVY (PVY^C) and necrotic strain of PVY (PVY^N) and genetic recombinants: net tuber necrosis of PVY (PVY^{NTN}), PVY^{N-O} and wilga strain (PVY^W) detected in the world (De Bokx & Huttinga, 1981; German, 2001; Crosslin et al., 2002; Piche et al., 2004; Kerlan, 2006). Cases of infection with strain PVY^{NTN} are dominant in Europe,

while their prevalence in North America has increased from less than 5% to nearly 20% in less than five years (Crosslin et al., 2006). The ordinary strain of PVY^O is the most widespread in the world and cause moderate or severe mosaic. The other damaging virus to potato PLRV (Luteoviridae) is transmitted in a persistent manner.

This research contributes to the study on Wallonia (Belgium) aphidifauna and was carried out to determine the species richness and diversity of aphids and their potential of virus spreading in several potato fields.

Materials and methods

In South part of Belgium (Wallonia), fields for seed or consumption potatoes were followed from 2009 to 2011. In 2009, the study focused on nine fields of five different localities (Gembloux, Rebecq, Marlève Sainte Marie, Senonchamps and Verlaine) producing only potato seeds. The distance between the locations ranged from 60 to 122 km and the same place fields are separated by at least 5 km. Ten fields were then monitored each year in 2010 and 2011, half of them producing potato seeds and the second half of producing consumption potatoes. Three plots of one hundred square meters (10x10m) were determined and analyzed in each field.

Aphids were collected with yellow water pan traps, Ø: 27 cm, h: 10 cm (Möericke, 1955), three traps being installed per field in one of the delimited plots from 2009 to 2012. This type of trap is one of the most frequently used in entomology fauna farmland because they are effective and suitable for large-scale sampling (Mignon et al., 2003). The height of the pan traps was adjusted to the level of the plant canopy. Traps were filled with water with small soap. This solution was regularly refilled. Aphids were collected weekly, counted and stored in 70% norvanol until identification to the species taxonomic level. All species were identified with the keys of Taylor (1981), Jacky and Bouchery (1982), Basky (1993), Autrique & Ntahimpera (1994), Leclant (1999) and Blackman and Eastop (2000) and an aphid reference specimen collection was performed.

In each plot, ten plants were selected randomly following a zigzag scheme and samples of leaves were systematically collected from middle of June to the beginning of August. The samples of leaves were conditioned in polyethylene bags and stored at -20°C until extraction of total RNA using the FastRNA[®] Pro Green kit (MP Biomedicals) or the RNeasy Plant Mini kit (QIAGEN), following the manufacturers' instructions. The occurrence and type of PVY were then analyzed by reverse transcription (RT) and polymerase chain reactions (PCR). The primer Y3end (2) (Schubert *et al.*, 2007) was used systematically for the RT step. The

resulting cDNA was subsequently used for both the detection and typing of PVY strains by PCR. The presence of PVY in the collected samples was determined by PCR using the primers PVYF/PVYR (Du *et al.*, 2006). The same cDNA served to identify the virus type in virus-infected samples by another PCR, using the primers PVY-primers3/4 (Weilguny and Singh, 1998), YN5-1780 and YN3-2438, YO5-1005 and YO3-2558 (Schubert *et al.*, 2007), PVYc3 and PVYf, CP2+ and CP2- (Rigotti and Gugerli, 2007). All primers used in this study are listed in Table 1.

Table 1. Primers used in this study

Primer	Nucleotide sequence	PVY strain	Amplicon	T°	Elongation time	Source
PVYF PVYR	ATACTCGRGCAACTCAATCACA CCATCCATCATAACCCAAACTC	All	166	58-64	30 sec - 1 min	Du et al. 2006
PVY-primer3 PVY-primer4	GCGTGCGATATGTTTTTGC CAGATTGGTTCCATTGAATGC	N, NTN, Wilga	394	59	30 sec	Weilguny & Singh, 1998
YN5-1780 YN3-2438	TGGTTCATCCAGTAGCAATTGCT TCCGAATGGGACAAGAAAATTG	N	802	61	45 sec	Schubert et al., 2007
YO5-1005 YO3-2558	AGGCTCATCTAACAGCAACTGTC AAATTGTACGATGCACGTTCTAGA	O	1578	62	1 min 45 sec	
Y3end(2)	T ₍₁₆₎ GTCTCCTGATTG	All	-	-	-	
PVYc3 PVYf	CAACGCAAAAACACTCAYAAAAMGC TAAGTGRACAGACCCTCTYTTCTC	O	653	64	45 sec	Rigotti & Gugerli, 2007
CP2+ CP2-	CCAGTCAAACCCGAACAAAGG GGCATAGCGTGCTAAACCCA	O, Wilga	532	58	30 sec	

R=A or G; Y=C or T; M=A or C

The Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase (M-MLV RT, Promega, Madison, USA) was used for the cDNA synthesis following the manufacturer's protocol. The RT step was systematically carried out with the unique primer Y3end (2) (Schubert *et al.*, 2007). 2,5 µl of the resulting cDNA was subsequently mixed with 0,5 µl of each forward and reverse primer (20µM), 5 µl 5x Green GoTaq® Flexi Buffer, 2,5 µl MgCl₂ (25 mM), 0,75 µl dNTPs (10 mM each), 0,125 µl GoTaq® DNA Polymerase (5U/µl) and water up to a final volume of 25 µl. The PCR parameters for the detection of PVY were adapted from Du and co-authors (2006) (Table 2). For the identification of PVY strains, the annealing temperatures and elongation times were specifically adapted to each primer pair (Table 2). The RT-PCR products were separated according to their size on TBE (Tris-Borate-EDTA) gels with 1, 2% agarose, and visualized under UVs exposition.

Results

Abundance and diversity of aphid species

A total of 13,577 aphids from Wallonia were captured from potato during the experiment period between May 2009 and August, 2012. Out of the total collected aphids 51, 5% in 2011 and 22, 3; 19, 2 and 7% respectively in 2012, 2010 and 2009. Aphid numbers increased from the first to the third year, then decreased the last season. Although the abundance of aphids changed from one season to another, the richness of aphid species was similar (figure 1), the number of species observed was 43 (Table 2). Over 40 aphid species were identified from the collected samples. In this study *Metopolophium dirhodum* (Walker) (28%), *Aphis fabae* (Scopoli) (18%), *Cavariella aegopodii* (Scopoli) (14%) and *Myzus persicae* (Shulzer) (14%) were the most abundantly aphid species encountered.

Table 2. Richness and relative abundance of aphid species collected on four years in Wallonia, Belgium (from May 2009 to August 2012)

Espèces	2009	2010	2011	2012
	F (%)	F (%)	F (%)	F (%)
<i>Acyrtosiphum pisum</i> (Harris,1776)	5,7	9,3	4,7	5,5
<i>Amphorophora gei</i>	0,5	0,2	-	-
<i>Amphorophora rubi</i> (Kaltenbach, 1843)	0,8	0,1	0,4	0,5
<i>Anoecia corni</i>	-	-	0,2	0,1
<i>Aphis fabae</i> Scopoli, 1763	9,9	20,5	22,2	9,9
<i>Aphis gossypii</i> Glover, 1877	-	-	0,1	0,6
<i>Aphis idaei</i> Van der Goot, 1912	-	-	0,1	0,1
<i>Aulacorthum solani</i> Kaltenbach, 1843	0,4	0,2	0,2	1,3
<i>Brachycaudus helichrysi</i> (Kaltenbach, 1843)	1,7	4,8	3,1	1,3
<i>Brevicoryne brassicae</i> (Linnaeus, 1758)	1,8	7,9	0,8	0,3
<i>Capitophorus horni</i> Börner, 1931	0,2	0,1	0,4	0,3
<i>Capitophorus similis</i> Börner, 1931	0,1	-	-	-
<i>Cavariella aegopodii</i> (Scopoli, 1763)	4,4	0,9	0,8	58,4
<i>Cavariella pastinacae</i> (Linnaeus, 1758)	0,2	0,1	-	0,1
<i>Cavariella theobaldi</i> (Gillette et Bragg, 1918)	0,1	-	-	0,8
<i>Chaitophorus sp.</i>	-	0,5	0,4	0,2
<i>Capitophorus sp.</i>	-	0,1	-	-
<i>Dysaphis plantaginae</i> (Passerini, 1860)	-	0,2	-	-
<i>Eriosoma ulmi</i> (Linnaeus, 1758)	0,2	0,2	-	-
<i>Hyalopterus pruni</i> (Geoffroy, 1762)	-	0,3	0,1	0,1
<i>Hyperomyzus lactucae</i> (Linnaeus, 1758)	0,6	0,9	0,1	0,2
<i>Hyperomyzus picridis</i>	-	-	0,1	0,1
<i>Lypaphis erysimi</i> (Kaltenbach, 1843)	-	0,1	0,1	0,1
<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Thomas, 1878)	8,4	7,6	0,4	0,6
<i>Macrosiphum rosae</i> ((Linnaeus, 1758)	1,9	0,3	-	0,1
<i>Megoura viciae</i> Buckton, 1876	1,6	-	0,1	0,1
<i>Metopolophium dirhodum</i> (Walker, 1849)	29,2	19	39,6	8,9
<i>Metopolophium festucae</i> (Theobald, 1917)	0,3	-	-	-
<i>Microlophium carnosum</i>	0,4	-	-	0,1
<i>Myzus ascalonicus</i> Doncaster	0,7	0,1	0,1	0,2
<i>Myzus cerasi</i> (Fabricius, 1775)	0,1	0,1	-	-
<i>Myzus ornatus</i> Laing, 1932	0,1	-	-	0,1
<i>Myzus persicae</i> (Shulzer, 1776	1,7	20,4	17,2	5,5
<i>Nasononia ribisnigri</i> (Mosley, 1841)	1,7	0,2	0,1	0,3
<i>Pemphigus sp.</i>	0,3	0,1	0,1	0,1
<i>Periphyllus sp.</i>	0,1	0,2	-	0,5
<i>Phyllaphis fagi</i> (Linnaeus, 1767)	-	0,1	0,1	-
<i>Rhopalosiphoninus latysiphon</i> (Davidson, 1912)	0,2	0,1	0,1	0,1
<i>Rhopalosiphum insertum</i> (Walker, 1849)	0,7	-	-	-
<i>Rhopalosiphum padi</i> (Linnaeus, 1899)	6,8	0,9	3,2	0,6
<i>Sitobion avenae</i> (Fabricius, 1775)	15,9	4,4	3,9	2,7
<i>Sitobion fragariae</i> (Walker, 1848)	2,9	0,4	0,1	0,2
<i>Tetraneura sp.</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
Total	945	2611	6988	3033
Aphid species	33	32	29	34

F: Relative proportion of aphid species in relation to total number of individuals

Several aphid species are known to colonize potato plants, such as *M. persicae*, *Aulacorthum solani* (Kaltenbach), *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), *Myzus ascalonicus* (Doncaster),

Rhopalosiphoninus latysiphon (Davidson) and *Aphis gossypii* (Glover). Aphids were found flying to potato fields from first to second week of observations.

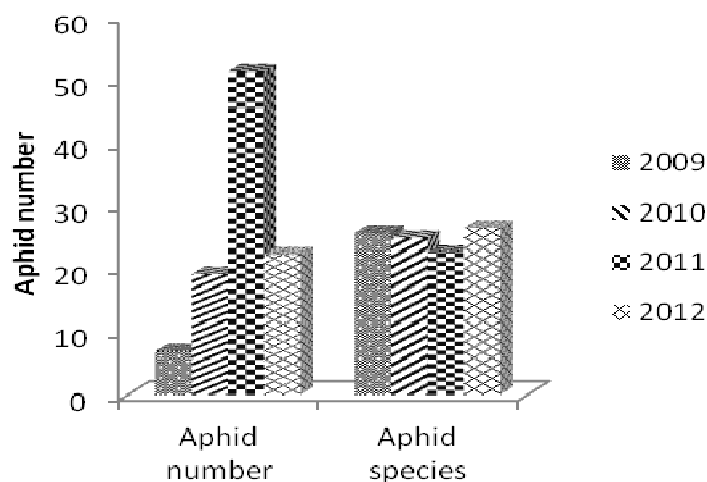


Figure 1. Richness and relative abundance of aphids from 2009 to 2012 in Wallonia

Population dynamics of aphids (Figure 2)

Low occurrence of aphids was recorded the first two years. The flight dynamics of aphids is somewhat similar in all regions of Wallonia.

The appearance of flights is recognized already May and the intensity gradually increases to a peak occurring in mid-June and late June. The year 2011 recorded the highest occurrence. Potato culture is subject to flight activity of aphids vectors lifted desiccation. Increased aphid flights at slightly different times on each year. The highest aphid flight activity was observed between 29 May and 19 June 2011 when aphids reach their peak at the end of May in 2012.

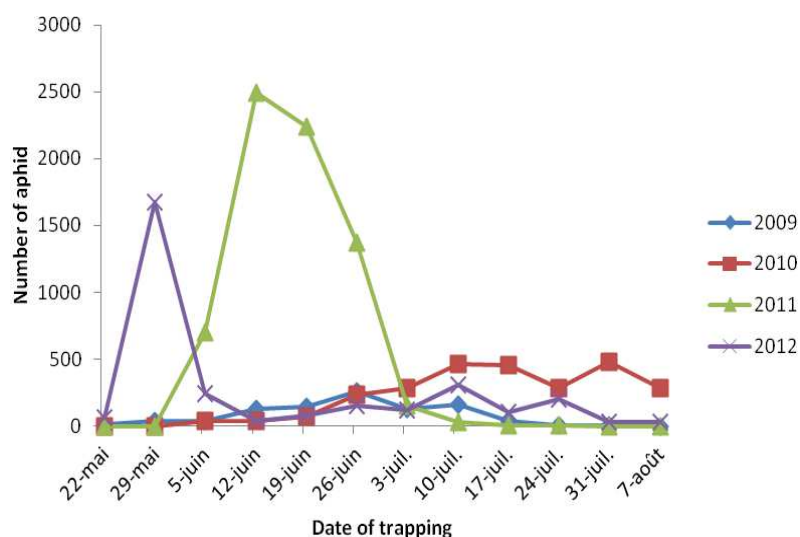


Figure 2. Population dynamics of winged aphids in potato plots from 2009 to 2012 in Wallonia (Belgium)

Detection and identification of PVY strains in Wallonia from 2009 to 2011

From 2009, PVY was detected in 60-80% of the analyzed fields (Table 3). Over the years, the fields for seed potatoes seemed to be less affected by PVY than those with potatoes, as a virus incidence of 60-80% was showed for the first and 80% for the latter.

Nevertheless, a high rate of 80% PVY infection was recorded in 2011 in both kinds of potato production.

Similar observations were made when looking at the prevalence of PVY in the plots delimited in each field monitored during the survey. PVY was detected in 22% and 26% of the plots with seed potatoes in 2009 and 2010, respectively, but 60% of the plots containing seed potatoes were infected with PVY in 2011. Higher infection rates (60% in 2010 and 66, 6% in 2011) were recorded for PVY in the plots. Asymptomatic infections with PVY were observed in 60%, 57% and 75% of the fields monitored in 2009, 2010 and 2011, respectively.

Regarding to the dynamics of PVY occurrence in the fields, viral infections were recorded from beginning to middle of June on whole observation period.

The PCR test preceded by reverse transcription to detect targets of PVY in aphids caught carrying the virus was negative. This can be explained by the solution used in the traps. Indeed, soapy water used does not preserve the target RNA virus Y Potato located at the tip of the stylus in aphids. To solve this problem, Nie et al. (2011) advised to use propylene glycol in concentrations ranging from 25 to 75% in water traps to effectively engage targets PVY in

aphids, and for a few day period of time. This substance can be used in traps to protect the aphids viruliferous insects for subsequent PCR tests to detect the presence of PVY. Nevertheless, this proposal seemed to be expensive with propylene cost and not sustainable in case of trapping solution spreading at the fields.

Table 3. PVY incidence in fields and plots monitored in Wallonia for both seed potatoes and potatoes.

	2009	2010	2011
Fields + PVY	67% Seed potatoes Potatoes not tested	60% Seed potatoes 80% Potatoes	80% Seed potatoes 80% Potatoes
100 m ² plots + PVY	22,2% Seed potatoes Potatoes not tested	26,7% Seed potatoes 60% Potatoes	60% Seed potatoes 66,6% Potatoes
PVY strains	Mainly PVY-N/NTN		

Discussion

Abundance and diversity of aphid species

A total of 13,577 aphid specimens, representing 43 species were collected in yellow traps during the four year sampling period. Individual aphids collected in 2009 are characterized by a low abundance (less than a thousand individuals trapped) compared to insects collected in 2010 to 2012. This can be explained by the harsh winter that year helping to reduce aphid overwintering. The pressure of aphids in 2011 was extremely high. The increasing of the curve during the month of June, sensitive period, indicated a situation where the risk of infection at PVY was permanent. Approximately 7% of aphid species collected were important vectors of virus diseases of potato. Despite the low abundance, significant aphid diversity was noted. Four of five aphid species feeding on potatoes (Rolot, 2005; Nanayakkara et al., 2012) were captured: *M. persicae* (14%), *M. euphorbiae* (3%) and less than 1% for *A. solani* and *A. gossypii*. However, none of them have been observed on plants *in situ* despite systematical collection efforts. Many aphid species collected were non-colonizers. The high incidence of PVY in potato field reflected the abundance of non-colonizing aphids. It is know that the spread of viruses transmitted in a non-persistent manner by aphids often occurs when non-colonizing species land on a large number on crops (Raccah et al., 1985). Among the aphid species collected in potato fields, *M. persicae* is well known vector of several non-persistently transmitted viruses as PVY (Van Harten, 1983; Verbeek, 2010). The abundance and diversity of aphid species varied according to season. The number

of aphid species collected during our study represented 86% of the Gembloux (Belgium) aphid species recorded to date (Ammar et al., 2006). Diversity of aphids depends mainly on the plant diversity, temperature and moisture (Agarwala & Ghosh, 1985). Host plants diversity determines also the diversity of aphids; however, a highly diverse flora could negatively affect aphid diversity due to their low efficiency in locating their host plants (Dixon et al., 1987; Dixon & Kindlmann, 1990). Forty-three aphid species among more than 50 species that are known to be able to transmit PVY with varying efficiency (Ragsdale et al., 2001) were identified in our study. This diversity of aphid species observed during our investigations in Wallonia, remained low compared to the 365 aphid species listed across the country (Nieto et al., 1999). The Potato virus Y (PVY) is one of the most important agent causing high losses in potato farms worldwide and is transmitted by many aphid species in a non-persistent manner (Gray et al., 2010). The relatively high number of aphids caught in yellow traps confirms that these are problematical pests in potato crops. This could explain the high prevalence of PVY in potato fields.

The diversity of aphid species is an important factor in the spread of viral diseases that these insects are able to transmit, especially for viruses transmitted in a non-persistent manner, like PVY potato virus.

Although, transmission of non-persistent viruses by aphids has very little specificity with respect to individual aphid species and some aphid species are more efficient in transmitting certain virus species strains than other aphid species (Eastop, 1977). Sometimes a less efficient vector may be more important in spreading a virus if it occurs in greater abundance than more efficient vectors (Racchah, 1983).

Detection and identification of PVY strains

In the North part of Belgium (Flanders), PVY was detected in 65-75% of the fields with seed potatoes and was the main cause for the downgrading of 17-39% of seed potato batches (CPP Brochure, 2011). Our study showed similar results for the South part of Belgium (Wallonia), with PVY infection rates between 60% and 80% for the years 2009 to 2011. The higher occurrence of PVY in the fields with seed potatoes in 2011 compared with the previous years might be related to the number of aphids collected during the same season. With twice more aphids trapped in 2011 than in 2009 and 2010, the propagation of PVY was facilitated due to the massive presence of aphid vectors.

Consistently with other surveys on the evolution of PVY populations (Visser *et al.*, 2012), our three-year study highlighted the emergence of the N/NTN-types of PVY also in Wallonia. The South part of Belgium was therefore also facing up with the problem of recombinant strains of PVY, which might cause frequently Potato Tuber Necrotic Ringspot Disease (PTNRD) and severe yield losses.

The common asymptomatic infections of potato crops by PVY make essential resorting to molecular diagnostics of the disease for seed potatoes. Visual inspections in the fields as part of the seed certification programs might fail to determine accurately the virus incidence. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) are widely used to search for PVY in sprouts of potato tubers, but RT-PCR allows the detection of the virus even in dormant tubers (Agindotan *et al.*, 2007; Boonham *et al.*, 2009; Mortimer-Jones *et al.*, 2009; Fageria *et al.*, 2013). The PCR test preceded by reverse transcription to detect targets of PVY in aphids caught carrying the virus was negative. This can be explained by the solution used in the traps. Indeed, soapy water used does not preserve the target RNA virus Y Potato located at the tip of the stylus in aphids. To solve this problem, Nie *et al.* (2011) advised to use propylene glycol in concentrations ranging from 25 to 75% in water traps to effectively engage targets PVY in aphids, and for a few day period of time. This substance can be used in traps to protect the aphids viruliferous insects for subsequent PCR tests to detect the presence of PVY. Nevertheless, this proposal seemed to be expensive with propylene cost and not sustainable in case of trapping solution spreading at the fields.

In conclusion, the implementation of aphidifauna monitoring in crops such as potato is essential to identify the range of potential vectors and associated viruses. Indeed, following the collection of such data on the diversity, abundance and phenology of potential vector species, estimates of risk and control periods should allow to establish epidemiological models and also develop strategies as intercropping for aphids unload a non-persistent PVY. Some recent studies have also shown the effectiveness of mineral oils in reducing PVY transmission by aphids (Nie *et al.*, 2013). Effective on farm PVY control can also be realized by adopting strategies used to reduce virus availability to aphids and to reduce the potential for aphids to inoculate plants. These include eliminating weed reservoirs of aphids and virus, the use of border crops to effectively cleanse aphids of virus before they enter the seed potato crops (Feres, 2000). When aphids carrying PVY probe the barrier crop to see if it is a suitable host, the PVY will be effectively “cleaned” from their mouthparts. If aphids then move from the barrier crop into the potato field, they will be less likely to be carrying PVY

from outside the field. The use of plant lectins to reduce viral transmission by aphids could be an interesting track. Some interesting lectins were found to reduce the virus transmission with 2 to 3 fold factor showing potential use of lectin in virus spread control when aphids were fed on diets containing lectins before transfer to infected plant and transmission tests on healthy plants (Francis, com. Pers.). Improving the efficacy of aphids natural control appears necessary to better adapt the strategies of crop protection. The presence of PVY infection in potato plots investigated calls for the need of urgent control measures to reduce the spread of these viruses.

Acknowledgements

The works was supported by financial support from the Public Service of Wallonia (SPW), DGO-3 department.

References

- Agarwala, B.K. & M.R. Ghosh, 1985. Biogeographical considerations of Indian Aphididae (Homoptera). *Ins. Mastsum.*, 31: 81-96.
- Agindotan, B.O., Shiel, P.J. & Berger, P.H. (2007). Simultaneous detection of potato viruses, PLRV, PVA, PVX and PVY from dormant potato tubers by TaqMan real-time RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 142(1-2): 1-9.
- Ammar A., Francis F., Bodson B. & Haubruge E. (2006). Étude de la diversité des pucerons et des auxiliaires aphidiphages relative à la présence d'orties en bordure de champs. *Notes fauniques de Gembloux*, 59 (2), 121-124.
- Autrique A. & Ntahimpera L., 1994. Atlas des principales espèces de pucerons rencontrées en Afrique Sub-saharienne. Administration Générale de la Coopération au Développement, AGCD, Publication Agricole N° 33, 78p.
- Basky Z., 1993. Identification key for alate aphids caught in yellow pan traps. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 28, 71-121.
- Basky Z., 2002. The relationship between aphid dynamics and two prominent potato viruses (PVY and PLRV) in seeds potato in Hungary. *Crop protection*, 21, 823-827.
- Blackman R.L. & Eastop V.F., (2000). *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide*. 2 éd. Wiley, Chichester, 476 p.
- Blackman R.L. & Eastop V.F., (2007). Taxonomic Issues. In van Emden H.F. & Harrington R. (ed.), *Aphids as crop pests*, p. 1-3. CAB International, Cambridge, Massachusetts.

- Blackman R.L., Eastop V.F., 1984. Aphids on the world's Crop: An identification and Information Guide. Wiley, New York, pp. 1-466.
- Boonham, N., Laurenson, L., Weekes, R. & Mumford, R.,_(2009). Direct detection of plant viruses in potato tubers using real-time PCR. *Methods in Molecular Biology*, 508: 249-258.
- Chen J., Qiao G-X., 2012. Gallling aphids (Hemiptera: Aphidoidea) in China: Diversity and Host Specificity (A review). Hindawi Publishing Corporation, Psyche, doi: 10.1155/2012/621934, pp. 11.
- Crosslin J. M., Hamm P. B., Hane D. C., Jaeger J., Brown C. R., Shiel P. J., Berger P. H., Thornton R. E. 2006. The occurrence of PVY^O, PVY^N, and PVY^{N:O} strains of *Potato virus Y* in certified potato seed lot trials in Washington and Oregon. *Plant Dis.* 90 (8): 1102-1105.
- Crosslin, J.M., Hamm, P.B., Eastwell, K.C., Thornton, R.E., Brown, C.R., Corsini, D., Shiel, P.J., Berger, P.H., 2002. First Report of the Necrotic Strain of Potato virus Y (PVYN) on Potatoes in the Northwestern United States. *Plant Dis.* 86, 1177–11177.
- De Bokx, J.A., Huttinga, H., 1981. Potato Virus Y. *Descriptions of Plant Viruses*, vol. 242 (No. 37 revised). Commonw Mycol Inst/Assoc Appl Biol, Kew, Surrey, UK.
- De Muynck, B., & Demeulemeester, K. (2011). Centre Pilote Pomme de terre, résultats 2011 – 12.1 Culture de plants de pomme de terre en Flandre en 2011. *In Brochure CPP 2011*. Edited by Lebrun P., Gembloux : Filière Wallonne de la Pomme de terre (FIWAP).
- Dixon A.F.G., 1998. *Aphid Ecology: An Optimization Approach*, Chapman & Hall, London, UK, 2nd edition.
- Dixon, A.F.G. & Kindlmann, 1990. Role of plant abundance in determining the abundance of herbivorous insects. *Oecologia*, 83: 281-283.
- Dixon, A.F.G., P. Kindlmann, J. Leps & J. Holman, 1987. Why there are so few species of aphids, especially in tropics. *Amer. Nat.*, 129: 580-592.
- Du, Z., Chen, J. & Hiruki, C. (2006). Optimization and application of a multiplex RT-PCR system for simultaneous detection of five potato viruses using 18S rRNA as an internal control. *Plant Disease*, 90(2): 185-189.
- Fageria, M.S., M. Singh, U. Nanayakkara, Y. Pelletier, X. Nie, and D. Wattie. (2013). Monitoring current season spread of in potato fields using ELISA and Real-time RT-PCR. Potato virus Y. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0283-RE>.
- Faostat(2011). Food and Agricultural commodities production. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> ; 05/03/2013).

- Fereres, A., 2000. Barrier crops as a cultural control measure of non-persistently transmitted aphid-borne viruses. *Virus Res.* 71:221-231.
- Francis F., Haubruge E. & Gaspar Ch., 1998. Les pucerons sont-ils résistants aux insecticides en Belgique ? *Parasitica*, 54 (4), 151-161.
- German T.L., 2001. Potato virus S. Pages 67-68 in: *Compendium of Potato Diseases*, 2nd ed. W.R. Stevenson, R. Loria, G.D. Franc. and D.P. Weingartner, eds. American Phytopathology, St Paul M.N.
- Harmel N., Francis F., Haubruge E. & Giordanengo P. (2008). Physiologie des interactions entre pomme de terre et pucerons : vers une nouvelle stratégie de lutte basée sur les systèmes de défense de la plante. *Cahiers Agricultures*, 17 : 4, 395-400.
- Hullé M., Ighil E.T.-A., Robert Y. & Monnet Y., 1999. *Les pucerons des plantes maraichères. Cycles biologiques et activités de vol*. Inra, Paris, 136 p.
- Jacky F., Bouchery Y. (1982). Atlas des formes ailées des espèces courantes de pucerons. Institut National de la Recherche Agronomique, Colmar, 48p.
- Kerlan, C., 2006. Description of Plant Viruses: Potato virus Y. Association of Applied Biologists, No. 414 (<http://www.dpvweb.net/dpv/showdpv.php?dpvno=414>).
- Lazzarotto C.M. & Lazzari S.M.N., 1998. Richness and diversity of aphids (Homoptera, Aphididae) along an altitudinal gradient in the Serra do mar, Parana, Brasil. *Revta.bras.Zool.* 15 (4), 977-983.
- Leclant F. (1999). Les pucerons des plantes cultivées. Clefs d'identification, Cultures maraichères II. Editions INRA, ACTA.
- Marchoux G., Gognalons P. & Sélassié K.G., 2008. Virus des Solanacées. Du génome viral à la protection des cultures. Paris, France: Quae.
- Matthiews R.E.F., 1991. Relationships between plant viruses and invertebrates. In *Plant Virology*, R.E.F. Matthiews, 3rd edition.
- Mignon J., Colignon P., Haubruge E. & Francis F. (2003). Effet des bordures de champs sur les populations de chrysopes [Neuroptera: Chrysopidae] en cultures maraichères. *Phytoprotection*, 84, p. 121-128.
- Moericke V., 1955. Über die Lebensgewohnheiten der geflügelten Blattläuse (Aphididae) unter besonderer Berücksichtigung des Verhaltens beim Laden. *Z. Angew. Entomol.* , 37, 29-91.
- Mortimer-Jones, S.M., Jones, R.A., Thomson, G. & Dwyer, G.I. (2009). A single tube, quantitative real-time RT-PCR assay that detects four potato viruses simultaneously. *Journal of Virological Methods*, 161(2): 289-296.

- Nie, X., Pelletier, Y. Mason, N., Dilworth, A.D., et Giguère, M.-A. (2011). « Aphids preserved in propylene glycol can be used for reverse transcription-polymerase chain reaction detection of *Potato virus Y*. », *Journal of Virological Methods*, 175(2), p. 224-227. doi : 10.1016/j.jviromet.2011.05.019.
- Nieto-Nafria J., Latteur G., Durante M. M., Tahon J. & Hidalgo N. P. (1999). Les pucerons de Belgique (Hemiptera : aphididae). *Parasitica*, 55, 5-38.
- Piche, L.M., Singh, R.P., Nie, X., Gudmestad, N.C., 2004. Diversity among Potato virus Y isolates obtained from potatoes grown in the United States. *Phytopathology*, 94:1368–1375.
- Quaglia F., Rossi E., Petacchi R., & Taylor C.E., 1993. Observations on an infestation by green peach aphids (Homoptera: Aphididae) on greenhouse tomatoes in Italy, *J. Econ. Entomol.*, 86 (4), 1019-1025.
- Racah B., 1983. Monitoring insect populations and the detection of viruses in vectors. In: R.T. Plumb and J.M. Thresh. (Eds.). *Plant Virus Epidemiology*. Blackwell, Oxford. P.147.
- Racah B., Galon A., Eastop VF., 1985. The role of flying aphid vectors in the transmission of *Cucumber Mosaic virus* and *Potato Virus Y* in Israel. *Ann. Appl. Biol.*, 106: 451-460.
- Ragsdale, D., Radcliffe, E., and diFonzo, C. D. 2001. Epidemiology and field control of PVY and PLRV. Pages 237-270 in: *Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes*. G. Loebenstein, P. H. Berger, A. A. Brunt, and R. H. Lawson, eds. Kluwer Academic, Dordrecht, Netherlands.
- Remaudière G. & Remaudière M. (1997). *Catalogue des Aphididae du Monde*. Inra, Paris, 473 p.
- Rigotti, S. & Gugerli, P. (2007). Rapid identification of potato virus Y strains by one-step triplex RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 140:90-4.
- Rolot J-L., 2005. Analyse des facteurs régulant la dissémination du virus de la pomme de terre(PVY) en vue de stratégies de lutte raisonnées. Thèse de doctorat, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques, Gembloux, Belgique.
- Schubert, J., Fomitcheva, V. & Sztangret-Wisniewska, J. (2007). Differentiation of Potato virus Y strains using improved sets of diagnostic PCR-primers. *Journal of Virological Methods*, 140:66-74.
- Siegvald R., 1987. Aphid migration and the importance of some aphid species as vectors of potato virus Y⁰ (PVY) in Sweden. *Potato Res.*, 30, 267-283.

- Slack S.A. & German T.L., 2001. Diseases caused by viruses and viroids. Pages 57-62 in: Compendium of Potato Diseases, 2nd ed. W.R. Stevenson, R. Loria, G.D. Franc and D.P. Weingartner, eds. American Phytopathology Society, St. Paul MN.
- Taylor L.R. (1981). Aphid forecasting and pathogens and a handbook for aphid identification. Euroaphid, 1980.
- Van den Heuvel J. F. J. M., Dirven J. A. A. M., van Os G. J., Peters D., 1993. Acquisition of potato leafroll virus by *Myzus persicae* from secondarily infected potato plants of different genotypes. *Potato Res.*, 36, 89-96.
- Visser, J. C., Bellstedt, D. U. & Pirie M. D. (2012). The Recent Recombinant Evolution of a Major Crop Pathogen, *Potato virus Y*. *PLoS ONE*, 7: e50631.
- Weilguny, H. & Singh, R.P. (1998). Separation of Slovenian isolates of PVY (NTN) from the North American isolates of PVY (N) by a 3-primer PCR. *Journal of Virological Methods*, 71:57-68.

CHAPITRE VII : DISCUSSION GENERALE, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

DISCUSSION GÉNÉRALE

Standardiser les méthodes de collecte en fonction du groupe d'insectes visés est une condition nécessaire pour valider la comparaison d'inventaires entomologiques dans différentes situations notamment de localisations géographiques et pour fournir des éléments pertinents avant de proposer des méthodes de lutte contre les insectes ravageurs ciblés (Richard, 2004). La méthode, utilisée doit permettre de maximiser l'efficacité de capture, c'est-à-dire donner une image la plus proche possible de la réalité tant en abondance qu'en diversité des ravageurs cibles. L'efficacité d'une méthode d'échantillonnage est aussi liée au nombre de mesures réalisées à l'intérieur d'une même unité d'échantillonnage (Bonnel, 2005; Dauffy-Richard et Archaux, 2007). En outre, la méthode doit maximiser la capture des espèces du groupe d'insectes retenu et minimiser celle des groupes non-cibles. Pour cela la détection de toutes les espèces du groupe doit être non seulement efficace mais aussi et surtout équivalente entre les milieux – environnements comparés. Dans cette étude, plusieurs techniques de piégeage des pucerons ont été appliquées. L'objectif était d'investiguer les méthodes efficaces dans la surveillance des pucerons vecteurs de viroses. Nous avons ainsi démontré à travers la comparaison de deux techniques de piégeage que les pièges jaunes présentent un intérêt supérieur au vu de la facilité d'utilisation et de leur rendement appréciable pour la récolte de pucerons, tant en abondance qu'en richesse spécifique. Son efficacité est soutenue par sa capacité à se prêter à des échantillonnages de grande envergure (Mignon et al., 2003). Le piège Malaise est moins efficace dans l'échantillonnage des pucerons. Ces résultats doivent cependant être relativisés en l'absence d'études comparatives dans l'échantillonnage effectif de cet ordre d'insectes.

Plusieurs espèces de pucerons attaquent la pomme de terre. Les dégâts directs de ces insectes piqueurs-suceurs, tels le prélèvement de sève ou le développement de fumagine sur le miellat, ont peu d'impact sur le rendement. Par contre, les nombreux virus qu'ils transmettent constituent un réel problème pour la culture. Toutes les souches de PVY sont transmises dans la nature par de nombreuses espèces de pucerons. Au moins 50 espèces aphidiennes sont connues, pour leur capacité à transmettre le virus, avec des efficacités variables (Ragsdale et al., 2001). Le virus Y de la pomme de terre est transmis par pucerons d'une manière non persistante, nécessitant une période d'acquisition et d'inoculation de quelques minutes (Bradley, 1954). Ce mode de transmission donne la possibilité à de nombreuses espèces de pucerons qui sont seulement de passage dans la culture de pomme de terre, d'acquiescer ou de

transmettre le virus. Certaines souches du PVY, peuvent être plus efficacement transmises par certaines espèces de pucerons que d'autres (Fereres et al., 1993; Basky, 2005; Cervantes et Alvarez, 2008). L'efficacité de transmission peut aussi varier au sein des isolats d'un même virus et les populations de pucerons au sein d'une même espèce (Verbeek et al., 2010).

Or, l'importance et la précocité de colonisation d'une culture par les pucerons détermine très souvent l'ampleur de dégâts causés. Identifier les facteurs réduisant la fréquence et l'intensité des pullulations des pucerons en améliorant l'efficacité de leur contrôle naturel apparait indispensable pour mieux adapter les stratégies de protection des cultures. La majorité des pucerons identifiés tant en Belgique qu'au Mali sont des vecteurs importants du virus Y. La surveillance des champs de production et surtout de consommation tout au long de la saison est essentielle. Nous préconisons de procéder à une surveillance systématiques des périodes d'apparition par l'utilisation des pièges jaunes, dans diverses localisations représentatives de la zone de culture envisagée.

Les résultats du suivi de la diversité et de l'abondance des pucerons et virus associés basés sur 4 années de campagnes agricoles au Mali et dans le Sud de la Belgique ont permis de constater que, parmi les 50 espèces de pucerons identifiés, 43 taxa vecteurs potentiels ont été capturés en région Wallonne et seulement 19 au Mali, principalement dans les deux grandes zones productrices de pomme de terre (Sikasso et Kati). Cinq des principales espèces colonisatrices de la culture ont été capturées, à savoir *Myzus persicae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis gossypii*, *Aulacorthum solani*. En Belgique aucune de ces espèces n'a été observée *in situ* malgré les efforts systématiques de collecte. Par contre au Mali, les infestations par *M. persicae* et *A. gossypii* ont été observées sur les plants de pomme de terre en fin de végétation aussi bien à Kati qu'à Sikasso. Parmi ces espèces, *M. persicae* était la plus abondante et reste le vecteur le plus efficace du PVY.

Le test sérologique réalisé sur les échantillons foliaires a permis de détecter pour la première fois, la présence du PVY et du PLRV dans tous les champs de pomme de terre investigués au niveau des deux sites du Mali. L'occurrence de ces deux maladies s'est révélée être très homogène d'une année à l'autre avec des taux relativement importants. Les études menées au Mali sont cependant très préliminaires. Des difficultés liées à la situation politique et sécuritaire, suite aux événements douloureux qu'a vécu le pays n'ont pas facilité les activités sur le terrain.

Nous avons aussi, démontré une infection de PVY dans les champs de production de plants et de consommation dans le sud de la Belgique. La fréquence, la plus élevée de ce virus a été constatée en 2011 dans les champs de production de semences par rapport aux années précédentes. Cette propagation de la maladie pourrait être facilitée par la présence massive des pucerons vecteurs. En cohérence avec d'autres enquêtes sur l'évolution des populations de PVY, notre étude a mis en évidence l'émergence des souches de PVY^N et de PVY^{NTN}. La Wallonie a ainsi été confrontée avec le problème des souches recombinantes du PVY, ce qui provoque des pertes importantes de rendement de la culture.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Dans cette thèse, il a été question d'étudier l'impact de méthodes de piégeages afin d'optimiser la surveillance des populations de pucerons en pomme de terre et de comparer deux zones géographiques investiguées au Mali et en Région wallonne. Ceci avait pour but d'anticiper les périodes de pullulations de ces ravageurs, et aussi générer des données pour promouvoir des perspectives de développement de modèle épidémiologique permettant une gestion intégrée des pucerons.

Les résultats obtenus au laboratoire et sur le terrain ouvrent de nouvelles perspectives de recherche notamment au Mali :

- la poursuite de cette étude mériterait d'être poursuivie sur une durée plus longue pour juger de l'efficacité d'une généralisation d'utilisation de pièges jaunes dans la surveillance des pucerons ;
- il serait important d'informer et de concientiser les agriculteurs maliens sur le risque potentiel d'infection aux virus suite au sectionnement des tubercules lors de la plantation. Aussi, il est nécessaire de porter à la connaissance des scientifiques universitaires du Mali les résultats de notre étude afin qu'ils les intègrent et servent dans les projets de recherche à venir;
- dans le cadre des perspectives d'alternatives de lutte pour réduire la transmission virale, il serait intéressant de (i) étudier l'affinité de plusieurs lectines vis-à-vis des récepteurs de virus chez le puceron et de tester l'effet de compétition des lectines pour diminuer potentiellement le taux de transmission, (ii) border les champs de production par des plantes produisant naturellement ces lectines (comme les Fabaceae), ce qui pourrait diminuer les potentialités de transmission du PVY par les pucerons qui colonisent généralement d'abord les bordures de parcelles.
- enfin, pour pallier les difficultés rencontrées pour détecter le PVY chez les pucerons capturés et vecteurs potentiels de virus, des pistes doivent être explorées avec d'autres substances capables de retenir les cibles du PVY chez les pucerons lors des piégeages entrepris.

Références

- Basky, Z. and Almasi, A. (2005). Differences in aphid transmissibility and translocation between PVY^N and PVY^O isolates. *J. Pestic. Sci.* 78: 67-75.
- Bonneil P. (2005). Diversité et structure des communautés de lépidoptères nocturnes en chênaie de plaine dans un contexte de conversion vers la futaie régulière. Thèse de Doctorat, Ecologie, Muséum National d'Histoire Naturelle, p.227.
- Bradley, R. H. E. (1954). Studies of the mechanism of transmission of potato virus Y by the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulz.). *Can. J. Zool.* 32: 64-73.
- Cervantes, F.A. and Alvarez, J. M. (2008). Role of hairy nightshade *Solanum sarrachoides* (Sendtner) in transmission of Potato virus Y (PVY) strains by aphids and study of different PVY strains reaction on *Solanum tuberosum* (Linnaeus). (Abstr.) *Phytopathology* 98: S190.
- Dauffy-Richard E. et Archaux F. (2007). Méthodes d'échantillonnage des Coléoptères Carabiques: biais inter-habitats et nombre minimal d'unités d'échantillonnage pour estimer la richesse spécifique. Rapport de Convention d'appui technique ONF-Cemagref, Cemagref, Nogent-surVenisson, p.40.
- De Muynck, B., & Demeulemeester, K. (2011). Centre Pilote Pomme de terre, résultats 2011 – 12.1 Culture de plants de pomme de terre en Flandre en 2011. *In* Brochure CPP 2011. Edited by Lebrun P., Gembloux : Filière Wallonne de la Pomme de terre (FIWAP).
- Fereres, A., Perez, P., Gemeno, C. and Ponz, F. (1993). Transmission of Spanish pepper-PVY and potato-PVY isolates by aphid (Homoptera, Aphididae) vectors: Epidemiologic implications. *Environ. Entomol.* 22: 1260-1265.
- Lamarre GPA, Molto Q, Fine PVA, Baraloto C (2012). A comparison of two common flight interception Citation: traps to survey tropical arthropods. *ZooKeys* 216: 43–55. Doi: 10.3897/zookeys.216.3332.
- Mignon J., Colignon P., Haubruge E. & Francis F. (2003). Effet des bordures de champs sur les populations de chrysopes (Neuroptera: Chrysopidae) en cultures maraîchères. *Phytoprotection*, 84, 121-128.
- Ragsdale, D., Radcliffe, E., and diFonzo, C. D. 2001. Epidemiology and field control of PVY and PLRV. Pages 237-270 in: *Virus and virus-like diseases of potatoes and production of seed-potatoes*. G. Loebenstein, P. H. Berger, A. A. Brunt, and R. H. Lawson, eds. Kluwer Academic, Dordrecht, Netherlands.

Richard E. (2004). Réponse des communautés de Carabiques à la conversion en futaie régulière de chêne: aspects écologiques et méthodologiques. Thèse de doctorat, Sciences de l'Environnement, ENGREF, Paris, p.446.

Van Achterberg K., Grootaert P. & Shaw M.R., 2010. Flight interception traps for arthropods, Chapter 17.

Verbeek, M., Piron, P. G. M., Dullemans, A. M., Cuperus, C. and van der Vlugt, R. A. A. (2010). Determination of aphid transmission efficiencies for N, NTN and Wilga strains of Potato virus Y. *Ann. App. Biol.* 156: 39-49.

Visser, J. C., Bellstedt, D. U. & Pirie M. D. (2012). The Recent Recombinant Evolution of a Major Crop Pathogen, *Potato virus Y*. *PLoS ONE*, 7: e50631.

CHAPITRE VII: LISTE DES PUBLICATIONS ET PARTICAPTIONS AUX CONGRÈS

Liste des publications et participations aux congrès

1. Publications

Yattara A.A.A., Bosquée E., Coulibaly A.K., Bragard C., Haubruge E., Francis F. Les pucerons et viroses associées en pomme de terre: description, synthèse et perspectives de lutte intégrée. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* [BASE], soumis.

Yattara A. A. A. & Francis F. (2013). Impact des méthodes de piègeage sur l'efficacité de surveillance des pucerons: illustration dans les champs de pommes de terre en Belgique. *Entomologie Faunistique*, **66**, 89-95.

Yattara A.A.A., Bosquée E., Coulibaly A.K., Francis F. Diversité et abondance des pucerons[Homoptera: Aphididae] et leur impact dans la dissémination des virus infectant la pomme de terre au Mali. *Phytoprotection*, accepté.

Yattara A.A.A., Bosquée E., Crutzen F., Bragard C., Coulibaly A.K., Francis F. Systematic survey of aphids and associated virus in potato fields: a four year overview in south part of Belgium. *European Journal of Plant Pathology*, soumis.

2. Communications

Yattara A.A.A., Coulibaly A.K., Haubruge E., Bragard C., Francis F. (2012). Comparison of aphidifauna in Belgium and Mali and potential impact on potato virus dispersion. International Congress of Entomology (IC2012), Daegu, Korea. 19-25 août 2012. (Poster and abstract)

Yattara A.A.A., Genin V., Haubruge E., Bragard C., Francis F. (2011). Aphid-phytovirus interactions: investigation of virus binding mechanisms in insect vectors by lectin use and proteomic approach. Hemipteran-Plant Interactions Symposium, Venue, Piracicaba, SP-Brasil. 11-17 juillet 2011. (Poster and abstract)

Yattara A.A.A., Hartert L., Genin V., Bragard C., Francis, F. (2010). Diversité des pucerons en parcelles de pomme de terre et impact sur la dissémination des viroses. 7^{ème} Conférence Internationale Francophone d'Entomologie (CIFE 2010), Louvain-la-Neuve, Belgique. 5-10 juillet 2010. (Poster et résumé)

Liste des tableaux et figures

Liste des tableaux

CHAPITRE II

Tableau 1 : Quelques virus transmis par pucerons

Tableau 2 : Modes de transmission des virus

CHAPITRE IV

Tableau 1: Caractéristiques et contraintes des méthodes d'échantillonnage passives et actives en milieu terrestre

Tableau 2: Abondance relative et richesse spécifique des espèces de pucerons capturés dans deux types de pièges de 2010 à 2011

Tableau 3. Proportion relative des espèces de pucerons capturés dans les deux types de piège sur l'ensemble des sites en 2010 et 2011.

Tableau 4: Répartition des captures en fonction du type de piège et du site.

CHAPITRE V

Tableau 1: Proportions et richesses relatives des pucerons piégés en cultures de pomme de terre de 2009 à 2011 au Mali

Tableau 2. Taux moyen d'infection (\pm écart-type) des échantillons de pomme de terre aux virus PVY et PLRV en fonction des années

Tableau 3: Taux moyen d'infection (\pm écart-type) des échantillons de pomme de terre aux virus PVY et PLRV en fonction des sites

CHAPITRE VI

Table 1. Primers used in this study

Table 2. Richness and relative abundance of aphid species collected on four years in Wallonia, Belgium (from May 2009 to August 2012)

Table 3. PVY incidence in fields and plots monitored in Wallonia for both seed potatoes and potatoes.

Liste des figures

CHAPITRE II

Figure 1 : Protection intégrée en culture de pomme de terre contre les pucerons vecteurs de viroses.

CHAPITRE IV

Figure 1: Phénologie des pucerons en fonction du type de pièges installés en parcelles de pomme de terre en Wallonie.

CHAPITRE V

Figure 1: Dispositif d'échantillonnage des feuilles de pomme de terre dans les parcelles

Figure 2: Abondances relatives de deux espèces de pucerons observés dans les parcelles de pomme de terre en fonction des sites (Kati et Sikasso) et des années au Mali.

Figure 3: Phénologie de deux espèces de pucerons observées en cultures de pomme de terre de 2009 à 2011 à Kati (a) et Sikasso (b)

Figure 4.: Incidence des virus PVY et PLRV sur la culture de pomme de terre de 2009 à 2011 à Kati(a) et Sikasso(b) au Mali

CHAPITRE VI

Figure 1. Richness and relative abundance of aphids from 2009 to 2012 in Wallonia

Figure 2. Population dynamics of winged aphids in potato plots from 2009 to 2012 in Wallonia (Belgium)