



HAL
open science

Étude des facteurs sensoriels intervenant dans le choix de plantes et dans le comportement alimentaire des adultes de *Hyalesthes obsoletus* (Echostol).

C. Yvin, R. Cansiere, Julien Chuche, D. Thierry, F. Nicolè, Philippe Kuntzmann, M. Delavaud, Patrick Gallois

► To cite this version:

C. Yvin, R. Cansiere, Julien Chuche, D. Thierry, F. Nicolè, et al.. Étude des facteurs sensoriels intervenant dans le choix de plantes et dans le comportement alimentaire des adultes de *Hyalesthes obsoletus* (Echostol).. *Innovations Agronomiques*, 2018, 63, pp.445-456. 10.15454/1.5191203103188833E12 . hal-01848568

HAL Id: hal-01848568

<https://hal.science/hal-01848568>

Submitted on 24 Jul 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Étude des facteurs sensoriels intervenant dans le choix de plantes et dans le comportement alimentaire des adultes de *Hyaesthes obsoletus* (Echostol)

Yvin C.¹, Cansièrè R.¹, Chuche J.², Thierry D.², Nicolè F.³, Kuntzmann P.⁴, Delavaud M.⁵, Gallois P.¹

¹ ITEIPMAI, Domaine de la Vesc, F-26740 Montboucher sur Jabron

² UMR 1065 Santé et Agroécologie du Vignoble (SAVE)

³ Université Jean Monnet, LBVpam, 23 rue du Dr Paul Michelon, F-42023 St Etienne cedex 2

⁴ IFV, Rue de Herrlisheim, F-68000 Colmar

⁵ ANITTA, F-24100 Bergerac

Correspondance : guillaume.fremondier@iteipmai.fr

Résumé

Les cultures de lavande (*Lavandula angustifolia*), de lavandin (*Lavandula angustifolia* X *Lavandula latifolia*), de vigne et de tabac ont en commun d'être gravement affectées par le phytoplasme du Stolbur, agent pathogène transmis par l'insecte vecteur *Hyaesthes obsoletus* (Hémiptère : cixiide). Les symptômes engendrés portent le nom de « dépérissement à stolbur » pour la lavande et le lavandin, de « maladie du Bois Noir » pour la vigne, et de « Stolbur » pour le tabac. Pour les cultures de lavande, la maladie du dépérissement à Stolbur est le problème sanitaire principal pour ces cultures et conduit à des baisses de rendement, à des arrachages précoces de parcelles et à un recul des surfaces cultivées en lavande, espèce plus sensible que le lavandin.

Ce problème sanitaire est par ailleurs complexe, faisant intervenir une plante, un insecte vecteur et un micro-organisme. Les connaissances des interactions entre ces 3 entités sont encore lacunaires c'est pourquoi, dans le but d'améliorer la lutte contre ces phytoplasmoses, l'Iteipmai s'est rapproché de l'IFV et de l'ANITTA, pour mutualiser les compétences de chacun et développer un programme de recherches bénéficiant aux trois cultures. Avec l'appui de partenaires de la recherche académique (INRA de Bordeaux – UMR SAVE, Université Jean Monnet de Saint-Etienne), un programme de recherche a été construit afin d'améliorer les connaissances sur les interactions plantes / insecte, notamment au niveau des facteurs intervenant dans le choix des plantes et le comportement alimentaire de l'insecte. Une meilleure connaissance de ces éléments constituerait une base d'élaboration de nouvelles techniques de lutte (directes ou indirectes) contre l'insecte vecteur et pourrait ouvrir la voie à de nouveaux critères de sélection de matériel végétal plus tolérant.

Ce programme est complémentaire du projet PlanteStol, porté par l'IFV et dédié à l'étude des interactions vigne / Stolbur (projet « PlanteStol »). Il s'inscrit également en complément d'un autre programme Casdar (volet « Innovation et Partenariat ») conduit entre 2012 et 2014 et mettant en œuvre des essais agronomiques appliqués, conduits essentiellement en plein champ, et destinés à mieux comprendre l'impact de tous les facteurs pouvant intervenir dans les mortalités de lavandes et lavandins : stolbur, insecte vecteur, climat, itinéraires culturaux (enracinement, assolement, ...), afin d'améliorer l'état sanitaire des lavanderaies.

Mots-clés : *Hyaesthes obsoletus*, comportement alimentaire, dispersion, stolbur, lavande, vigne, tabac.

Abstract : Study of the sensorial factors involved in the choice of plants and the feeding behavior of adults of *Hyalesthes obsoletus* to improve the control of phytoplasmoses in Stolbur in lavender / lavandin, vine and tobacco cultures

Crops of lavender (*Lavandula angustifolia*), lavandin (*Lavandula angustifolia* X *Lavandula latifolia*), grapevine and tobacco have in common that they are severely affected by the phytoplasma of Stolbur, a pathogen transmitted by the insect vector *Hyalesthes obsoletus* (Hemiptera: cixiide). The resulting symptoms are called "stolbur fading away" for lavender and lavandin, "Black Wood disease" for the vine, and "stolbur" for tobacco. For lavender crops, stolbur fading away disease is the main disease problem for these crops, and leads to a decrease of the yield, early plucking of plots, and a reduction of the cultivated surfaces of lavender which is more sensitive than the lavandin.

This disease problem is complex, involving a plant, an insect vector and a micro-organism. The understanding of the interactions between these 3 entities is still lacking and to improve the fight against these phytoplasmoses, Iteipmai has contacted the IFV and ANITTA, to pool the skills of each and develop a research program profitable for the three species. With the support of partners from academic research (INRA Bordeaux - UMR SAVE, University Jean Monnet of Saint-Etienne), a research program was built to improve knowledge on plant / insect interactions, notably on the factors involved in the choice of plants and the feeding behavior of the insect. A better knowledge of these elements would constitute a basis for the elaboration of new control techniques (direct or indirect against the insect vector and could open the way to new criteria of selection of plant material more tolerant.

This program is complementary to the PlanteStol project, supported by the IFV, and dedicated to the study of vine / Stolbur interactions ("PlanteStol" project). It also complements another Casdar project ("Innovation and Partnership" component) conducted between 2012 and 2014 on agronomic tests, led mainly in the field which aimed at a better understanding of the impact of all the factors that can induce mortalities of lavender and lavender : stolbur, vector insect, climate, cultural itineraries (rooting, rotation,...), in order to improve the sanitary condition of the lavender and lavandin plots.

Keywords: *Hyalesthes obsoletus*, feeding behavior, dispersal, stolbur, lavender, vine, tobacco.

Introduction

Cultivés sur près de 22000 ha en France, la lavande et le lavandin (hybride issu du croisement entre la lavande vraie *Lavandula angustifolia* et la lavande aspic *Lavandula latifolia*) sont historiquement emblématiques de la Provence et primordiaux pour l'économie régionale à travers la production d'huile essentielle, de fleurs et bouquets, de produits transformés (distilleries et produits élaborés) et de miel de lavande. Ces cultures ont également une valeur paysagère qui contribue à l'attrait touristique grandissant de la région.

Ces productions font face à un grave problème sanitaire depuis de nombreuses années : le dépérissement de la lavande et du lavandin, maladie dont l'agent étiologique est le phytoplasme du Stolbur, transmis par un insecte vecteur, *Hyalesthes obsoletus* (Hémiptère : Cixiide). Cette maladie constitue aujourd'hui le principal problème sanitaire pour la lavande et le lavandin, se traduisant par des arrachages précoces de parcelles et, par-là, engendrant un recul des surfaces cultivées en lavande, espèce plus sensible que le lavandin.

Ce couple insecte / agent pathogène est également responsable de la maladie du bois noir sur vigne et de dégâts communément appelé « Stolbur » sur tabac. Dans les 3 cas, les connaissances fines de la biologie de l'insecte ainsi que de ses interactions avec les plantes hôtes (lavande, tabac ou vigne) sont encore lacunaires. L'amélioration des stratégies de lutte passe donc par une meilleure connaissance à la fois de l'insecte vecteur et de ses interactions avec les plantes hôtes cultivées.

C'est dans ce contexte que ce programme multi-partenarial a été construit et organisé en 6 axes de travail déclinés ci-après.

1. Objectifs retenus - méthode de travail

La construction de ce programme de recherche est le fruit d'un travail de concertation entre les acteurs de la recherche représentant les filières lavandicoles, tabacoles et viticoles. Des chercheurs du COST de l'Iteipmai et d'autres experts scientifiques extérieurs y ont été associés pour leur expertise scientifique, leur regard critique sur les méthodologies de travail retenues et leur connaissance d'autres programmes de recherche, sources potentielles d'inspiration.

Dans un contexte où les recherches fondamentales menées sur cet insecte sont encore limitées, l'objectif était d'améliorer les connaissances sur le comportement alimentaire de *H. obsoletus* et sur sa capacité de dispersion, profitant ainsi aux trois filières impactées.

D'autre part, la caractérisation des facteurs sensoriels attractifs pour *H. obsoletus* devrait permettre d'améliorer sa détection en parcelle en améliorant le fonctionnement des pièges utilisés (qui sont uniquement des pièges d'interception, non sélectifs) ou les méthodes de lutte par l'adaptation de techniques « Push and Pull » ou « Attract and Kill ».

Enfin, et surtout, ce programme devait apporter une meilleure compréhension du rôle joué par l'interaction variété / insecte dans le phénomène de tolérance variétale. A moyen terme ces résultats permettront la création de variétés plus tolérantes à cet insecte et au stolbur et ainsi d'améliorer l'état sanitaire des lavanderaies, des vignobles et des parcelles de tabac.

Ces objectifs se sont traduits dans la construction du programme par la mise en place de six actions complémentaires :

- **Réaliser un élevage de *H. obsoletus* pour alimenter en insectes sains les différents tests comportementaux prévus**

L'objectif ici était de constituer un élevage de *H. obsoletus* sur différentes plantes hôtes (lavande, ortie, liseron). Cet élevage avait pour but d'assurer une fourniture suffisante en insectes pour conduire les expérimentations programmées dans le cadre de ce projet. De plus, il permet de disposer d'insectes dont l'état sanitaire est connu (non infectieux).

- **Déterminer à l'aide de tests de choix quelles sont les plantes les plus attractives pour les *H. obsoletus* adultes**

Le but des tests de choix entre différentes variétés d'une même espèce de plantes hôtes était de pouvoir déterminer si certaines variétés peuvent présenter une "résistance" vis-à-vis de l'insecte ou être moins appétantes.

- **Caractériser les facteurs sensoriels guidant les choix préférentiels de plantes par *H. obsoletus***

L'objectif est ici de caractériser les facteurs sensoriels (olfactif, visuel, gustatif, thermique) guidant les choix préférentiels de l'insecte et rechercher des corrélations entre ces facteurs sensoriels et le niveau de tolérance / sensibilité des variétés de lavande, lavandin, vigne et tabac. Dans le cas de la mise en évidence d'un comportement différencié des insectes selon le facteur olfactif, nous souhaitons déterminer quelles molécules volatiles émises par les plantes sont perçues par *H. obsoletus*.

Les réponses des *H. obsoletus* adultes aux composés organiques volatils de plantes ont, dans un premier temps, été observées en utilisant un olfactomètre en Y. Dans un second temps, des dispositifs sans flux d'air ont été utilisés en boîte de Pétri avec disques imbibés d'extraits.

- **Rechercher un moyen permettant de diminuer l'attractivité des plantes pour *H. obsoletus***

L'objectif de cette action est d'identifier et d'évaluer des molécules potentiellement répulsives pour *H. obsoletus* en évaluant le potentiel répulsif/insecticide de différents extraits végétaux. Pour ce faire, 5

extraits de plantes ont été pulvérisés sur des jeunes plantes d'ortie et les choix des insectes issus de l'élevage sur ortie en ont été observés

- **Etudier la capacité de développement de *H. obsoletus* sur différentes variétés de lavandes / lavandins**

Cette étude vise à déterminer la part de « résistance » au dépérissement agissant contre le vecteur et à identifier quels sont les traits d'histoire de vie du vecteur qui sont affectés (choix de la plante, choix de pondre ou non, capacité de développement des larves).

La réussite de ces expérimentations reposait sur la capacité à disposer de suffisamment d'insectes adultes pour réaliser l'ensemble des tests de choix. Compte-tenu de la difficulté à obtenir des insectes issus d'élevage, ainsi que de la faiblesse des effectifs vivants issus de capture, il n'a pas été possible de mettre en place ces tests. Il ne sera donc pas fait mention de ces essais dans la suite de cet article.

- **Déterminer la capacité de dispersion des *H. obsoletus* adultes**

Ce travail vise à déterminer dans des parcelles de lavande et de vigne, la capacité de dispersion des *H. obsoletus* adultes, en piégeant des adultes préalablement marqués puis relâchés.

2. Principaux résultats obtenus

2.1 Réalisation de l'élevage de *Hyalestes obsoletus*

L'objectif était de constituer un élevage de *H. obsoletus* à partir de captures d'individus sauvages (adultes, œufs et larves) sur différentes plantes hôtes (la lavande, l'ortie et le liseron). Cet élevage devait assurer une fourniture suffisante en insectes pour conduire les expérimentations (tests de choix de plante hôte, d'olfactométrie) et étudier les interactions entre les races de *H. obsoletus* et les trois plantes hôtes principales de l'insecte en France qui leurs sont inféodées.

Les essais réalisés sur lavande en 2012, 2013 et 2014/2015 se sont révélés infructueux. En effet, ni les œufs, ni les larves, ni les adultes de *H. obsoletus* collectés dans le milieu naturel n'ont pu croître et encore moins se reproduire en conditions contrôlées de façon suffisamment satisfaisante pour obtenir le volume d'individus vivants nécessaire pour permettre la réalisation des expérimentations. Il n'y a donc pas eu d'individus d'élevage disponibles.

Les essais réalisés sur liseron à partir d'une collecte en Allemagne sur un site connu pour héberger de forts niveaux de population n'ont malheureusement pas été plus concluants pour les mêmes raisons. En effet, les conditions climatiques de 2014 ont été responsables d'un décalage de la dynamique d'émergence de *H. obsoletus*. La phénologie du cixiide avait 3 semaines d'avances par rapport à ce qui est observé habituellement. La collecte a donc été faite en toute fin de vol et seulement une soixantaine d'individus a pu être récupérés.

Par contre, l'élevage de *H. obsoletus* sur ortie fut un succès et a permis d'obtenir plus de 8 200 individus. Toutefois, malgré des conditions d'élevage constantes, il n'a pas été possible d'obtenir des dynamiques d'émergences marquées (Figure 1) et la production d'adultes reste très étalée. L'existence d'une diapause obligatoire ou non a été testée. Les essais en conditions de luminosité contrôlées n'ont pas permis de régler le phénomène d'étalement des émergences qui est peut-être dû à un rythme de développement sous contrôle génétique. En effet, *H. obsoletus* est un insecte ne faisant qu'une génération par an en Europe et dont le voltinisme peut être indépendant des conditions environnementales.

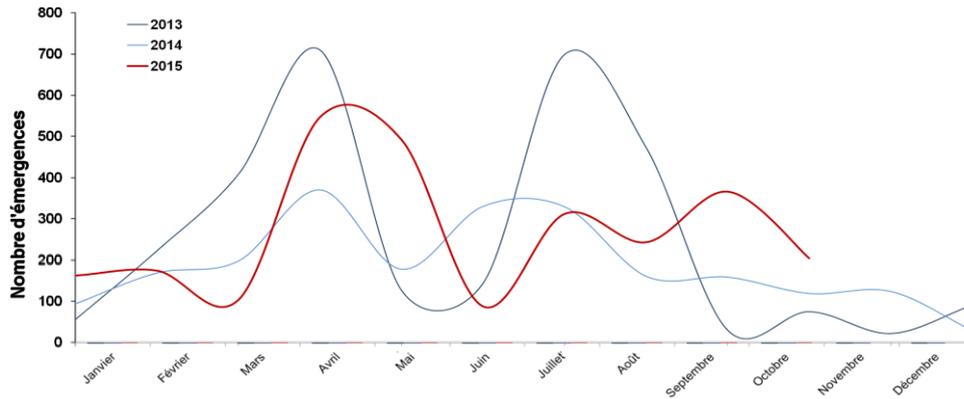


Figure 1 : Comparaison des émergences journalières et cumulées de *Hyalesthes obsoletus* sur ortie entre 2013 et 2014.

2.2 Détermination de l'attractivité des plantes pour *H. obsoletus*

Des tests de préférence intraspécifique ont été mis en place afin de déterminer si certaines variétés de tabac, de vigne et de lavande / lavandin peuvent présenter une "résistance" vis-à-vis de l'insecte ou être moins appétentes.

Les tests de préférence intraspécifique ont été pratiqués à chaque fois entre quatre plantes : 2 plantes de la variété A et 2 plantes de la variété B. Les variétés ont été choisies en fonction de leur résistance au phytoplasme du stolbur avec, à chaque fois, une variété tolérante (T) contre une sensible (S). Les plantes ont été placées à égale distance les unes des autres dans une cage (60 x 60 x 60 cm) en tissu "insecte-proof". A chaque fois 6 répétitions avec 50 *H. obsoletus* ont été menées.

Les individus ont été placés au centre de la cage et les cixiides sur chaque plante ont été dénombrés 48 heures après leur introduction.

Les tests sur tabac et vigne ont été réalisés avec des individus provenant de l'élevage, les tests sur lavande prévoyaient l'utilisation d'insectes capturés dans le compartiment sauvage.

Le tabac ne semble pas être une plante favorable à la survie de *H. obsoletus* et cela pose question sur l'épidémiologie du stolbur en culture de tabac. Comment un insecte qui n'arrive pas à s'alimenter et/ou s'intoxique lors de son alimentation peut-il être un vecteur efficace ? Le rôle de *H. obsoletus* dans la transmission du stolbur au tabac devrait être étudié attentivement.

Les 2 cépages de vigne testés (Chardonnay et Gewurztraminer) ne se sont pas montrés plus attractifs l'un que l'autre pour *H. obsoletus*. La plus grande tolérance du Gewurztraminer n'est donc pas liée à une faible attractivité. Elle peut être causée par des facteurs propres au cépage (physiologiques, génétiques...) et/ou être liée à des comportements du vecteur non testés dans cette étude, (particulièrement l'alimentation).

Le manque de résultats avec les individus provenant de lavanderaies montre bien la difficulté de travailler sur ce type d'organisme

2.3 Caractérisation des facteurs sensoriels

Caractériser les facteurs sensoriels (olfactif, visuel, gustatif, thermique) qui guident les choix préférentiels de l'insecte et rechercher des corrélations entre ces facteurs sensoriels et le niveau de tolérance / sensibilité des variétés de lavande, lavandin, vigne et tabac permettent de mieux connaître les interactions plante / vecteur de pathogène.

2.3.1 Evaluation de l'importance du facteur olfactif

Une première série de tests a été effectuée en 2013 avec un olfactomètre en Y couplé à un flux d'air pour diffuser les Composés Organiques Volatils (COV) de différents extraits de plantes (le gattilier, le lavandin Abrial, le liseron, l'ortie, la sauge sclarée, le tabac Burley et le cépage de vigne Chardonnay). Ces tests n'ont pas été concluants. Afin de contourner le faible taux de réponses des cixiides en olfactométrie dynamique, différents dispositifs sans flux d'air ont été testés en 2014 (Figure 2). Dans le dispositif 1 (Figure 2A), des disques de papier filtre teintés noir de 12 mm de diamètre sont imprégnés de 15 µl d'extrait de plantes. Le dispositif 2 est constitué d'une boîte de Pétri, dont le fond a été enlevé et remplacé par un voile noir intissé (P17) placé sur un récipient comprenant 2 compartiments étanches pouvant recevoir des disques de 45 mm de diamètres imprégnés de 100 µl d'extrait (Figures 2B et 2C).

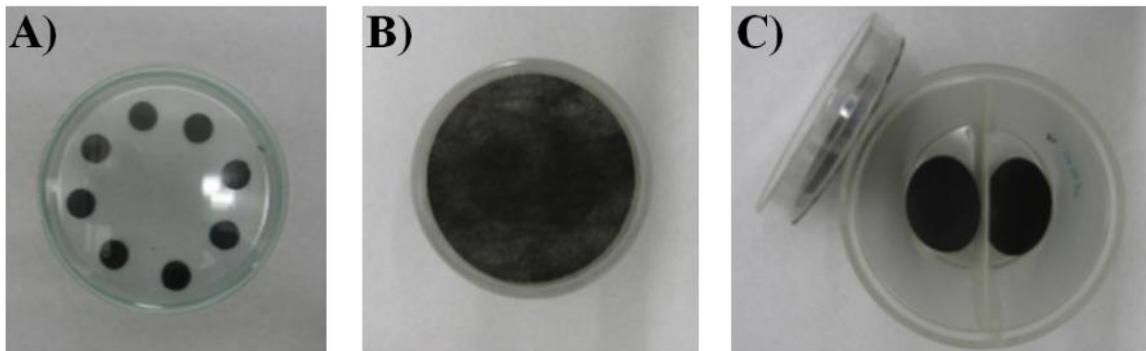


Figure 2 : Dispositifs sans flux d'air utilisés.

Ces nouveaux dispositifs expérimentaux n'ont pas apporté plus de satisfaction que l'olfactométrie en Y. Il n'a pas été possible d'observer de comportement résultant de l'attraction ou de la répulsion pour un extrait. Les mêmes individus ont été testés dans 2 dispositifs différents et selon différentes combinaisons de choix sans qu'aucun changement dans leur comportement ne soit observé. Le facteur olfactif ne semble pas un facteur prépondérant dans le choix de plante par *H. obsoletus*.

2.3.2 Détermination des COV émis par les plantes

Une synthèse bibliographique préalable des composés émis par les plantes hôtes de *Hyalesthes obsoletus* tend à démontrer qu'il est primordial de tester avec robustesse et fiabilité les différences quantitatives de bouquet entre plantes infectées et saines pour envisager des tests plus poussés en olfactométrie.

Une étude comparative des composés volatils dans les différentes espèces hôtes de *H. obsoletus* et du Stolbur a été réalisée. Une extraction par Head Space dynamique, Head Space statique ou par solvant suivi d'une chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC MS) a été réalisée sur ces mêmes plantes hôtes.

Les analyses statistiques ont été menées sur la lavande fine, le lavandin, la sauge sclarée, le gattilier, l'ortie dioïque et le liseron des champs (49 échantillons extraits en headspace dynamique et analysés, 98 extractions au solvant) (Figure 3). Un total de 127 composés a été identifié.

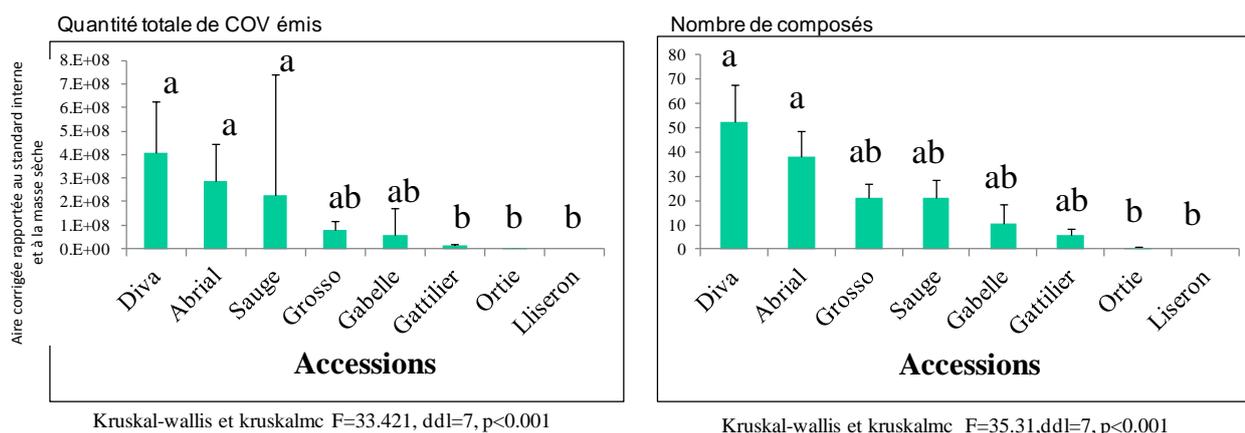


Figure 3 : Comparaison de la quantité totale de COV émis (aire relative corrigée rapportée au standard interne et à la masse sèche) et du nombre total de composés entre espèces et variétés analysées en headspace dynamique en conditions contrôlées au phytotron

Dans le cas du liseron, aucune émission n'a pu être détectée (Figure 3). Dans le cas de l'ortie, un seul composé en moyenne par individu a été identifié. Il semble que l'utilisation de plantes coupées n'ait pas permis une détection optimale des émissions.

Les composés les plus courants sont partagés par au moins 60% des échantillons analysés (soit 23 échantillons sur 43). Au nombre de 9, il s'agit, dans l'ordre décroissant d'occurrence : limonène (73%); cis-ocimène (70%), 1,8-cinéole (70%); trans- β -ocimène (67.5%), linalol (67%); p-cymène (65%), 3-hexen-1-ol (65%), l'acétate de linalyl (65%) ; myrcène (62%).

2.3.3 Etude des différences d'émission et de stockage de COV entre plantes saines et infectées

Cette étude a été réalisée sur lavande et lavandin. En raison d'une forte pression sanitaire, la plupart des individus infestés sont morts. Seuls les effectifs de la variété de lavande Gabelle (6 plants sains et 7 plants infestés) ont été suffisants pour permettre de mener l'étude.

Pour les COV émis, 63 molécules émises ont été trouvées dont 40 à un taux supérieur à 1%. L'analyse statistique ne montre aucune différence significative entre plantes infectées et plantes saines pour le nombre de composés et pour la quantité de COVs émis.

Une analyse discriminante PLS-DA a été effectuée sur l'ensemble des composés émis par les lavandes de la variété Gabelle pour analyser les différences qualitatives de bouquets volatils. Cette analyse a montré une différence entre les émissions de plantes saines et celles de plantes infectées. Les molécules les plus discriminantes, i.e. celles qui permettent de différencier une plante saine d'une plante infectée, sont principalement le β -farnésène, le β -caryophyllène, le 1,8-cinéole, le myrcène et le camphre (Figure 4).

Pour les COV stockés, une analyse a été réalisée sur les différentes parties de plantes de ces mêmes lavandes Gabelle. Au total, 170 molécules ont été identifiées et 75 molécules sont communes aux feuilles et aux inflorescences. Dans les inflorescences, il existe une différence de composition entre les plantes saines et les plantes infectées, validé par une cross-validation avec un pourcentage de bonne assignation de 70% sur deux axes discriminants (Figure 5A). La molécule la plus discriminante est le β -caryophyllène (Figure 5B). Le β -caryophyllène est absent dans les feuilles. Il existe cependant une différence de composition globale au sein des feuilles. Les molécules discriminantes sont le norcadin-5-en-4-one isomère B, le megastigmatrienone et 3 molécules non identifiées.

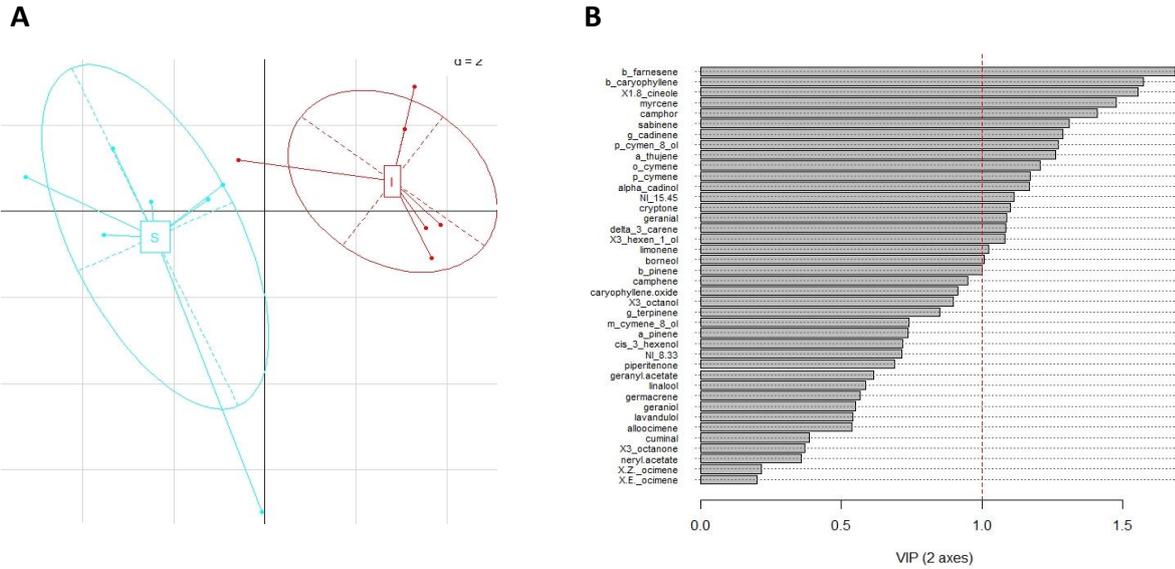


Figure 4 : (A) Analyse discriminante réalisée sur les bouquets volatils émis de lavandes fines variété Gabelle (données en pourcentage du total). S : plantes saines, I : plantes infectées ; les lettres représentent les barycentres du nuage de points. (B) Molécules classées par ordre décroissant de leur capacité à discriminer les émissions de lavandes fines variété Gabelle (NI pour non identifiée + temps de rétention de la molécule)

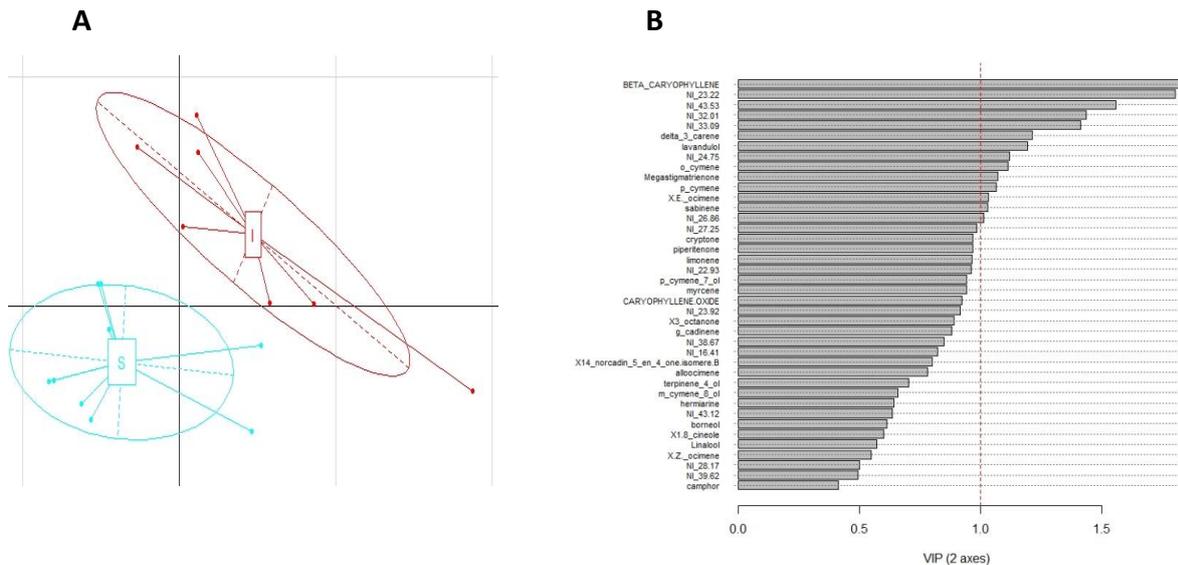


Figure 5 : (A) Analyse discriminante réalisée sur les extractions solvant d'inflorescences de lavandes fines variété Gabelle (données en pourcentage du total). S : plantes saines, I : plantes infectées ; les lettres représentent les barycentres du nuage de points. (B) Molécules classées par ordre décroissant de leur capacité à discriminer la composition des inflorescences de lavandes fines variété Gabelle (NI pour non identifiée + temps de rétention de la molécule).

Quand on compare les molécules discriminantes des émissions et des composés stockés dans les inflorescences, seul le bêta-caryophyllène est commun. La production de bêta-caryophyllène au sein des plantes infectées est donc favorisée et conduit à une augmentation des émissions de ce composé.

Une étude complémentaire des COV a été réalisée en plein champ avec 3 variétés de lavandins (Super, Abrial et Grosso) et 1 variété de lavande (Maillette). L'analyse des profils chromatographiques confirme les différences interspécifiques. Les résultats en champ montrent des différences plus

marquées de profil chimique entre plantes saines et infectées par rapport aux analyses de la variété Gabelle effectuée en laboratoire.

Une analyse des COVs a été pratiquée à la fois sur feuilles et sur inflorescences. Cette analyse confirme tout d'abord la plus grande richesse quantitative et qualitative des inflorescences (organes récoltés en production) par rapport aux feuilles (organes non récoltés en production)

Sur le profil chimique des feuilles, seuls quatre composés ont permis de discriminer les plantes infectées et saines (camphre, 1-8 cinéole, bornéol et molécule non identifiée au temps de rétention 34.94). Seul le camphre est toujours caractéristique des feuilles de plantes infectées quelle que soit la variété.

Au niveau des inflorescences, les composés les plus discriminants et caractéristiques des plantes infectées sont le bêta caryophyllène, l'acétate de lavandulyl et les formes Z et E de l'ocimène. Au niveau des émissions, le bêta farnésène ressort comme le composé le plus sur-exprimé par les plantes infectées quelles que soit les variétés. On retrouve secondairement l'acétate de lavandulyl et le bornéol.

2.3.4 Evaluation de l'importance du facteur gustatif

L'électropénétophographie (EPG) permet de suivre et enregistrer, sous forme d'ondes, les comportements alimentaires des insectes piqueurs-suceurs. Les différentes waveforms obtenues ont ensuite été corrélées à des activités alimentaires. Cinq catégories de waveforms différentes ont pu être différenciées et caractérisées en EPG en se basant sur leurs motifs et en se référant aux waveforms décrites dans la littérature chez d'autres hémiptères. En plus de décrire les waveforms, les probabilités de trouver une certaine catégorie de waveform après une autre ont été calculées et cela entre toutes les catégories de waveforms. Cela nous permet d'identifier les séquences de waveforms les plus probables

Cette étude d'EPG a apporté des résultats inédits sur le comportement alimentaire de *H. obsoletus*. Toutefois, pour pouvoir associer de manière certaine les résultats obtenus aux bons tissus végétaux correspondants (xylème, phloème ou mésophylle), il faudrait réaliser des analyses de traces du stylet dans la feuille ou bien des coupes de stylet suivies d'analyses de sève. Cette action n'a pas été jugée prioritaire et n'a donc pas fait l'objet de travaux complémentaires.

2.3.5 Evaluation de l'importance du facteur visuel

Compte tenu de données bibliographiques (Maixner M., 2006 ; Bressan *et al.*, 2007 ; Kuntzmann P., 2014) contradictoires, cette étude a pour objectif de déterminer quelle couleur attire le plus les *H. obsoletus*. Elle a été menée à la fois en laboratoire et en plein champ.

Le dispositif utilisé au laboratoire était constitué de boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre et des mêmes intercalaires colorés que ceux utilisés au terrain. Des carrés de couleurs (1,5 x 1,5 cm) sont positionnés sous le fond de la boîte afin d'éviter que les insectes soient au contact des carrés qui ont des textures différentes. Cinq couleurs différentes ont été testées simultanément : le jaune, le bleu, le violet, le noir et le rouge. Les insectes ont été placés pendant une durée totale de 15 minutes dans la boîte. Le temps passé par les insectes sur chaque couleur a été enregistré. Ce dispositif expérimental n'a pas apporté plus de satisfaction que le dispositif similaire utilisé pour l'étude de l'olfaction en 2014. Il n'a pas été possible d'observer de comportement résultant de la plus grande attraction d'une ou plusieurs couleurs par rapport aux autres.

Au champ, des panneaux de bois comprenant des rectangles de 10 couleurs différentes (jaune (référence), rouge, bleu, vert, blanc, noir, transparent, violet, orange, marron) et englués ont été posés dans la parcelle et les *H. obsoletus* capturés ont été dénombrés par couleur, autour du pic de vol. Ces tests de couleurs ont montré que le jaune était la couleur qui attirait le plus *Hyalesthes obsoletus* en lavanderaie.

2.4 Diminution de l'attractivité des plantes

Rappelons que l'objectif ici était d'identifier et évaluer des molécules potentiellement répulsives pour *H. obsoletus* en évaluant le potentiel répulsif/insecticides de différents extraits végétaux

Des extraits de plantes ont été pulvérisés sur des jeunes plantes d'ortie et les choix des insectes issus de l'élevage ortie en ont été observés. En se basant sur la bibliographie disponible en 2014 (Tableau 1) sur les insectes, en particulier les hémiptères (pucerons et cicadelles), **5 plantes ont été choisies** :

Tableau 1 : Plantes choisies pour leur effet répulsif sur les hémiptères citées dans la littérature

Nom commun	Nom latin	Organe utilisé	Commentaires	Référence
Ail	<i>Allium sativum</i>	Bulbe	Effets sur pucerons et cicadelles	Ahmed <i>et al.</i> 2007
Dokudami	<i>Houttuynia cordata</i>	Feuilles	Pas attaqué par les phytophages	Ikeur <i>et al.</i> 2012
Neem	<i>Azadirachta indica</i>	Graines	Efficace sur beaucoup d'insectes, dont les fulgoromorphes	Isman 2006
Piment « de cayenne »	<i>Capsicum frutescens</i>	Fruit	Effets sur pucerons et cicadelles	Ahmed <i>et al.</i> 2007
Tanaisie	<i>Tanacetum vulgare</i>	Feuilles	Contient des pyréthrine	Ikeur <i>et al.</i> 2012

L'extraction a été réalisée en faisant macérer 25 grammes de matériel végétal avec 100 ml d'éthanol à 50 % (vol/vol) pendant 24 h à 22 °C. L'extrait a ensuite été filtré (0,45 µm de diamètre) et conservé à 5 °C et à l'obscurité.

Le test de répulsivité a été pratiqué à chaque fois entre quatre plantes : 2 plantes traitées avec un extrait et 2 plantes traitées seulement avec le solvant (éthanol). Un volume de 20 ml a été pulvérisé sur chaque ortie à l'aide d'un pulvérisateur Ecospray. Les plantes ont été placées à égales distances l'une de l'autre dans une cage (60 x 60 x 60 cm) en tissu "insecte-proof". 6 répétitions avec 50 *H. obsoletus* à chaque fois ont été menées.

Les individus ont été placés au centre de la cage et le nombre de cixiides sur chaque plante a ensuite été dénombré 48 heures après l'introduction des *H. obsoletus*.

Dans tous les cas, aucun des extraits des différentes plantes testées n'a montré d'effet répulsif significatif envers les adultes de *Hyalesthes obsoletus*.

2.5 Capacité de dispersion de *H. obsoletus*

Sur vigne, des insectes ont été prélevés sur de l'ortie et relâchés dans une parcelle de vigne dans laquelle on peut raisonnablement penser que le vecteur est absent (en plaine, secteur non connu pour avoir été concerné par des problèmes de bois noir, absence d'ortie ou de liseron des champs dans la parcelle et son environnement immédiat, absence de capture du vecteur en 2013 sur des pièges chromatiques placés à proximité).

La recapture s'est faite en disposant des leurres constitués d'orties en pot à différentes distances du point de lâcher.

500 individus ont été lâchés dans une parcelle de vigne en plaine d'environ 1,20 ha avec une orientation des rangs est/ouest et 32 plantes leurre ont été disposées à des distances de 3m, 6m, 10m50 et 21m du point de lâcher.

Le lendemain de la date de lâcher 43 individus soit 8.6 % de la population initiale totale ont été recensés sur l'ensemble des leurres alors que 77 individus, soit 15.4% de la population initiale totale, étaient encore présents sur le point de lâcher. L'observation des six premiers relevés montre que le niveau de recapture baisse au fur et à mesure que l'éloignement par rapport au point de lâcher augmente (Figure 6).

Il y a un effet significatif de la distance sur le niveau de recapture : la dispersion peut se faire jusqu'à 21m (et certainement au-delà) mais est significative jusqu'à 10m50 et se fait majoritairement de 3m à 6m. Nous n'avons pas observé de différence entre les mâles et les femelles, ni de différence de dispersion selon la position des leurres par rapport aux points cardinaux.

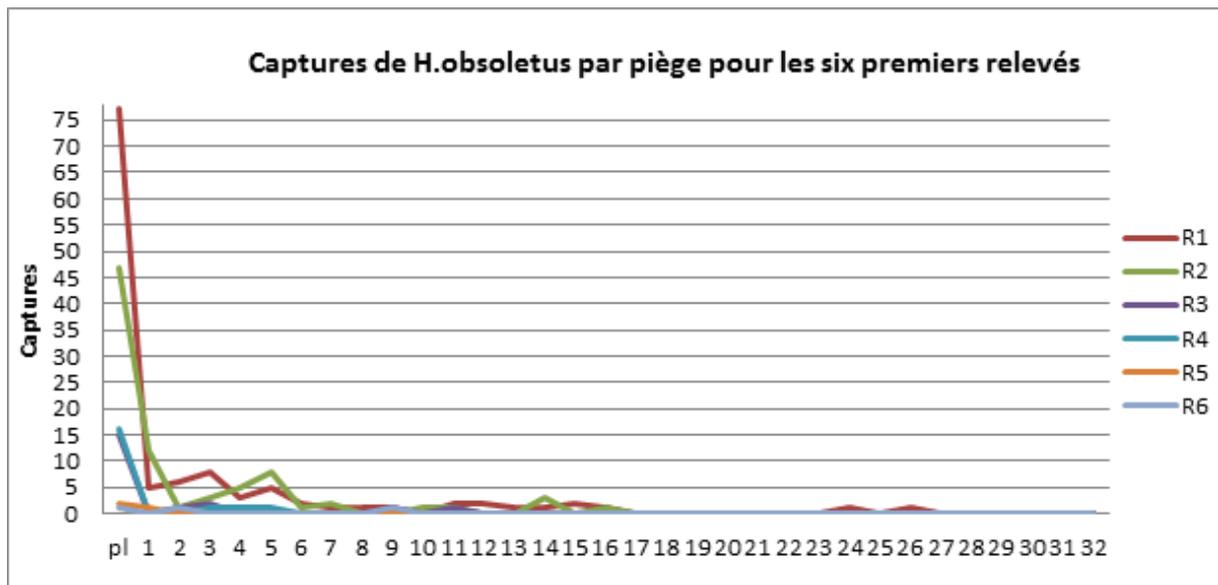


Figure 6 : Nombre d'individus observés par piège pour les 6 premiers relevés (pl=point de lâcher ; les autres pièges (= leurres) sont classés selon l'éloignement croissant par rapport au point de lâcher).

Les conclusions générales sur vigne quant à la distance de dispersion vont dans le sens de ce qui est observé dans la littérature à savoir **une distance de dispersion préférentielle relativement faible en vignoble**. Elles convergent avec les hypothèses que nous pouvons faire à partir de l'observation de la répartition des foyers de la maladie par rapport aux foyers identifiés du vecteur et qui indique aussi un effet de proximité infra-décamétrique.

Sur lavande, le nombre de *H. obsoletus* capturés et marqués a atteint 550 individus alors que l'objectif était de 4000. Le taux de recapture étant très faible (<1%), les 550 individus n'auraient pas été suffisants pour obtenir des résultats statistiquement analysables et permettre de conclure.

En conclusion

A l'issue des 3 ans de réalisation de ce programme, l'élevage de *H. obsoletus* sur ortie est désormais fonctionnel et productif. Cet élevage est sans doute unique au monde et l'expérience acquise bénéficie à l'INRA, en tant qu'élevage modèle de triptyque plante/ phytoplasme/ insecte cixiide. Néanmoins l'élevage sur lavande n'est toujours pas opérationnel. En prenant en compte la difficulté à travailler avec des *Hyalesthes obsoletus* sauvages et particulièrement avec les populations issues de lavande, un bon nombre d'essais n'ont pu être réalisés ou correctement interprétés du fait de la faiblesse des effectifs disponibles. Une difficulté renforcée par le fait que le cycle biologique de cet insecte, ainsi que celui de

la lavande, nous contraignait à ne pouvoir faire les différents tests que sur une période très courte dans l'année.

Sur l'olfaction, les résultats de ces 3 années d'étude montrent que l'olfaction n'est pas un facteur prépondérant dans les préférences de plantes pour les *H. obsoletus* adultes.

L'étude des COVs émis par les plantes étudiées dans ECHoStol (lavande, lavandin, ortie, liseron, gattilier, vigne, tabac) a été originale vis-à-vis de la largeur de la gamme de plantes étudiées, et parce qu'elle s'est intéressée aux composés volatils, et non pas aux composés présents dans les huiles essentielles, comme cela est classiquement cité dans la littérature (certains composés peuvent être communs, mais pas nécessairement !). Les études ont permis d'obtenir des premiers résultats intéressants notamment sur les différences qualitatives d'émissions de COV entre lavande infectée par le Stolbur et lavande saine.

Références bibliographiques

Ahmed A.A.I., Gesraha M.A., Zebitz C.P.W., 2007. Bioactivity of two neem products on *Aphis fabae*. Journal of Applied Science Research 3: 392–398

Bressan A., Turata R., Maixner M., Spiazzi S., Boudon-Padiou E., Girolami V., 2007. Vector activity of *Hyalesthes obsoletus* living on nettles and transmitting a Stolbur phytoplasma to grapevines: a case study. Ann. Appl. Biol. 150 : 331-339.

Ikeura H., Kobayashi F., Hayata Y., 2012. Repellent effect of herb extracts on the population of the wingless green peach aphids, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae). Journal of Agricultural Science, 4(5), 139-144.

Isman M.B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology, 51, 45-66. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151146>

Kuntmann P., Foissac X., Beccavin I., Chambin C., Choloux S., Coarer M., Delorme G., Méjean I., Molot B., Mourot F., Renard I., Rouchaud E., Savarit P., Viguès V., 2014. Bois noir de la vigne : synthèse des dernières observations. Phytoma, 679 : 31-36.

Maixner M., Langer M., 2006. Prediction of the flight of *Hyalesthes obsoletus*, vector of Stolbur phytoplasma, using temperature sums. Integrated Protection in Viticulture, IOBC/wprs Bulletin Vol. 29 (11): 161-166.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Innovations Agronomiques », la date de sa publication, et son URL.